



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة باجي مختار . عنابة
Université Badji Mokhtar Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT

Option : Neurobiologie Animale

Intitulé

L'effet protecteur du Zinc (Zn) et du Magnésium (Mg) contre la toxicité subchronique au Cadmium (Cd) (Aspects Biochimiques et Neurocomportementaux) chez les rats Wistar

Présenté par : Mr. KOUADRIA Mohamed

Devant le jury :

Mr. TAHRAOUI Abdelkrim	Pr	Président	Université d'Annaba
Mr. DJEMLI Samir	M C A	Directeur	Université d'Annaba
M ^{me} . GRARA Nedjoud	Pr	Examinatrice	Université de Guelma
Mr. NASRI Hichem	Pr	Examineur	Université d'El Taref
M ^{me} . DJOUINI Amina	M C A	Examinatrice	Université d'Annaba
M ^{me} . FERHATI Habiba	M C A	Examinatrice	Université d'Annaba

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu ALLAH le tout puissant d'avoir éclair mon chemin et d'avoir guidé mes pas, et qui sans lui nous ne somme rien.

Tout d'abord, mes sincères et profonds remerciements s'adressent à la personne qui m'a proposé le sujet de thèse et qui m'a encadré tout au long de ces années d'études **Dr. Djemli Samir**. J'ai beaucoup apprécié sa confiance et sa grande Disponibilité, ses conseils pertinents m'ont permis de mener à terme ce projet.

J'exprime ma profonde gratitude au **Professeur TAHRAOUI Abdelkrim**, pour ses précieux conseils au laboratoire ainsi que pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve. Un personnage exceptionnel qui nous a transmis la passion de la biologie.

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

- Mme. GRARA Nedjoud Professeur à l'université de
Guelma
- Mr. NASRI Hichem Professeur à l'Université d'ElTaref
- Mme. DJOUINI Amina Maitre de conférences (A) à
l'Université d'Annaba.
- Mme. FERHATI Habiba Maitre de conférences (A) à
l'Université d'Annaba.

*Je tiens à remercier tous les doctorants et les techniciennes
de laboratoire neurobiologie appliquée.*

*Je remercie tous ce qui contribuer soi de loin ou de près à la
réalisation de ce travail.*

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude
à mes très chers parents en témoignage de ma
reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et
leurs soutien tout au long de mes études. Qu'Allah
leurs prête santé.*

*A ma femme, A mes sœurs, et à mon frère pour leur encourage-
ment et leurs soutiens tout au long de ces années.*

A mon fils Idriss.

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

RESUMES

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LE CADMIUM

1. Généralités sur le cadmium.....	3
1.1. Origine naturelle.....	3
1.2. Origine industrielle.....	4
1.3. Caractéristiques physico-chimiques du cadmium.....	5
1.4. Le Cadmium dans l'environnement	6
2. La toxicité de cadmium.....	8
2.1. Mécanismes de toxicité du cadmium.....	09
2.1.1. Radicaux libres générés par le cadmium	09
2.1.2. Cadmium et signaux intracellulaires de calcium	11
3. Les principales sources d'exposition au cadmium	12
3.1. Expositions par voie alimentaire	12
3.2. Expositions par inhalation	12
3.3. Expositions par contact cutané	12
4. Absorption.....	13
4.1. Absorption chez l'homme	14
4.1.1. Inhalation	14
4.1.2. Voie orale	14
4.1.3. Voie cutanée	14
5. Transport et Distribution	14
6. Intoxication aiguë au cadmium.....	16

7. Intoxication chronique au cadmium	18
--	----

CHAPITRE II: LE ZINC

1 Généralités sur le zinc.....	25
1.1. Rappel historique sur le zinc	26
1.2. Sources alimentaires	26
2 Absorption intestinale du zinc	28
3 Distribution du zinc	30
4 Excrétion du zinc	30
5 Rôles du zinc dans l'organisme	31
5.1. Rôle biochimique	31
5.1.1. Action enzymatique (Dans les métallo-enzymes)	31
5.1.2. Métabolisme des hormones	33
5.1.3. Métabolisme des acides nucléiques	33
5.2. Rôle physiologique	34
5.2.1. Croissance et multiplication cellulaire	34
5.2.2. Protection contre les radicaux libres	34
5.2.3. Zinc et os	35
5.2.4. Zinc et cerveau	35
6 Zincémie	36

CHAPITRE III : LE MAGNÉSIUM

1. Historique	37
2. Description et aspects chimiques	37
3. Métabolisme du magnésium	38
4. Apports alimentaires et absorption intestinale du magnésium	38
5. L'élimination du magnésium	40
6. Rôles biologiques	41
7. Magnésium et système nerveux	41

PARTIE PRATIQUE

CHAPIRE IV : Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes	43
1.1. Matériel biologique et conditions d'élevage	43
1.2. Matériel biochimique	43
2. Protocole expérimental	44
3. Testes neurocomportementaux	46
3.1. Le labyrinthe en croix surélevé (Elevated plus maze)	46
3.2. Test de champ ouvert (Open Field)	47
4. Sacrifice des rats	47
5. Dosages biochimique	48
5.1. La glycémie	48
5.2. Dosage de l'urée	48
5.3. Dosage de la créatinine	48
5.3.1. Intérêt cliniques	48
5.3.2. Principe	48
5.3.3. Réactif	49
5.4. Dosage des transaminases (TGO – TGP)	49
5.5. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)	49
5.6. Dosage de la Bilirubine totale et directe	50
5.7. Dosage de l'albumine	50
5.8. Dosage des protéines totales	50
5.9. Dosage du cholestérol	50
5.10. Dosage des triglycérides	51
6. L'étude histologique du foie.....	51
7. L'analyse statistique	53

CHAPITE V: RESULTATS ET DISCUSSION

1. Effet du cadmium sur l'évolution pondérale	54
2. Bilan hématologiques	54
3. Effet sur les paramètres biochimiques.....	57
3.1. Dosage de la glycémie	57

3.2. La fonction rénale.....	58
3.3. Fonction hépatique.....	60
3.4. Le profile lipidiques	63
3.5. Effet sur l'activité enzymatique (TGO, TGP, PAL).....	64
4. L'effet du traitement sur les fonctions neurocomportementales.....	66
4.1. Test de labyrinthe	66
4.2 Champ ouvert	68
5. L'étude histologique du foie	68
6. Discussion	71
CONCLUSION ET PERSPECTIVE	82

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXE

Liste des abréviations

AAP : Alanine-aminopeptidase

ALAT : l'alanine aminotransférase

ADN: Acide désoxyribonucléique

ASAT: Aspartateaminotransférase

β2M : β2-microglobuline

Cd-U : Cadmium urinaire

Cd-S: Cadmium sanguin

CAT : Catalase

Cd : Cadmium

CdCl₂ : Chlorure de Cadmium

DFG : Débit de filtration glomérulaire

DMT1 : Divalent métal transporter 1

DHT : Dihydrotestostérone

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FNS : Formule de Numération Sanguine

IP3 : Phosphoinositide-bindingprotein

GPx : Glutathion peroxydase

GOD : Glucose oxydase

GSH : Glutathion

Mg : Magnésium

MgCl₂ : Chlorure de Magnésium

MRP : MultidrugResistanceProteins

MT : La métallothionéine

NHANES : National HealthandNutritionExamination Survey

NAG : N-acétyl- β -glucosaminidase

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONAB : Office national d'alimentation de bétails

POD : Peroxydase

pHC: Glycoprotéine humaine formant complexe

RBP: Rétinol binding protéine

SOD: Superoxidedismutase

SMR : Ratio standardisé de mortalité

Zn : Zinc

ZnCl₂ : Chlorure de Zinc

Liste des figures

FIGURE	TITRE	PAGE
Figure (01)	L'impact du cadmium sur ses cibles cellulaires conduit à la production des ERO	10
Figure (02)	Mécanismes d'induction du stress oxydant par le Cd	11
Figure (03)	Schéma résumant le transport et la distribution du cadmium dans l'organisme après son absorption	16
Figure (04)	Concentration du Cadmium urinaire ($\mu\text{g} / \text{g}$ de créatinine) et du cortex rénal ($\mu\text{g} / \text{g}$ de tissu humide)	22
Figure (05)	Mécanisme de l'absorption du zinc	29
Figure (06)	Flux corporels de zinc	30
Figure (07)	Mode de liaison du zinc à une enzyme à zinc, l'alcool déshydrogénase	33
Figure (08)	Fixation au niveau d'un gène d'un facteur de transcription de l'ADN, fonctionnant comme une protéine dactyle à zinc et pourvu de deux doigts de zinc	34
Figure (09)	Voies d'absorption du magnésium	40
Figure (10)	Le récepteur N-méthyl-D-aspartate	41
Figure (11)	Diagramme récapitulant le protocole expérimental	45
Figure (12)	Le labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus maze)	46
Figure (13)	Test de champ ouvert (Open Field)	47
Figure (14)	L'effet du chlorure de cadmium sur la teneur des Globules rouges chez les rats témoin, intoxiqués au CdCl_2 , intoxiqués au CdCl_2 et traité à ZnCl_2 et MgCl_2 pendant trois mois de traitement par voie orale	55

Figure (15)	L'effet du chlorure de cadmium sur le taux de l'hémoglobine chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	55
Figure (16)	L'effet du chlorure de cadmium sur le taux de l'Hématocrite chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	56
Figure (17)	L'effet du chlorure de cadmium sur la teneur des Globules blancs chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	57
Figure (18)	L'effet du chlorure de cadmium sur la Glycémie sanguin chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	58
Figure (19)	Effet du chlorure de cadmium sur la teneur sanguin en urée chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	59
Figure (20)	L'effet du chlorure de cadmium sur la teneur en Créatinine chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	59
Figure (21)	Effet du chlorure de cadmium sur la teneur en Protéines totales chez le rat témoin, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	60
Figure (22)	L'effet du chlorure de cadmium sur la Bilirubine totale chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	61
Figure (23)	L'effet du chlorure de cadmium Bilirubine Directe chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	61
Figure (24)	L'effet du chlorure de cadmium sur la Bilirubine indirecte chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	62
Figure (25)	Effet du chlorure de cadmium sur la teneur en 'Albumine sanguine chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	62

Figure (26)	L'effet du chlorure de cadmium sur le Cholestérol chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	63
Figure (27)	L'effet du chlorure de cadmium sur les Triglycérides chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	64
Figure (28)	L'effet du chlorure de cadmium sur l'activité d'enzyme aspartateaminotransférase (TGO) chez les rats témoin, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	65
Figure (29)	L'effet du chlorure de cadmium sur l'activité d'enzyme alanine aminotransférase (TGP) chez les rats témoin, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	65
Figure (30)	L'effet du chlorure de cadmium sur l'activité d'enzyme phosphatase alcaline (UI /L) chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	66
Figure (31)	Nombres d'entrées dans les bras fermés et ouverts durant le test de labyrinthe en croix surélevé chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	67
Figure (32)	Temps passé dans les bras fermés et ouverts durant le test de labyrinthe en croix surélevé chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	67
Figure (33)	Temps passé au centre, nombre de carreau traversé, nombre d'escalade durant le test de champ ouvert chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl ₂ , intoxiqués au CdCl ₂ et traité à ZnCl ₂ et MgCl ₂ pendant trois mois de traitement par voie orale	68
Figure (34)	Coupe histologique du foie des rats témoins (A). (<i>Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : × 400</i>)	69
Figure (35)	Coupe histologique du foie des rats contaminé par le CdCl ₂ (B). (<i>Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : × 400</i>)	69

Figure (36)	Coupe histologique du foie des rats contaminé par le CdCl_2 et traité par le ZnCl_2 (C). (<i>Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : $\times 400$</i>)	70
Figure (37)	Coupe histologique du foie des rats contaminé par le CdCl_2 et traité par le MgCl_2 (D). (<i>Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : $\times 400$</i>)	70

Liste des tableaux

TABLEAU	TITRE	PAGE
Tableau (01)	Teneurs en cadmium de différents composés phosphatés	04
Tableau (02)	Domaines utilisateurs du cadmium et les pourcentages d'utilisation	04
Tableau (03)	Propriétés du cadmium	05
Tableau (04)	Les principales études considérant le lien entre biomarqueurs d'effet rénal et concentration de Cd urinaire (Cd-U)	20
Tableau (05)	Apport et besoin en zinc	27
Tableau (06)	Teneur en zinc de certains aliments	27
Tableau (07)	Facteurs modifiant l'absorption du zinc	29
Tableau (08)	Principales métallo-enzymes à zinc	31
Tableau(09)	Répartition du Magnésium dans l'organisme	38
Tableau (10)	Composition de l'alimentation	43
Tableau (11)	Poids corporel et poids du foie (g)	54

RÉSUMÉ

Résumé

Le cadmium est un métal lourd toxique qui engendre des graves problèmes de santé chez l'homme et éventuellement, il est impliqué dans plusieurs maladies humaines. Cette étude a été conçue pour évaluer l'effet protecteur du zinc et du magnésium contre la toxicité induite à l'exposition subchronique au cadmium.

Quarante-huit rats Wistar ont été répartis en six groupes, huit rats en chaque groupe. Les rats ont subi un traitement par voie orale pendant trois mois, le groupe témoin (T) a reçu que l'eau de robinet, le groupe (Cd) contaminé par 15mg/kg/l de chlorure de cadmium(CdCl₂), les groupes (Cd+Zn) et (Cd+Mg) contaminé par 15mg/kg/l de CdCl₂ et traité respectivement par 10 mg/kg/l de (ZnCl₂) et 10 mg/kg/l de (MgCl₂), et les groupes (Zn) et (Mg) traité respectivement par 10 mg/kg/l de (ZnCl₂) et (MgCl₂). L'analyse des résultats des paramètres pondéraux biochimiques et neurocomportementaux, montre une baisse du poids corporel des rats contaminés au cadmium, avec des perturbations des fonctions rénal et hépatique, augmentation des taux de l'urée et de la créatinine par rapport au groupe témoin, et une diminution des taux d'albumine et protéine totale, et élévation des taux de bilirubine, avec augmentation d'activité des enzymes TGO, TOP et PAL. Les résultats relatifs aux tests de comportement, révèle à des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice et une réduction du comportement d'exploration du milieu qui reflète l'instauration d'un état des stress, anxiété et dépression. L'addition du zinc et le magnésium a révélé une réduction de l'effet toxique du cadmium en améliorant tous les paramètres étudiés. L'exposition au Cd a altéré le tissu hépatique des rats par contre on remarque une amélioration des lots traités au Zn et Mg.

Ces résultats suggèrent que la supplémentation du zinc et du magnésium ont un rôle protecteur qu'un effet protecteur général réduisant les effets toxiques provoqués par ce métal.

Mots clés: Cadmium-subchronique-Zinc-Magnésium-neurocomportementaux-Wistar

Abstract

Cadmium is a heavy toxic metal which generates severe health problems in humans and is potentially involved in several human diseases. This study was designed to evaluate the protective effect of Zinc and Magnesium against toxicity induced by subchronic cadmium exposure. Forty-eight rats wistar were divided into six groups, eight rats in each group. The rats submitted oral treatment during three months, the control group received only tap water, the (Cd) group contaminated with 15 mg/Kg/l of cadmium chloride (CdCl_2), the (Cd+Zn) et (Cd+Mg) groups contaminated by 15 mg/Kg/l of (CdCl_2) and treated respectively by 10 mg/kg/l of (ZnCl_2) and 10 mg/kg/l of (MgCl_2), and the (Zn) and (Mg) groups treated respectively with 10 mg/kg/l of (ZnCl_2) and 10 mg/kg/l of (MgCl_2). The analysis and interpretation of results of corporal, biochemical and neurobehavioral parameters, shows a drop in corporal weight of the rats contaminated in cadmium, with disturbances in renal and hepatic functions, increases in urea and creatinine levels compared to the control group, and decreased albumin and total proteins levels and elevated bilirubin levels, with activity of enzyme TGO, TGO, and PAL. The behavior test results, reveals neurobehavioral disorder resulting in locomotor hypo activity and reduction in the behavioral of exploration of the environment which reflects the onset of a state of stress, anxiety. The addition of Zinc and magnesium revealed a reduction in the toxic effect of cadmium by improving the parameters studied. The results suggest that the supplementation of zinc and magnesium have a protective role than a general protective effect reducing the toxic effects provoked by this metal.

Key words: Cadmium-subchronic-Zinc-Magnesium-neurobehavioral-Wistar

ملخص

الكادميوم عبارة عن معدن ثقيل سام يسبب مشاكل صحية خطيرة للبشر ويحتمل أن يشارك في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان تم تصميم هذه الدراسة لتقييم الأثر الوقائي للزنك و الماغنيزيوم ضد السمية الناتجة عن التعرض الغير مزمن للكادميوم.

تم تقسيم ثمانية و أربعون فأر ويستار إلى ست مجموعات, ثمانية فئران في كل مجموعة. خضعت الفئران لعلاج فموي لمدة ثلاثة أشهر, تلقت المجموعة الضابطة (T) مياه الصنبور فقط, المجموعة (Cd) الملوثة بـ 15 مجم / كجم / لتر من كلوريد الكادميوم (CdCl₂), المجموعات (Cd + Zn) و (Cd + Mg) ملوثة بـ 15 ملغ/كغ/ل من CdCl₂ ويعالجان على التوالي بـ 10 ملغ/كغ/ل من (ZnCl₂) و 10 ملغ/كغ/ل من (MgCl₂), والمجموعات (Zn) و (Mg) المعالجة على التوالي بـ 10 ملغ/كغ/ل من (ZnCl₂) و (MgCl₂).

بين تحليل نتائج معلمات الوزن الكيميائية الحيوية والسلوكية العصبية انخفاضًا في وزن الجسم للفئران الملوثة بالكادميوم, مع اضطرابات في وظائف الكلى والكبد, وزيادة في مستويات اليوريا والكرياتينين مقارنة بالمجموعة الشاهدة, وانخفاض في مستويات الألبومين والبروتين الكلي, وزيادة في مستويات البيلبيروبين, مع زيادة في نشاط الإنزيمات TGO, TOP و PAL. النتائج المتعلقة بالاختبارات السلوكية, تكشف عن اضطرابات السلوك العصبي مما يؤدي إلى انخفاض الحركة الحركية وتقليل سلوك استكشاف البيئة مما يعكس حالة من التوتر والقلق والاكتئاب. كشفت إضافة الزنك والمغنيزيوم انخفاضًا في التأثير السام للكادميوم عن طريق تحسين جميع المعلمات التي تمت دراستها.

هذه النتائج تشير إلى أن مكملات الزنك والمغنيزيوم لها دور وقائي من تأثير وقائي عام يقلل من الآثار السامة الناجمة عن هذا المعدن.

الكلمات المفتاحية: كادميوم-الزنك-المغنيزيوم-السلوك العصبي-ويستار

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Introduction

Au cours des dernières années, suite à la révolution industrielle, et l'augmentation de la demande et l'utilisation des métaux lourds est devenu l'un des problèmes environnementaux les plus graves en exposant l'homme et son environnement aux nombreux métaux lourds toxiques (ASA, 2011).

La découverte de ces métaux et leurs composition constitue une étape fondamentale dans l'histoire humaine, différents travaux de recherche ont montrés que ses métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement a l'état naturelle sous forme organique ou inorganique (Yanai *et al.*, 2006). Toutefois leurs concentration sont en générale très faibles ce qui explique leur dénomination de « métaux traces » ou « élément traces métalliques »(Elder, 1988).

Le cadmium, le nickel, le mercure, le plomb, l'arsenic et d'autres métaux lourds s'accumulent dans l'organisme et provoquent des effets nocifs à court et / ou à long terme. Ils affectent le système nerveux, les reins, le foie et la fonction respiratoire (Haber *et al.*, 2000; RR Lauwerys, 2000). Leurs propriétés toxiques peuvent varier selon la forme sous laquelle ils pénètrent dans l'organisme (métal lui-même, vapeur, dérivés inorganiques ou organiques, hydrosolubles ou liposolubles, etc.). Certains ont des caractéristiques cumulatives et lorsque l'excrétion ne peut pas compenser l'absorption, ces caractéristiques peuvent jouer un rôle à long terme (RR Lauwerys, 2000). Ensuite, ils peuvent atteindre divers organes ou fonctions de base, ou être dans des processus de cancérogènes (Viala *et al.*, 1998).

Le cadmium est un élément chimique appartenant à la famille des métaux lourds. Il est un métal bleuté, mou et malléable, c'est un métal composant naturel des roches et du sol, et ses minéraux sont liés aux minéraux du zinc et du plomb. Il existe également dans l'eau, l'air des zones urbaines et pollue les plantes et les tissus animaux. Trouvé en grande quantité dans les aliments (fruits de mer, produits laitiers, céréales, viande et vin) et dans la fumée de cigarette (1 à 2 µg par cigarette). Ses principales sources d'exposition existent dans les utilisations industrielles du cadmium: alliages de soudage et de brasage, batteries d'accumulateurs, câbles électriques, engrais (superphosphates), colorants, peintures et vernis, et dans l'industrie nucléaire comme modérateur de neutrons. La pollution atmosphérique fournit en

moyenne 1 μg de cadmium aux humains par inhalation chaque jour (Yanai *et al.*, 2006).

Le zinc est un antioxydant qui peut réduire la production d'espèces oxygénées activées (EOA). Les propriétés chimiques du zinc, lui confèrent un rôle important dans une grande variété de processus biologiques. Il a une forte affinité pour les électrons et généralement se lie aux acides aminés, peptides et nucléotides, permettant à la fois sa fonction catalytique et structurale. Le zinc est un composant important de nombreuses enzymes (> 300) participant à la synthèse et la dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques ainsi que dans le métabolisme des autres micronutriments (Fernández *et al.*, 2003).

Le magnésium est l'un des sels minéraux essentiels du corps humain. Il s'agit d'un métal alcalinoterreux et d'un cation divalent, est participer à de nombreux processus biologiques. Son rôle est prépondérant au sein de l'organisme dans sa globalité et aussi au sein de la cellule elle-même. Un grand nombre d'études ont montré que le magnésium est impliqué dans plus de 300 réactions enzymatiques. Ainsi que des recherches récentes estiment qu'il s'agit d'un cofacteur pour 600 enzymes. Celles dont les substrats possèdent un groupement phosphate sont activées par le magnésium. Celui-ci intervient dans la synthèse des acides aminés et la formation des protéines (De Baaij *et al.*, 2015). Le magnésium participe à la régulation de l'activité nerveuse humaine. Les différentes relations entre le magnésium et le système nerveux sont liées aux propriétés biochimiques du magnésium (Berthelot, 2004).

Notre étude vise à évaluer l'effet protecteur du zinc et du magnésium administrés par voie orale contre la toxicité induite par l'exposition subchronique au cadmium chez les rats Wistar, l'étude comporte les aspects pondéraux, biochimiques, hématologique, neurocomportementaux et histologiques.

CHAPITRE

I

LE CADMIUM

Le cadmium

1. Généralités sur le cadmium

L'étymologie du mot cadmium vient de la ville grecque kadmia, où il a été extrait le minerai appelé cadmie (DITRIA, 2002). Le cadmium a été découvert par le chimiste allemand Friedrich Stromeyer en 1817 et a été largement utilisé dans de nombreuses industries (DITRIA, 2002; Juste *et al.*, 1995). C'est un élément naturel dans certains minerais, en particulier sous forme d'impuretés dans le zinc. Les principaux minerais de cadmium sont le sulfure de zinc, la sphalérite et la wurtzite (L.C.P.E, 1994; Miquel, 2001). Le cadmium minéral est naturellement rare, presque dans tous les minerais de zinc il se trouve à l'état isomorphe (95 % de la production de cadmium) (DITRIA, 2002). Cependant, les émissions mondiales de cadmium sont d'environ 8 000 tonnes par an, dont seulement 5% à 10% proviennent des ressources naturelles (Bliefert *et al.*, 2001). Cela signifie que nous pouvons distinguer deux sources principales de cadmium: les sources naturelles et les sources industrielles.

1.1. Source naturelle

Les sources naturelles de cadmium comprennent les contributions dues aux matériaux qui composent la croûte terrestre. Ces contributions peuvent être produites directement par le contact entre l'eau et ces substances, ou indirectement par le biais de particules atmosphériques arrachées à la roche par l'érosion. La concentration de cadmium dans la croûte terrestre est d'environ 0,15 mg / kg (Doré, 1989; Juste *et al.*, 1995; L.C.P.E, 1994). Les volcans ont de même participé dans la croissance des niveaux des teneurs du cadmium car ils libèrent en moyenne annuelle dans le monde de 800 à 1400 tonnes de cadmium les émissions naturelles de cadmium sont estimées à 2.9×10^2 t/an (Miquel, 2001).

Cependant, les minerais de phosphate ou les roches sont considérés comme la principale source de cadmium dans l'environnement, car selon la source de phosphore, la teneur en cadmium de ces engrais peut être de 6,5 ppm à 70 ppm ou plus. tableau (01)(Robert, 1996).

Tableau (01): Teneurs en cadmium de différents composés phosphatés (Robert, 1996).

Origine	Pourcentage (%)	Teneur en cadmium	
		(ppm)	mg/kg de phosphate
Maroc	15.9	35	220
Togo	18.7	55	350
Floride (USA)	14.4	8	56
Syrie	13.9	6	43

1.2. Source industrielle

Les principaux domaines d'utilisation du cadmium (en 1994, la gamme mondiale était de 18 882 tonnes) sont la galvanoplastie, les piles alcalines, les alliages et, dans une moindre mesure, l'industrie nucléaire. Les réactions de fission nucléaire contrôlée dans les centrales nucléaires nécessite de réguler le flux de neutrons initiant et maintenant les réactions nucléaires. Par conséquent, des tiges de contrôle composé d'argent, d'indium et de cadmium avec une forte capacité d'absorption des neutrons sont introduites au centre du réacteur pour contrôler et entretenir la réaction (Robert ,1996). Le tableau (02) illustre le taux d'utilisation du cadmium dans le secteur industriel. Outre les déchets industriels, le cadmium se retrouve également dans les boues des stations d'épuration et les déchets ménagers (Robert, 1996).

Tableau (02): Domaines utilisateurs du cadmium et les pourcentages d'utilisation (Bliefert *et al.*, 2001).

Domaine d'utilisation	Pourcentage d'utilisation(%)
Couches protectrices	29
Piles	29
Pigments (peintures)	24
Stabilisateurs	12
Alliages et autre	06

1.3. Caractéristiques physico-chimiques du cadmium

Le cadmium est un élément chimique appartenant à la famille des métaux lourds. Il est en métal blanc argenté avec une légère couleur bleuâtre. Ses caractéristiques chimiques présentent beaucoup de points communs avec celles du zinc. Il a une résistance à la corrosion dans diverses atmosphères et plus précisément dans le milieu marin et s'utilise comme moyen de prévention face aux neutrons thermiques. En solution, il est principalement sous forme cationique, à l'état d'oxydation + II (Bliefert *et al.*, 2001). Le rayon de l'ion et sa configuration électronique sont très similaires à ceux du calcium. Cette analogie conduit à un comportement en solution et une réactivité à l'interface solide / solution adjacente (Stipp *et al.*, 1992; Van Cappellen *et al.*, 1993). Le tableau (03) répertorie certaines de ces caractéristiques. À l'état naturel, le cadmium peut se produire sous deux degrés d'oxydation (0) et (+2). Cependant, il est rarement observé à l'état métallique (degré 0) (L.C.P.E, 1994). Le cadmium n'est pas nécessaire au développement d'organismes animaux ou végétaux et ne contribue pas au métabolisme cellulaire (Miquel, 2001).

Tableau (03): Propriétés du cadmium (DITRIA, 2002; Juste *et al.*, 1995).

Caractère	valeurs
Symbole chimique	Cd
Nombre atomique	48
Masse atomique	112, 411
Nombre d'oxydation	+2
densité	8.650 g/cm ³ (293 k)
Etat physique a 20°C	solide
Point de fusion	321.07°C
Point d'ébullition	767°C
Température critique	2687°C

Tension de vapeur	0.013 Pa à 18°C
isotope	$^{106}\text{Cd}, ^{108}\text{Cd}, ^{110}\text{Cd}, ^{111}\text{Cd}, ^{112}\text{Cd}, ^{113}\text{Cd}$ $^{114}\text{Cd}, ^{116}\text{Cd}$

Les colloïdes et les particules en suspension peuvent être composés de sels insolubles tels que des oxydes, des hydroxydes ou des sulfures, ou par des matières organiques ou des argiles dans lesquelles le cadmium est fixé par adsorption, échange d'ions ou par complexations (Doré, 1989). Les composés solubles du cadmium peuvent être sous formes d'ions simples (Cd^{2+}), sous formes de complexe (chlorures, nitrates, sulfates, bromures ou iodures) ou sous formes de complexe organo-métallique ($\text{Cd}(\text{CN})_4$) (Doré, 1989; L.C.P.E, 1994). En milieu aquatique, les composés les plus fréquents du cadmium sont : CdCl_2 , CdCl_3^- , CdCl^- , CdSO_4 , CdHCO_3^+ , CdCO_3 , CdOH^+ , $\text{Cd}(\text{OH})_2$, $\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})_{22}^{2+}$ (COUSIN, 1980; MERICAM, 1979).

La morphologie des métaux dans l'eau est contrôlée par différents facteurs physico-chimique compris le pH et le potentiel redox. Ces facteurs peuvent contrôler la dissolution ou l'agglomération des substances métalliques (Doré, 1989).

1.4. Le Cadmium dans l'environnement

Le cadmium se trouve dans presque tous les compartiments (air, eau, sol) de notre environnement. L'échange entre ces compartiments est permanent et s'élève à des milliers de tonnes.

Dans l'atmosphère, le cadmium émane des centres de fabrication élaborant ou traitant les métaux, des unités d'incinération des déchets et des émissions volcaniques. Le gaz d'oxyde de cadmium formé lors du traitement des minerais contenant du cadmium peut pénétrer au les poumons lors de la respiration (Bliefert *et al.*, 2001; L.C.P.E, 1994). La teneur en cadmium dans l'air varie considérablement et, dans les zones rurales à air pur, la teneur en cadmium est estimée à $0,5 \text{ g} / \text{m}^3$. Dans les zones polluées (industrielles), la valeur est dix fois plus élevée. Les feuilles de tabac accumulent naturellement de fortes concentrations de cadmium, après la fumée d'une cigarette, la quantité du cadmium inhalé est estimée de 10% (Bliefert *et al.*, 2001; Juste *et al.*, 1995).

La présence du cadmium dans le sol peut être d'origine naturelle ou d'origine humaine (intervention humaine). L'origine naturelle du cadmium dans le sol dépend d'abord de la teneur des roches présentes dans le sol, mais aussi des processus impliqués dans la formation du sol (Bliefert *et al.*, 2001). Dans la plupart des roches, le contenu naturel de cet élément varie peu où va de 0,05 à 0,3 mg.kg⁻¹ (Bourrelier *et al.*, 1998). Ainsi la croûte terrestre, contient entre 0,100 et 0,200 mg/kg de cadmium. Les roches sédimentaires, notamment celles formées de sédiments riches en carbone, sulfures et phosphates, ont une teneur en cadmium plus élevée que les roches éruptives ou métamorphiques (Juste *et al.*, 1995).

L'origine humaine du cadmium dans le sol représente l'activité agriculture et industriel. Les teneurs sont dix fois plus élevées dans les terres désignées pour l'agriculture ou qui sont à l'entour des zones industries métalliques ou des stations d'épuration (Bliefert *et al.*, 2004). Il est précisé que la quantité annuelle de cadmium dans les sols cultivés et enrichis par des engrais phosphatés est estimée à 5 kg / ha. La présence de ce métal dans le sol et son accumulation accrue conduisent à sa migration vers les produits agricoles consommés par l'homme et les animaux (Bliefert *et al.*, 2001). Pourtant, la rétention du cadmium par le sol dépend de sa teneur en base échangeable et une diminution du pH et la teneur en matière organique augmente la fixation du cadmium par les plantes (DITRIA, 2002; L.C.P.E, 1994).

Le principal élément important pour les polluants en général inclue le cadmium c'est l'eau, puisqu'elle est impliquée dans les réactions chimiques liées à l'acidité, l'alcalinité, la température et l'oxygénation (Miquel, 2001). Le cadmium présent dans l'eau est issu de l'air, des pluies, des effluents de galvanoplastie ou peut provenir de sa dissolution dans certains tuyaux galvanisés ou en plastique (Juste *et al.*, 1995; L.C.P.E, 1994; Rodier, 1984). Cependant, la majorité de ce métal lourd présent dans l'eau est issu des industries placées près des rivières où elles rejettent leurs eaux usées (L.C.P.E, 1994; Miquel, 2001; Rodier, 1984). À des différentes concentrations, le cadmium peut se trouver dans divers types d'eau (des nappes, des rivières, eaux usées domestiques, mer) (Juste *et al.*, 1995). La réglementation des émissions, en fixant des teneurs limites, est imposée en raison de la toxicité de ce métal (L.C.P.E, 1994; Miquel, 2001). Ces teneurs sont élaborées pour les diverses catégories en particulier les eaux usées industrielles et les eaux d'irrigation et la concentration guide du cadmium dans ces eaux est fixée à 0.01 mg/l (DEGRÉMONT,

1989). Dans les eaux fluviales, la majorité du cadmium est sous forme de matières en suspension qui peuvent être estimée de 0.15 à 0.6 µg/l. en revanche, la partie dissoute ne dépasse pas 0.08 µg/l (Bliefert *et al.*, 2001).

2. La toxicité de cadmium

La haute toxicité du cadmium fut découverte pour la première fois au Japon en 1955, une maladie osseuse endémique dénommée, maladie «Itai-Itai» « j'ai mal, j'ai mal !» en japonais, a été rapportée chez des femmes ménopausées non exposées professionnellement au cadmium vivant près du fleuve Jinzu au Japon. Une mine déversait ses eaux usées polluées par le cadmium dans le fleuve servant à l'irrigation des rizières. Les consommateurs de riz pollué se mirent à souffrir de déficience immunitaire, d'atteintes rénales, d'apathie et de déformation du squelette (Bliefert *et al.*, 2001).

Depuis lors, plusieurs recherches ont été lancées pour étudier ce métal toxique en découvrant qu'il est cancérigène qui peut déformer la structure de l'ADN (Robert, 1996).

Le Cd est un membre du groupe II des éléments du tableau périodique. Il ne participe à aucun processus vital et il est toxique à de très faibles concentrations, avec un numéro atomique 48 et une masse atomique d'environ 112,4 g/mol (Nriagu, 1980), il est un métal blanc, doux et malléable. Il ternit au contact de l'air (Callender, 2003). Le Cd est un élément rare et réparti uniformément dans la croûte terrestre, où sa concentration moyenne est de 0,15 à 0,20 mg/kg (Fleischer *et al.*, 1974). On le retrouve comme contaminant dans les sédiments, l'air, l'eau (Waisberg *et al.*, 2003), dans l'agriculture et les rejets industriels, la fumée de cigarette (Trinchella *et al.*, 2006).

Le traitement des ordures ménagères reste le premier secteur responsable d'émissions de Cd. Il convient de noter que les humains absorbent environ 20 à 30 µg de cadmium par jour, dont 85% proviennent de la nourriture et 15% de l'eau potable. S'il n'y a pas de source industrielle locale, l'air a peu d'effet sur l'absorption du cadmium (Bliefert *et al.*, 2001). En revanche, l'apport journalier de ce toxique peut doubler par le tabagisme (Bliefert *et al.*, 2001). Ainsi que Le Cd est classifié comme un carcinogène de type I par l'agence internationale pour la recherche sur le cancer et le programme national de toxicologie USA (Oh *et al.*, 2006).

2.1. Mécanismes de toxicité du cadmium

Le Cd est capable d'induire l'apparition des espèces réactives de l'oxygène «ERO» (par des mécanismes indirects) qui induisent des lésions tissulaires (Bernhoft, 2013). Il est également décrit comme inhibiteur de la réparation de l'ADN (Waisberg *et al.*, 2003), D'autres mécanismes pathologiques comprennent une interférence concurrentielle avec l'action physiologique de Zn ou Mg, l'inhibition de la synthèse de l'hème (Bernhoft, 2013), et l'altération de la fonction mitochondriale pouvant induire une apoptose (Cannino *et al.*, 2009). Les perturbations engendrées par le Cd aboutissent à plusieurs conséquences néfastes pour la cellule.

2.1.1. Radicaux libres générés par le cadmium

Les effets toxiques du Cd sont essentiellement indirects. Ce métal lourd non oxydo-réducteur en milieu biologique provoquerait la diminution des taux cellulaires des principaux systèmes antioxydants (Nzengue, 2008), Des expositions courtes au Cd semblent inhiber les enzymes de stress comme la SOD (Superoxydodismutase)(Stohs *et al.*, 1995), la CAT et la GPx (catalase et Glutathion peroxydase) (Szuster-Ciesielska *et al.*, 2000), il est noté que les expositions prolongées a mènent à une élévation des activités de certaines enzymes (Waisberg *et al.*, 2003), et de l'expression de certaines protéines comme les métallothionéines, probablement à cause d'une adaptation suite à l'induction des gènes codant pour ces molécules. L'autre possibilité expliquant l'augmentation des ERO en présence de cadmium correspond au déplacement des métaux constituant la structure des SOD (Filipič *et al.*, 2006).

Ces changements dans l'homéostasie des molécules antioxydantes et des métaux physiologiques tels que le calcium, le fer, le cuivre et le zinc peuvent se manifester par une démétallation des protéines, des changements dans les fonctions cellulaires impliquant des thiols réactifs (antioxydants, oxydoréductases, protéines fer-soufre, signalisation redox basée sur des thiols réactifs), une interférence dans la signalisation dépendante du calcium (Filipič *et al.*, 2006).

L'impact du Cd sur ces cibles peut engendrer une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (figure 01), tels que les radicaux hydroxyles, superoxyde, ou le peroxyde d'hydrogène. Les ERO vont engendrer une situation de stress oxydant dans la cellule et donc des dommages oxydatifs au niveau des ma-

cromolécules biologiques (peroxydation lipidique, lésions de l'ADN, modifications oxydatives des protéines) (figure 02)(Nzengue, 2008).

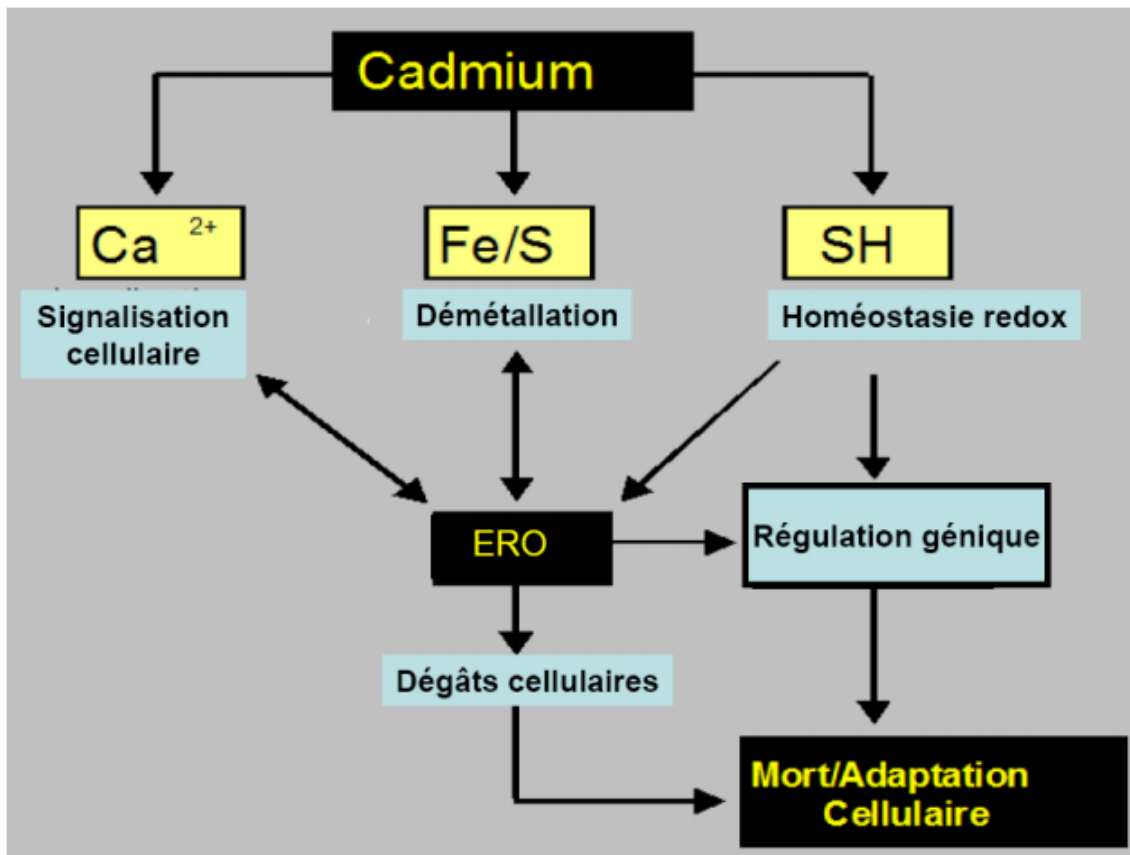


Figure (01) : L'impact du cadmium sur ses cibles cellulaires conduit à la production des ERO (Nzengue, 2008).

Certains auteurs, (Gichner *et al.*, 2004) ont démontré qu'aux faibles concentrations de Cd, les lésions induites sur l'ADN sont liées préférentiellement aux mécanismes indirects. Ainsi que le Cd peut interférer avec la chaîne respiratoire de la mitochondrie et induire les ERO.

En effet, il s'intercale entre la semi-ubiquinone et le cytochrome b du complexe III de la chaîne respiratoire. La semi-ubiquinone devient instable et transfère un électron à la molécule d'oxygène pour former l'anion superoxyde (Wang *et al.*, 2004).

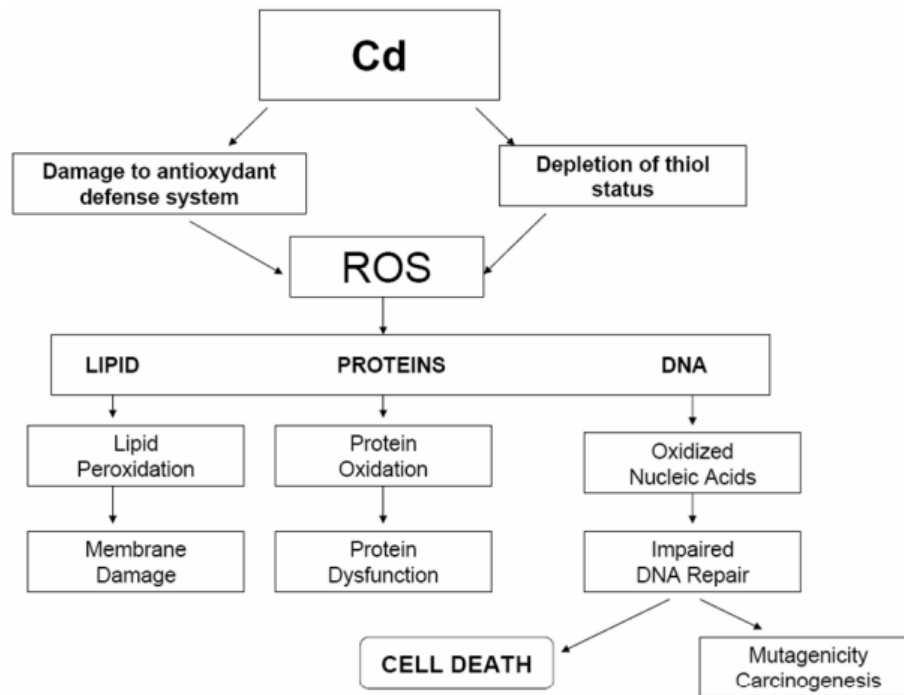


Figure (02) : Mécanismes d'induction du stress oxydant par le Cd (Ercal *et al.*, 2001).

2.1.2. Cadmium et signaux intracellulaires de calcium

L'homéostasie du calcium qui est un système global et un messager intracellulaire multifonction peut perturber par l'exposition au cadmium (Berridge *et al.*, 2000). Une intoxication au cadmium peut engendrer une augmentation des taux de calcium à travers la protéine G couplée aux éléments de liaisons de métaux (Faurkov *et al.*, 2002). L'activation de la phospholipase C et la production de l'IP3 (Phosphoinositide-bindingprotein) par hydrolyse de la phosphatidylinositol s'ensuivent (Faurkov *et al.*, 2002; Misra *et al.*, 2002). Cette série de signaux causée par le cadmium, déclenche la libération du calcium de ses compartiments de stockage. Malgré de son action inhibitrice sur plusieurs types de canaux calciques et les pompes (Kiss *et al.*, 1994), les concentrations cellulaires accru de calcium peut engendrer l'apoptose. Un autre processus par lequel le cadmium perturbe l'homéostasie calcique dépend de sa capacité à moduler les récepteurs extracellulaires de calcium (Chang *et al.*, 2004).

Ainsi, le Cd peut profondément affecter les fonctions des cellules exprimant ce système de détection de calcium extracellulaire. Le cadmium peut également réguler les 68 signaux calciques en exerçant des effets opposés sur le contrôle interne de calcium, par la promotion de l'efflux de calcium du réticulum endoplas-

mique (Palade *et al.*, 1989) ou en inhibant la réticulum sarcoplasmique calcium-ATPase (Beyersmann *et al.*, 1997).

3. Les principales sources d'exposition au cadmium

L'alimentation est la principale source d'apport du Cd dans la population générale non professionnellement exposée au Cd et non fumeuse. Les légumes et les céréales sont les sources principales de Cd, et à moindre degré il est également trouvé dans la viande. Les reins et le foie sont les principales cibles de l'accumulation de ce métal lourd, par conséquent les abats contiennent des taux élevés. alors que chez les organismes marins, les mollusques et les crustacés l'accumulation peuvent atteindre des concentrations relativement très élevées au contraire des poissons qu'ils contiennent de petites quantités de Cd (Bliefert *et al.*, 2004).

3.1. Expositions par voie alimentaire

Le taux d'absorption de Cd alimentaire chez l'homme a été estimé à 5%. Toutefois, les variations interindividuelles dans l'absorption de Cd s'est révélée être beaucoup supérieure à l'estimation précédente. Les taux augmentent de 20 à 30% chez certains individus (Satarug *et al.*, 2004).

3.2. Expositions par inhalation

Les fumées et les vapeurs de cadmium sont principalement absorbés par voie respiratoire, le Cd est un constituant intégral du tabac en raison de la propension du *Nicotiana* espèce à concentrer Cd indépendante de contenu du sol-Cd. Le contenu en Cd du tabac varie largement, mais une gamme typique est 1-2 μ g/g sec poids, équivalent à 0,5-1 μ g/cigarette. L'Oxyde Cd généré lors de la combustion des cigarettes est hautement biodisponible approximativement 10% de l'oxyde de Cd inhalé est déposé dans Les tissus pulmonaires et 30 à 40% supplémentaires sont absorbés dans la circulation sanguine systémique des fumeurs. Les fumeurs ont des niveaux de Cd de 4 à 5 fois supérieurs du sang et des quantités de Cd de 2-3 fois plus grandes dans leurs reins que les non-fumeurs (Satarug *et al.*, 2004).

3.3. Expositions par contact cutané

Une voie cutanée d'entrée par contamination de la peau a été décrite in vitro mais est extrêmement faible. L'absorption percutanée du chlorure de Cd à partir de l'eau et du sol dans et à travers la peau humaine a été réalisée à l'aide d'échantillons de peau de cadavre et n'a pas dépassé 0,6%. Cette voie d'entrée ne

peut donc être préoccupante que dans les cas où des solutions concentrées seraient en contact avec la peau pendant plusieurs heures ou plus (Sigel *et al.*, 2013).

4. Absorption

La spéciation du Cd, c'est-à-dire les différentes formes physico-chimiques sous lesquelles il peut se trouver, est d'une grande importance. Elle détermine la mobilité, la biodisponibilité et la toxicité d'un élément chimique. En effet, le taux d'absorption dépend souvent de la spéciation. Il faut donc en tenir compte pour évaluer les risques sur la santé humaine. Sous forme élémentaire, le Cd n'est pas toxique, mais il le devient une fois qu'il se trouve sous sa forme cationique Cd^{2+} qui est électrophile. Il peut être absorbé sous cette forme au niveau intestinal et pulmonaire. Ainsi, il entre en compétition avec d'autres métaux divalents essentiels (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} ...) par mimétisme au niveau de certains transporteurs membranaires, mais peut être également absorbé sous formes autres que Cd^{2+} (Jumarie *et al.*, 2001).

Le Cd n'a pas de chemin d'entrée ou de sortie spécifique. Par conséquent, il fonctionne en imitant les métaux physiologiques pour pénétrer les membranes cellulaires. Parmi les protéines fournies figurent des transporteurs de métaux de type I bivalents (DMT1) (Hubert *et al.*, 2002). DMT1 est une protéine de la membrane plasmique spécialisée en absorption du fer. Ce transporteur a été déterminé comme étant lié à l'absorption intestinale de Cd (Barbier *et al.*, 2004; Olivi *et al.*, 2001; Tallkvist *et al.*, 2001).

Des recherches récentes ont montré que le Cd a la possibilité de pénétrer la paroi cellulaire en utilisant un transporteur de zinc, le Zip8. La présence de ce transporteur dans la membrane plasmique des cellules vasculaires endothéliales des testicules de souris conduit à une augmentation de l'influx de Cd et une sensibilité exacerbée vis-à-vis du métal (Dalton *et al.*, 2005; He *et al.*, 2006). De plus, il semble que les canaux calciques permettent également l'entrée du Cd dans la cellule (Martelli *et al.*, 2006).

Une littérature abondante décrit les protéines MRP (Multidrug Resistance Proteins) comme impliquées dans l'efflux de nombreux xénobiotiques. Il a été démontré que Mrp2 était le principal transporteur intervenant dans la sortie de cadmium biliaire conjugué au GSH (Ballatori *et al.*, 2005; Dijkstra *et al.*, 1996; Leslie *et al.*, 2005; Paulusma *et al.*, 1997). Si les populations professionnelles sont le plus souvent exposées par inhalation, la population générale est très majoritairement

exposée par voie orale (alimentation et eau de boisson), à l'exception des fumeurs qui peuvent absorber quotidiennement par inhalation une dose de cadmium équivalente à celle absorbée par voie orale (une cigarette contient en moyenne 2 µg cadmium)(Lafon.M-D, 2010).

4.1 . Inhalation

Pendant l'exposition par inhalation, une partie du cadmium se dépose le long des voies respiratoires, selon la taille des particules. Un pourcentage estimé de 64% du cadmium déposé dans les poumons est absorbé (CE, 2007). Le taux d'absorption des composés les plus solubles dans l'eau (chlorures et oxydes) est d'environ 90 à 100%, et le taux d'absorption des sulfures est d'environ 10%. Cette absorption après une seule inhalation peut se faire sur une durée de plusieurs semaines (Nordberg, 1985).

4.2. Voie orale

Par voie digestive, l'absorption est d'environ 5% (Vahter *et al.*, 1996). Le taux d'absorption du cadmium dépend de la solubilité et est directement lié à la forme chimique. L'absence de calcium, de fer, de zinc, de cuivre ou de protéines dans l'alimentation peut augmenter le taux d'absorption (Barregard *et al.*, 2010).

4.3. Voie cutanée

L'absorption par voie cutanée est faible, aucune donnée disponible ne permet de la quantifier (Wester *et al.*, 1992).

Chez l'homme, l'absorption pulmonaire du cadmium est proche de 100 % pour les composés les plus solubles (chlorure et oxyde de cadmium) et 10 % pour les moins solubles (sulfure de cadmium) pour les expositions par inhalation. Par voie orale, le taux d'absorption est d'environ 5 % et de l'ordre de 1 % par voie cutanée. C'est un toxique cumulatif. Il se concentre surtout dans le foie et les reins où il est stocké. Le cadmium libre est à l'origine des effets toxiques observés. Le cadmium n'est pas métabolisé. Il est excrété principalement dans les fèces et un peu dans les urines. L'excrétion urinaire est proportionnelle à la charge corporelle en cadmium au niveau rénal et hépatique (ATSDR, 2012).

5. Transport et Distribution

Le cadmium est transporté dans le sang sous forme liée à l'hémoglobine ou aux métallothionéines, et il présente dans le compartiment sanguin est principalement (environ 95%) intra-érythrocytaire lié à l'hémoglobine. Le cadmium plasmatique est lié aux protéines de haut poids moléculaire, principalement l'albumine

(Andujar *et al.*, 2010), La demi-vie du cadmium dans le sang, équivalente au temps d'élimination de la moitié du cadmium dans le sang, est d'environ 100 jours (Jarup *et al.*, 1983).

Le cadmium est rapidement distribué au foie où il induit la synthèse d'une protéine de transport de faible poids moléculaire, riche en groupement sulfhydryles(SH) : la métallothionéine (MT) avec laquelle il a une grande affinité, La synthèse protéique de MT est également stimulée par d'autres métaux comme le zinc, le mercure ou le bismuth(Rodilla *et al.*, 1998). La formation de complexes Cd-MT neutralise les effets toxiques du cadmium. Le complexe Cd-MT est ensuite redistribué dans tous les organes, notamment dans les reins figure (03). Le complexe Cd- MT est alors excrété après la filtration glomérulaire, contrairement au complexe Cd albumine qui ne passe pas la barrière glomérulaire du fait de son haut poids moléculaire. La quasi-totalité du complexe Cd-MT est ensuite réabsorbé par pinocytose dans les cellules tubulaires contournées proximales. Dans les cellules tubulaires, la MT est alors détruite par des enzymes lysosomales, libérant ainsi des ions Cd²⁺ dans le cytoplasme. Le Cd²⁺ cytoplasmique est alors à nouveau lié à une nouvelle MT synthétisée dans le cytoplasme. Lorsque les capacités de production de MT sont dépassées, le cadmium exerce alors des effets toxiques tubulaires rénaux, expliquant pourquoi la concentration rénale de cadmium est toujours plus importante dans le cortex rénal que dans la médullaire rénale (Andujar *et al.*, 2010).

Le cadmium est transporté dans le sang fixé à l'hémoglobine ou aux métallothionéines, Le cadmium se concentre principalement dans le foie et les reins : entre 50 % et 70 % de la charge totale, Il est également retrouvé dans les os, le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires. Les concentrations de cadmium dans les reins sont proches de zéro à la naissance et augmentent linéairement avec l'âge figure (03) jusqu'à un pic d'environ 40 à 50 mg.kg⁻¹ de poids corporel vers l'âge de 50 à 60 ans, puis diminuent (Alexander *et al.*, 2009).

Les concentrations hépatiques de cadmium sont également proches de zéro à la naissance, augmentent jusqu'à 1 à 2 mg.kg⁻¹ à l'âge de 20 à 25 ans, puis augmentent lentement tout au long de la vie (Chung *et al.*, 1986).

Dans l'organisme, le cadmium se fixe sélectivement sur les métallothionéines, protéines dont la synthèse est directement stimulée par l'exposition au cad-

mium. Le cadmium peut également se fixer à d'autres peptides ou acides aminés de faible poids moléculaire tel que le glutathion ou la cystéine respectivement (Zalups *et al.*, 2003). Le cadmium hépatique est ensuite excrété dans la bile essentiellement sous la forme liée au glutathion ou gagne le plasma sous la forme liée aux métallothionéines (Chung *et al.*, 1986).

Le cadmium libre est à l'origine des effets toxiques observés. Le cadmium possède une demi-vie de l'ordre de 6 à 38 ans dans le rein, de 4 à 19 ans dans le foie et de 30 jours dans le sang (Alexander *et al.*, 2009).

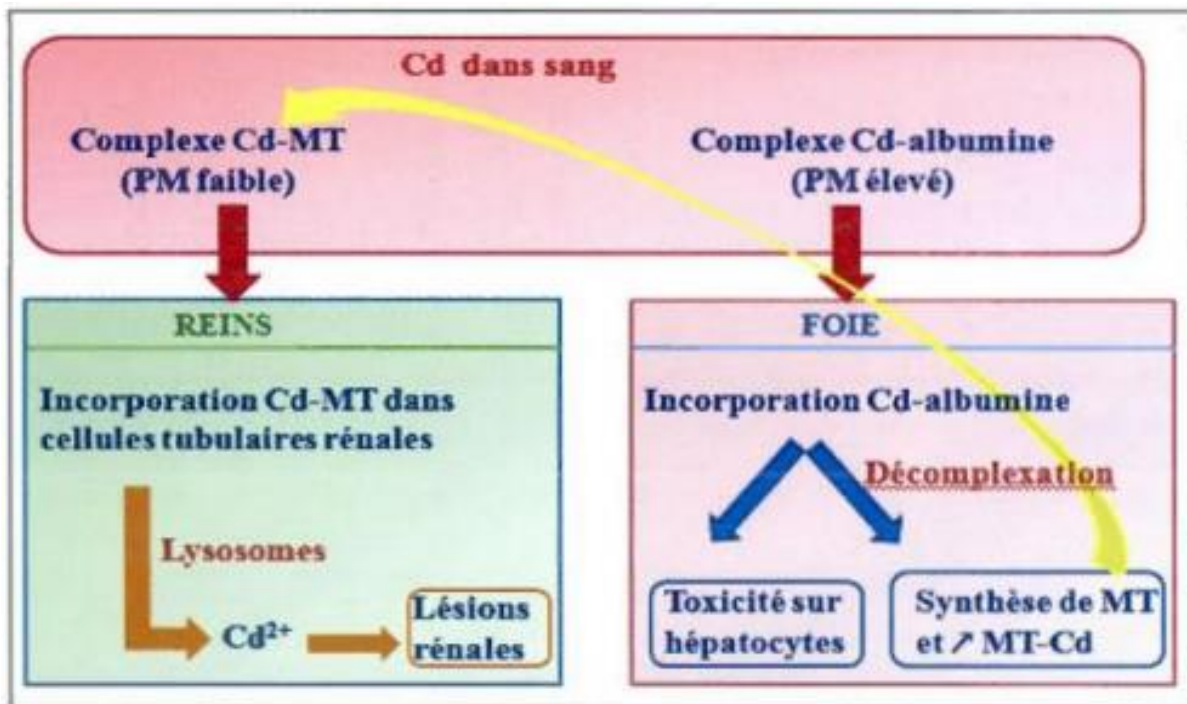


Figure (03) : Schéma résumant le transport et la distribution du cadmium dans l'organisme après son absorption (BONET, 2011).

6. Intoxication aiguë au cadmium

Il existe deux principaux types d'intoxication en fonction de la voie d'exposition.

A- Intoxication aiguë au cadmium par voie respiratoire

Par inhalation, lors d'intoxications aiguës sévères issu de l'exposition à courte durée à fortes concentrations de poussières ou de fumées de cadmium, la mortalité est estimée comme pouvant atteindre 15 à 20 % de ceux qui développent une pneumonie chimique. La mort survient souvent 1 à 3 jours après l'exposition, les effets observés pendant cette période sont une irritation pulmonaire (cellules du système respiratoire) sévère accompagnée de trouble pulmo-

naire grave (dyspnée), de cyanose et de toux (Houeix *et al.*, 2014; R. R. Lauwers, 1990). La mort est généralement due à un œdème pulmonaire. La charge pulmonaire mesurée lors de ces décès est de 1,5 à 4,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Seidal *et al.*, 1993).

Les sujets qui survivent à ce type d'intoxication aiguë ne gardent généralement pas de séquelle. Cependant, certains auteurs rapportent des atteintes pulmonaires différées (Barnhart *et al.*, 1984). Sur la base des données obtenues lors d'expositions professionnelles, il a été estimé qu'une exposition de 8 heures à 5 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pourrait être mortelle et qu'une exposition de 8 heures à 1 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ pourrait être dangereuse pour la santé humaine (Houeix *et al.*, 2014).

B- Intoxication aiguë au cadmium par voie digestive

L'ingestion de cadmium, ou de ses composés inorganiques, peut survenir notamment lors de la prise d'aliments ou de boissons contaminés par du cadmium. Les symptômes observés rapidement à partir de 3 mg ingérés des vomissements souvent sanglants associés à des douleurs abdominales intenses, des diarrhées et des myalgies (Andujar *et al.*, 2010). Les pertes digestives dues aux vomissements et/ou aux diarrhées engendrent des troubles hydroélectrolytiques et une hypovolémie. Les troubles hémodynamiques sont responsables d'une insuffisance rénale aiguë, associés à la toxicité rénale directe du cadmium. Parfois, il existe une cytolysé hépatique et certains auteurs ont décrit l'apparition d'œdèmes faciotronculaires. Lors d'intoxications massives, le patient décède en quelques heures dans un tableau de collapsus cardiovasculaire, d'acidose métabolique majeure et d'une coagulopathie de consommation. La dose orale minimale létale en une seule prise est estimée entre 350 à 500 mg sur l'échelle de gravité de Hise et Fulkerson de 1973 (Hise *et al.*, 1973). Cette échelle est ancienne et n'a pas été réévaluée depuis. Deux cas de décès ont été rapportés dans la littérature à partir de 1500 mg, un empoisonnement mortelle a été constatée pendant l'ingestion volontaire de 5 g d'iodure de cadmium (Houeix *et al.*, 2014; Wisniewska-Knypl *et al.*, 1971). Un autre cas est décrit suite à l'ingestion de 150 g de chlorure de cadmium. La mort est survenue en quelques heures par développement d'un œdème pulmonaire, d'épanchements pleuraux et d'une ascite. Il a été observé une nécrose focale hépatique, un aspect un peu hémorragique du pancréas et l'absence d'atteinte rénale (Buckler *et al.*, 1986).

C- Intoxication aiguë au cadmium par voie cutanée

Les rares études disponibles ont montré qu'un petit nombre de patients soumis à un patch-test (25 cas sur 1 502 exposés) à une dose de 2 % de chlorure de cadmium développait une irritation. Ces résultats ne sont pas suffisants pour classer le cadmium comme irritant cutané (Houeix *et al.*, 2014; Wahlberg, 1977). Le cadmium n'est ni corrosif ni sensibilisant (CE, 2007).

Chez l'homme, l'intoxication aiguë sévère par inhalation conduit à une pneumonie chimique pouvant être mortelle dans 15-20 % des cas. Les effets observés pendant cette période sont une irritation pulmonaire sévère, accompagnée de dyspnée, cyanose et toux (Houeix *et al.*, 2014).

7. Intoxication chronique au cadmium

La toxicité chronique regroupe l'ensemble des effets liés à des expositions répétées à long terme et avec des faibles doses.

-Atteinte rénale lors d'une intoxication chronique

Lors de l'exposition chronique à long terme et avec des faibles doses au cadmium, le principal organe cible est le rein. Cette intoxication entraîne l'apparition d'une néphropathie irréversible pouvant évoluer vers une insuffisance rénale (Jin *et al.*, 2004).

Une dégénérescence des cellules tubulaires rénales se manifeste précocement, elle est suivie par une réaction inflammatoire interstitielle puis une fibrose (SFSP, 1999), une élimination accrue des protéines de faible poids moléculaire est observée : β 2-microglobuline (β 2M), protéine de liaison du rétinol (RBP), protéine de liaison de la vitamine D, lysosyme, ribonucléase, alpha1-microglobuline (Alexander *et al.*, 2009), Cette protéinurie peut s'accompagner de glycosurie, d'aminoacidurie, hyper-phosphaturie et d'une fuite de calcium (Houeix *et al.*, 2014), La fuite phosphocalcique urinaire favorise la survenue de lithiase urinaire (Andujar *et al.*, 2010). À un stade plus avancé, une tubulo-pathie distale se surajoute, avec des troubles de la concentration et de l'acidification des urines. Une néphropathie glomérulaire, caractérisée par une fuite de protéines de haut poids moléculaire (albumine...), peut être associée à une atteinte tubulaire préexistante. La protéinurie tubulaire se poursuit souvent après l'arrêt de l'exposition au cadmium (Järup *et al.*, 1993). Il existe une corrélation entre l'altération de la fonction

rénale et la concentration de cadmium dans le parenchyme rénal ou dans les urines (Andujar *et al.*, 2010), Selon les études, les premiers signes d'une altération de la fonction rénale peuvent survenir à partir d'une cadmiurie 1,1 à 15 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de créatinine (L. Chen *et al.*, 2006).

De nombreuses études ont mis en évidence une augmentation de mortalité en lien avec une augmentation de dysfonctionnements rénaux chez les populations résidant dans des zones polluées au cadmium. Une augmentation statistiquement significative des SMR (Ratio standardisé de mortalité : rapport du nombre de décès observés dans une cohorte d'individus au nombre de décès attendus), est observée chez les résidents d'une zone polluée au cadmium au Japon en lien avec une augmentation des biomarqueurs de dysfonctionnements rénaux (Arisawa *et al.*, 2007). Une augmentation de la mortalité en lien avec des dysfonctionnements rénaux est également observée dans des zones polluées au cadmium chez des populations en Belgique (Robert Lauwerys *et al.*, 1981) et en Angleterre (Inskip *et al.*, 1982).

Des niveaux élevés de plusieurs biomarqueurs de dysfonctionnements rénaux et/ou une association entre charge corporelle en cadmium et ces biomarqueurs a été rapportée chez des populations résidant dans des zones polluées en cadmium, mais à des niveaux qui restent peu élevés, au Japon (Ezaki *et al.*, 2003; Uno *et al.*, 2005), en Belgique (Buchet *et al.*, 1990), aux Etats Unis (Noonan *et al.*, 2002), Ces mêmes observations ont également été réalisées sur des populations résidant dans des zones polluées au cadmium en Chine (Jin *et al.*, 2004), en Pologne (Trzcinka-Ochocka *et al.*, 2004), en Suède (Olsson *et al.*, 2002), en Thaïlande (Teeyakasem *et al.*, 2007).

Le tableau ci-dessous résume les données précédentes.

Tableau (04): Les principales études considérant le lien entre biomarqueurs d'effet rénal et concentration de Cd urinaire (Cd-U)(Houeix *et al.*, 2014).

Population étudiée (Référence)	Niveau moyen de cadmium urinaire (Cd-U) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ créatinine)	Biomarqueur d'effet	Résultats
Population générale (Japon) : 10 753 femmes (35-60 ans) (Ezaki <i>et al.</i> , 2003)	1,26	β 2M pHC	Relation statistiquement significative entre Cd-U et biomarqueurs d'effets disparaissant lorsque l'âge est pris en compte dans l'analyse.
Population générale (Japon) : 1 105 hommes et 648 femmes >50 ans (Suwazono <i>et al.</i> , 2000)	1,8 (H) 2,4 (F)	β 2M Protéines totales NAG	Corrélation statistiquement significative entre Cd-U et protéines et β 2M. Relation dose-réponse entre Cd-U et prévalence des niveaux anormaux de biomarqueurs d'effet.
Population générale (Belgique) : 175 femmes (moyenne d'âge : 81,1-82,3 ans) (Roels <i>et al.</i> , 1981)	0,040- 0,093 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$	β 2M Protéines Acides aminés Albumine	Relation dose-effet entre Cd-U et protéines urinaires et acides aminés, relation statistiquement significative avec β 2M et albumine seulement sur deux zones chez des individus présentant des Cd-U élevées.
Population générale (Etats Unis) : 6- 17 ans : 85 garçons et 71 filles \geq 18 ans : 71 hommes et 80 femmes (Noonan <i>et al.</i> , 2002)	0,07 (G) 0,08 (Fi) 0,24 (H) 0,23 (F)	β 2M NAG AAP albumine	Pas d'association (après correction de l'âge et du sexe) entre Cd-U et biomarqueurs d'effets chez les enfants. Association statistiquement significative (après ajustement à l'âge et au genre) entre Cd-U et NAG et AAP chez les adultes. Relation dose-réponse entre Cd-U et NAG et AAP.
Résidents d'une zone polluée par le Cd (Chine) : 433 hommes et femmes	11,27	β 2M NAG	Augmentation statistiquement significative des biomarqueurs d'effet

(S. Cai <i>et al.</i> , 1992)				
Résidants d'une zone polluée par le Cd (Chine) : Exposition élevée : 118 hommes et 170 femmes Exposition modérée : 80 hommes et 158 femmes	Eléevée : 11,18 Modérée : 3,55	β 2M RBP albumine	Corrélation statistiquement significative entre Cd-U et biomarqueurs d'effet Relation dose-effet entre Cd-U et prévalence de niveau anormal de biomarqueurs d'effet.	
(Jin <i>et al.</i> , 2002)				
Résidants d'une zone polluée par le Cd (Japon) : 127 hommes (72,1-73,6 ans)	6,8-6,9	β 2M	Augmentation de la prévalence des niveaux des biomarqueurs d'effet par rapport aux témoins	
(Y. Cai <i>et al.</i> , 2001)				
Résidants d'une zone polluée par le Cd (Thaïlande) : 58 hommes et 70 femmes (Teeyakasem <i>et al.</i> , 2007)	12	β 2M pHC NAG Protéines albumine	Corrélation statistiquement significative entre Cd-U et biomarqueurs d'effet. Relation dose-réponse entre Cd-U et prévalence de niveaux anormaux de β 2M	

AAP : alanine-aminopeptidase, β 2M : β 2- μ globuline, Cd-U : cadmium urinaire, Cd-S : cadmium sanguin, F : femmes, H : hommes, G : garçons, Fi : Filles, NAG : N-acétyl- β -glucosaminidase, pHC : glycoprotéine humaine formant complexe, RBP : rétinol binding protéine.

Il est envisagé de développer des niveaux de cadmium urinaire pour les différentes tranches d'âge à partir de 55 ans figure (04) pour tenir compte des effets cumulatifs et de l'excrétion variable en fonction de l'âge (Kobayashi *et al.*, 2008).

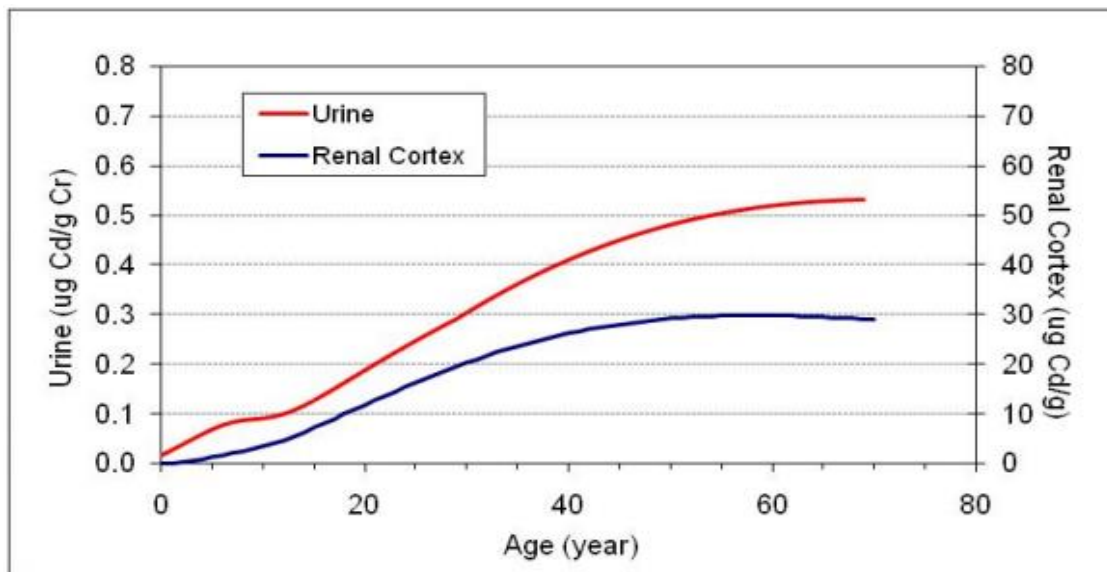


Figure (04) : Concentration du Cadmium urinaire ($\mu\text{g} / \text{g}$ de créatinine) et du cortex rénal ($\mu\text{g} / \text{g}$ de tissu humide) (ATSDR, 2012)

- Atteinte osseuse lors d'une intoxication chronique

L'intoxication chronique au cadmium peut être à l'origine d'une ostéomalacie et parfois d'une ostéoporose diffuse la toxicité osseuse du cadmium serait le fait, d'une part, de la fuite rénale phosphocalcique induit de l'ostéomalacie, de l'ostéoporose, avec des douleurs osseuses intenses et, d'autre part, de la perturbation par le cadmium du métabolisme de la 1,25-OH-vitamine D3 aboutissant à une diminution de l'absorption digestive du calcium, de la calcitonine aboutissant à une diminution de résorption osseuse et de la parathormone (PTH) aboutissant à une augmentation de résorption osseuse (Andujar *et al.*, 2010). Le rôle du cadmium dans la genèse de l'ostéoporose et de l'ostéomalacie est probable (Nawrot *et al.*, 2010).

Si la toxicité osseuse du cadmium lors d'une exposition est clairement établie chez les populations souffrant de troubles du métabolisme du calcium, des études montrent que des atteintes osseuses ont également été mises en évidence pour des concentrations n'induisant pas de lésions rénales (Åkesson *et al.*, 2005).

Les résultats de l'étude menée par (Alfvén *et al.*, 2000) sur une population de 1 064 personnes (hommes et femmes) exposés profession-

nellement et via l'environnement permet de proposer un LOAEL de $3,63 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine ($3 \text{ nmol de Cd.mmol}^{-1}$) de créatinine. D'autres études confirment la survenue d'effets sur la densité osseuse à de faibles doses de cadmium. Ces effets sont rapportés pour des concentrations en cadmium urinaire de $0,67 \mu\text{g.g}^{-1}$ créatinine et pour des concentrations sanguines de cadmium de $0,38 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Åkesson *et al.*, 2006) et pour des concentrations sanguines de cadmium de $0,90 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Schutte, Nawrot, Richart, Thijs, Vanderschueren, *et al.*, 2008).

Une augmentation de 18 % de l'incidence des fractures a été mise en évidence chez les personnes de plus de 50 ans par unité de cadmium urinaire ($1,21 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine 1 nmol.mmol^{-1} de créatinine), Ce ratio est de 3,5 chez des sujets présentant des concentrations urinaires de cadmium de $2,42$ à $4,84 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine (2 à 4 nmol.mmol^{-1} de créatinine) et de 8,8 chez des sujets présentant des concentrations urinaires de cadmium supérieure à $4,84 \mu\text{g.g}^{-1}$ de créatinine (4 nmol.mmol^{-1} de créatinine) (Alfvén *et al.*, 2004). La diminution de l'exposition au cadmium via l'alimentation au niveau de la population ne se traduit pas par une diminution du cadmium osseux au niveau individuel (X. Chen *et al.*, 2009) sauf cas particulier.

Certaines études n'ont pas montré de lien entre exposition au cadmium et effet osseux (Rignell-Hydbom *et al.*, 2009; Trzcinka-Ochocka *et al.*, 2010).

- Atteinte neurologiques lors d'une intoxication chronique

Il est possible que le cadmium soit également à l'origine de neuropathies périphériques. Cette observation a été réalisée chez une population de retraités ayant été exposés au cadmium au cours de leur activité professionnelle (Viaene *et al.*, 1999).

- Effets cardiovasculaires lors d'une intoxication chronique

Différentes études épidémiologiques (étudiées notamment en raison de l'atteinte rénale) n'ont pas mis en évidence d'augmentation de la pression artérielle ou une fréquence accrue d'affection cardiovasculaire lors de l'exposition au cadmium (Robert Lauwerys *et al.*, 1991), Certains

auteurs rapportent un effet hypertenseur du cadmium. Cette association est controversée dans la littérature. Chez l'animal, un lien entre la survenue d'une hypertension artérielle et une exposition au cadmium est évoqué (Satarug *et al.*, 2006).

Cette association est très controversée chez l'homme, comme le montre la discordance des nombreuses études épidémiologiques publiées. La plupart de ces études épidémiologiques ont des limites méthodologiques, avec de faibles effectifs, l'absence d'ajustement sur des facteurs confondants ou l'absence de standardisation des mesures de la pression artérielle par exemple. Plus récemment, plusieurs études avec une analyse transversale à partir des données du National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) ont mis en évidence une association entre les niveaux sanguins et urinaires de cadmium et les effets cardiovasculaires (Everett *et al.*, 2008; Navas-Acien *et al.*, 2009; Tellez-Plaza *et al.*, 2008). Des sujets exposés au cadmium via l'environnement en Belgique avaient une excrétion urinaire de cadmium corrélée avec des modifications d'indicateurs physiologiques de la fonction cardiovasculaire tel que propagation de l'onde pulsatile, pression artérielle pulsée, compliance et élasticité artérielle (Schutte, Nawrot, Richart, Thijs, Roels, *et al.*, 2008). Les résultats portant sur 728 participants (1999-2000), ont mis en évidence un lien entre les niveaux de cadmium urinaires et la survenue d'une athérosclérose (Navas-Acien *et al.*, 2009)

CHAPITRE

II

LE ZINC

Le Zinc (Zn)

1. Généralités sur le zinc

Le mot zinc(Zn) vient de l'allemand "zinke" qui signifie pointe en français. Même s'il ne représente que 0,012% de la croûte terrestre, il est présent dans l'eau, le sol et l'air ; de plus il est une composante essentielle et indispensable du corps humain (Burdin, 2014).

Le zinc est un élément de transition dans le tableau périodique des éléments, avec un numéro atomique 30 et un poids atomique 65,37, en raison de son mélange de cinq isotopes stables : ^{64}Zn , ^{66}Zn , ^{67}Zn , ^{68}Zn et ^{70}Zn . Il dispose de plusieurs radio-isotopes actifs dont deux ont été les plus utilisés dans la recherche humaine et animale, ^{65}Zn et ^{69}Zn . Le zinc est stable dans son état cationique bivalent (Zn^{++}) et n'est ni un réducteur ni un agent oxydant (ne présente pas de chimie redox dans les organismes vivants). Il forme des sels inorganiques et des complexes organiques avec des acides et autres composés chargés négativement (Chesters, 1989).

Les propriétés chimiques du zinc, lui confèrent un rôle important dans une grande variété de processus biologiques. Il a une forte affinité pour les électrons et généralement se lie aux acides aminés, peptides et nucléotides, permettant à la fois sa fonction catalytique et structurale. Le zinc est un composant essentiel d'un grand nombre d'enzymes (> 300) participant à la synthèse et la dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques ainsi que dans le métabolisme des autres micronutriments (McCall *et al.*, 2000). De ce fait le zinc est impliqué dans l'expression des gènes, la croissance et la division cellulaire, les fonctions immunologiques et de reproduction (Prasad, 2009), est classé parmi les éléments traces (ET) aussi appelé oligo-élément, c'est un nutriment sans valeur énergétique propre, mais dont la présence est essentielle au métabolisme (Berger *et al.*, 2001). Le rôle du zinc en pathologie humaine a été mis en évidence par Prasad, en 1958. Il découvrit la présence d'une carence en zinc chez 11 patients souffrant de troubles similaires (nanisme, hypogonadisme, hépato-splénomégalie et anémie par carence en fer) faisant suite à un régime particulier de pain de froment et très peu de protéines animales (Seve M, 2002). C'est l'oligo-élément, après le fer, le plus quantitativement impor-

tant dans notre organisme. Il est essentiel et agit comme cofacteur enzymatique dans de nombreux processus métaboliques de l'être humain (Burdin, 2014).

1.1. Rappel historique sur le zinc

Le zinc est un oligo-élément essentiel et l'un des micronutriments qui a récemment suscité une attention croissante en raison de son importance dans le maintien de la santé et de l'état nutritionnel des populations. L'histoire de la reconnaissance de l'importance biologique du zinc est ancienne. Durant la première moitié du XXe siècle, les chercheurs ont découvert que le zinc était essentiel pour la croissance normale et la survie des plantes, de la volaille, des rongeurs et des porcs (Prasad, 1991). Dès 1869, Raulin (Raulin, 1869) avait montré pour la première fois l'importance biologique du zinc par des études de croissance effectuées sur des champignons (*Aspergillus niger*). Cette découverte a été confirmée par les travaux de (Todd *et al.*, 1933; Tucker *et al.*, 1955) qui mettaient simultanément en évidence le caractère indispensable du zinc pour le rat, le porc et le poulet. En dépit de toutes ces observations, beaucoup de chercheurs doutaient que la carence en zinc pourrait survenir chez les humains du fait de l'omniprésence du zinc dans l'environnement et de l'absence de signes cliniques évidents (apparents) de sa carence dans les populations humaines vraisemblablement à haut risque. Cependant, les preuves de la carence en zinc chez les humains ont commencé à émerger au cours des années 1960, lorsque des cas de nanisme et d'immaturité sexuelle associés à une alimentation carencée en zinc ont été observés à partir de travaux menés en Iran et en Egypte (Prasad *et al.*, 1961; PRASAD *et al.*, 1963). Depuis cette date de nombreux travaux ont été publiés concernant le rôle essentiel du zinc dans la croissance physique des êtres humains et le fonctionnement normal du système immunitaire (Dardenne *et al.*, 1988).

1.2. Sources alimentaires

Le zinc est présent dans une grande variété de sources alimentaires. Cependant sa teneur dans les aliments est très variable. En effet les concentrations les plus fortes de zinc se retrouvent dans les aliments d'origine animale en particulier les viandes, les volailles, les poissons, les fruits de mer (surtout les huîtres) et à de moindres quantités dans les œufs et les produits laitiers. La teneur en zinc est relativement élevée dans les noix, les graines, les légumineuses et les céréales complètes et est plus faible dans les tubercules, les céréales raffinées, les fruits et les légumes (Brown *et al.*, 2001; IZiNCG, 2004). Les besoins en zinc

sont estimés à 15 mg par jour chez l'adulte et à 12 mg par jour chez la personne âgée de plus de 75 ans (Roussel *et al.*, 2009; Seve M, 2002), d'autre part, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que les besoins quotidiens du zinc est l'équivalent à la perte journalière en fonction de l'âge, le sexe et l'état physiologique de l'individu (tableau 05).

Tableau (05) : apport et besoin en zinc (Seve M, 2002).

	Besoin (OMS) (mg)	Apport (RDA) (mg)
Enfants de moins de 1 ans	1,1	3 à 5
Enfants 1 à 10 ans	1,6	5 à 10
Adolescents	2,8	15
Adultes	2,2	15
Femmes enceintes	2,5 à 3,0	20
femmes allaitantes	5 à 6	20 à 25

Les teneurs moyennes en zinc (mg/100 g de poids frais) et la densité de zinc (mg/100 kcal) pour une certaine variété d'aliments sont présentées dans le Tableau (06).

Tableau (06) : Teneur en zinc de certains aliments (IZiNCG, 2004)

Sources	Teneur en zinc	
	mg/100g	mg/100kcal
Foie, rein (poulet, bœuf)	4,2-6,1	2,7-3,8
Viande (bœuf, porc)	2,9-4,7	1,1-2,8
Volaille (poule, canard, etc.)	1,8-3,0	0,6-1,4
Fruits de mer (poisson, etc.)	0,5-5,2	0,3-1,7
Œuf	1,1-1,4	0,7-0,8
Lait et produits laitiers	0,4-3,1	0,3-1
Grain et noix (sésame, citrouille, amande, etc.)	2,9-7,8	0,5-1,4
Haricot, lentille (soja, haricot, pois, etc.)	1,0-2,0	0,9-1,2
Graines de céréales entières (blé, maïs, riz brisé, etc.)	0,5-3,2	0,4-0,9
Graines de céréales raffinées (farine blanche, riz blanc, etc.)	0,4-0,8	0,2-0,4
Pain	0,9	0,3

Manioc fermenté	0,7	0,2
Tubercules	0,3-0,5	0,2-0,5
Légumes	0,1-0,8	0,3-3,5
Fruits	0-0,2	0-0,6

2. Absorption intestinale du zinc

L'absorption intestinale est une étape clé du métabolisme du zinc car elle assure en grande partie la régulation de la teneur en ce métal dans le corps humain (Seve M, 2002), Elle est plus élevée dans le cas d'une alimentation riche en produits animaux (Martin *et al.*, 2012).

Dans l'estomac, en présence d'acide chlorhydrique, le zinc est libéré des aliments sous forme d'ions libres (Zn^{2+}) durant la digestion. Ces ions peuvent se présenter sous forme libre ou liés à des ligands endogènes de faible poids moléculaire dans la lumière intestinale avant leur absorption transcellulaire dans le duodénum distal et le jéjunum proximal. Les sécrétions pancréatiques qui aident à digérer les aliments fournissent une quantité de zinc dans le duodénum équivalent à celle contenus dans la plupart des repas. L'intestin doit donc récupérer des quantités appropriées de zinc provenant de sources alimentaires et endogènes pour maintenir un équilibre favorable de zinc (King *et al.*, 2000). L'absorption intestinale du zinc constitue une étape clé de son métabolisme car elle assure en grande partie la régulation de sa teneur dans le corps humain (Salgueiro *et al.*, 2004).

De nombreux facteurs alimentaires et physiologiques modulent l'absorption et le transfert du zinc vers le compartiment sérique (King *et al.*, 2000).

L'absorption du zinc se fait au niveau de l'intestin grêle et plus précisément au niveau du jéjunum. Lors d'un repas, le zinc semble être capté au niveau de la bordure en brosse de l'épithélium digestif par des acides aminés (cystéine) mais le mécanisme n'est pas encore totalement élucidé (Burdin, 2014).

Le zinc administré sous forme de solution aqueuse à des sujets à jeun est absorbé efficacement (60-70%), cependant l'absorption à partir des aliments solides est moins efficace et varie suivant la quantité de zinc et la composition de l'aliment (Hess *et al.*, 2009).

De plus, la biodisponibilité du zinc et sa teneur dans l'organisme ne dépend pas uniquement des apports (aliments riche en zinc). En effet, beaucoup de facteurs et de situations physiologiques peuvent influencer la résorption du zinc :

– Facteurs inhibant l'absorption en zinc : l'acide phytique (dans le soja), phosphates, fibres alimentaires (cellulose, hemicellulose, lignine), caséine, hautes doses de fer, cuivre et calcium (Seve M, 2002).

– Facteurs stimulants l'absorption en zinc : lactose, vin, EDTA, ligand du zinc dans le lait, protéines animales, acides aminés (histidine, cystéine), acides organiques (citrate) et peptides (Seve M, 2002).

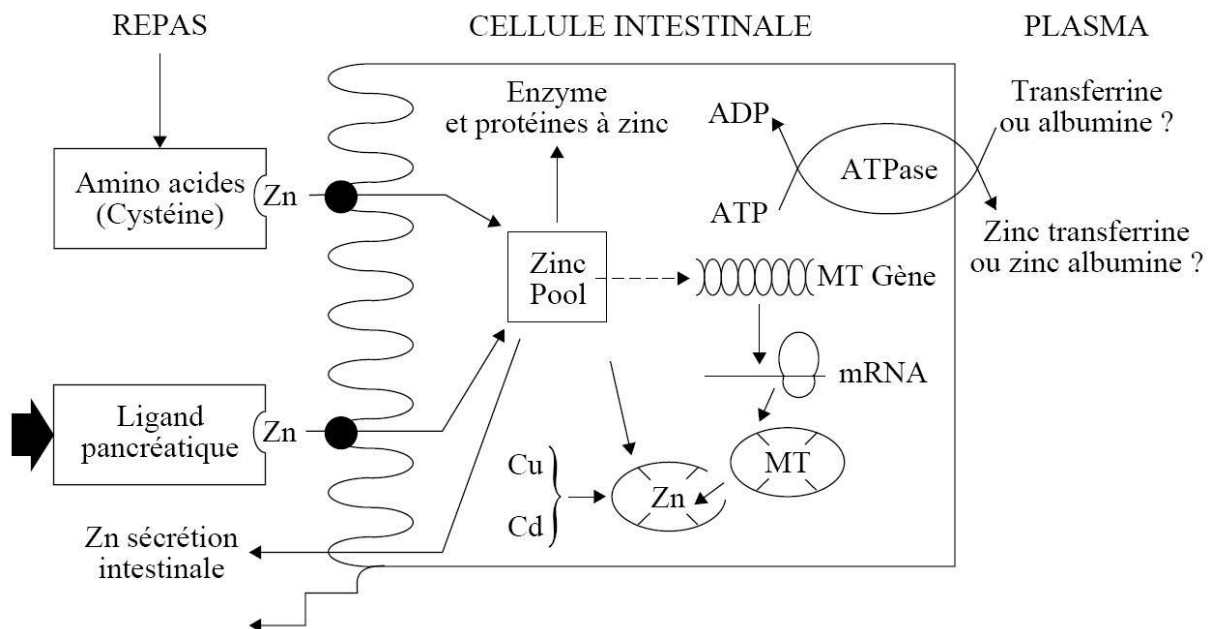


Figure (05) : Mécanisme de l'absorption du zinc (Seve M, 2002).

Tableau (07) : Facteurs modifiant l'absorption du zinc (Seve M, 2002).

Facteurs augmentant l'absorption du zinc	Facteurs diminuant l'absorption du zinc	Facteurs sans effet
- Lactose	- Cu ⁺⁺	- Oxalate
- Vin	- Fe ⁺⁺	- Vitamine C
- Ligand du zinc dans le lait	- Phytate	- Mg ⁺⁺
- Aminoacides Histidine	- Phytate + calcium	
- Cystéine	- Fibres végétales ±	
	- Ca-P	
	- Protéines de soja	

3. Distribution du zinc

Le zinc est présent dans le plasma, les érythrocytes, les leucocytes et les plaquettes. Dans le plasma, le zinc est fixé à des protéines principalement l'albumine (60%) figure (06) et l'alpha 2 macroglobuline, et des aminoacides qui servent de transport. Initialement, le zinc est concentré dans le foie et les reins, fixé sur une métallo-thionéine. La synthèse de cette protéine hépatique est stimulée quand la concentration plasmatique en zinc est élevée. Puis le zinc est distribué dans tout l'organisme, la majorité est répartie dans les muscles (60%), et dans les os (30%), le reste se distribue entre le foie, la prostate, le tractus gastro-intestinale, les reins, la peau, les poumons, le cerveau, le cœur et le pancréas (Jakubowski, 2001).

4. Excrétion du zinc

Le zinc ne s'accumule pas dans l'organisme, la charge corporelle est régulée par un mécanisme homéostatique qui contrôle l'absorption et le taux hépatique (Goyer *et al.*, 1996). La voie principalement d'excrétions est l'intestin. Une faible parties éliminée dans l'urine et le reste dans la sueur, le sperme, les cheveux ; la salive et le lait (Lansdown, 1991).

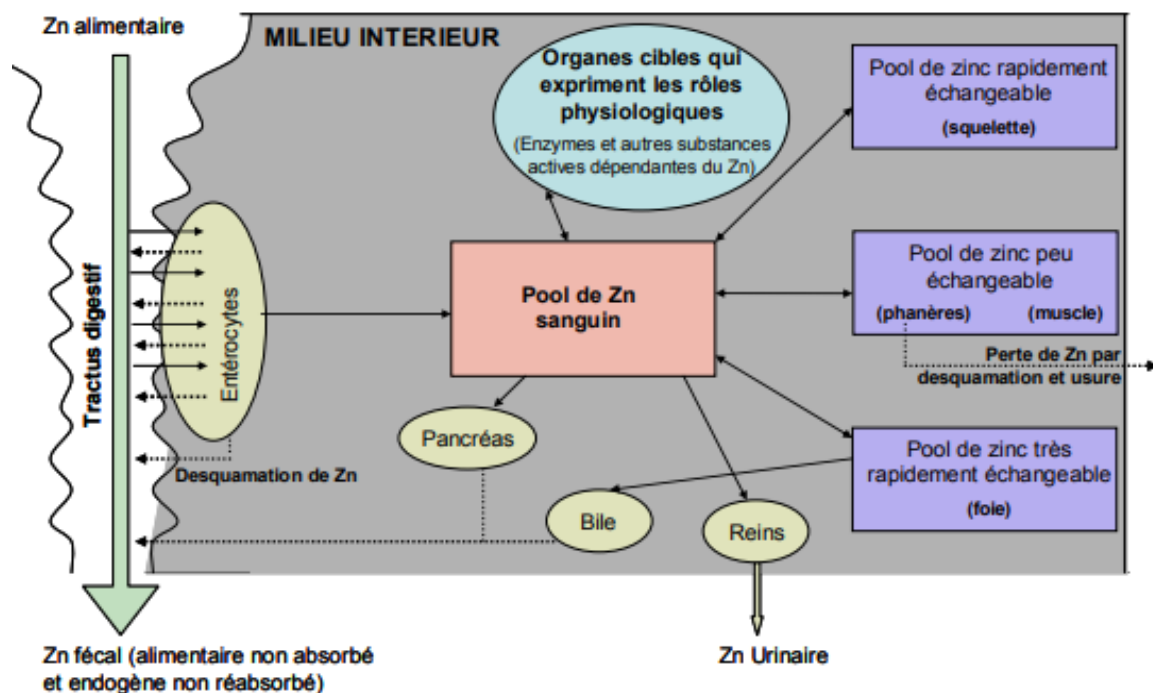


Figure (06) : Flux corporels de zinc (Schlegel, 2010)

5. Rôles du zinc dans l'organisme

Le zinc est un élément essentiel pour la croissance et la survie du corps humains, il est nécessaire pour des nombreux processus métaboliques structural et catalytique.

5.1. Rôle biochimique

Le zinc intervient dans l'activité de nombreuses enzymes et joue un rôle dans l'expression de gènes et la stabilité de structure des protéines aussi.

5.1.1. Action enzymatique (Dans les métallo-enzymes)

L'atome de zinc est présent dans plus de 200 métallo-enzymes. il peut donc agir de différentes manières sur le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. la corrélation entre le zinc et la protéine stimule la plupart des interactions : déshydrogénation et déshydratation (phosphatase, peptidase, aldol ase). Le zinc intervient aussi dans de nombreux programmes métaboliques malgré sa faible capacité de motivation. La présence d'un atome de zinc est nécessaire non seulement pour le travail du site actif, mais aussi pour maintenir la stabilité de la structure comme l'enzyme α -amylase pour *Bacillus subtilis*, aussi, pourrait avoir un rôle régulateur comme l'enzyme aspartatetranscarbamylyase, ou il a un double rôle le maintenaient de structure et de la stimulation comme alcool déshydrogénase figure (07) ou de la réglementation de la stimulation de l'enzyme amine peptidase pour le corps cristallin (ARNAUD *et al.*, 1991).

Tableau (08) : Principales métallo-enzymes à zinc(Seve M, 2002)

Noms	Source	Rôle	Nombre d'atomes de zinc par molécule
Oxydoréductases			
Alcool déshydrogénases	Vertébrés, plantes, levure	A et D	4
Superoxydedismutases	Vertébrés, champignons, bactéries et plantes		2
Lactate cytochrome réductase	Levure		4 à 6

Transférases			
ADN polymérase	Phage T4, oursin	A	1
Hydrolases			
Phosphatases alcalines	Mammifères, Bactéries	A, D	4
Carboxypeptidases A	Vertébrés, crustacés	A	1
Carboxypeptidases B	Mammifères, crustacés	A	1
Dipeptidases	Mammifères, bactéries	A	2
Protéases neutres	Vertébrés, champignons, bactéries	A	1 à 2
Lyases			
Anhydrases carboniques	Animaux, plantes	A	1
Glyoxalases I	Mammifères, levures	A	2
Isomérases			
Phosphomannose isomérase	Levure		4

A: rôle catalytique C: rôle régulateur

B: rôle structural D: rôle non défini

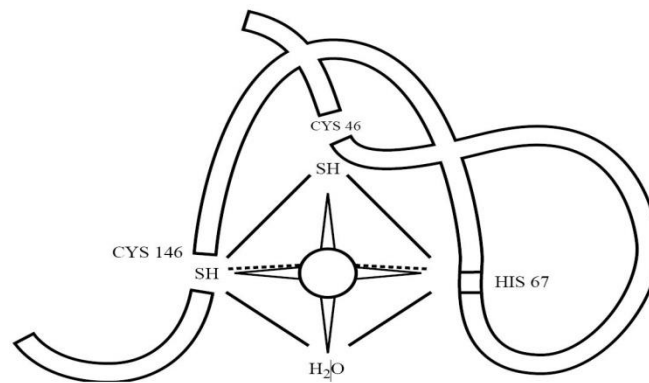


Figure (07) : Mode de liaison du zinc à une enzyme à zinc, l'alcool déshydrogénase (Favier, 1992).

5.1.2. Métabolisme des hormones

Le zinc a un effet sur le métabolisme des hormones au niveau de sécrétion, activité, site de la fixation tissulaire, il peut être un cofacteur, pour certain enzymes qui synthétisent des hormones par exemple : D-désaturases spécialisé dans la synthèse des prostaglandines, 5α -réductase qui permet le passage de dihydrotestostérone (DHT), le zinc peut également maintenir la structure quaternés des hormones qui leur donnent une forme active ou une grande stabilité comme le cas de l'insuline (Favier, 1992).

5.1.3. Métabolisme des acides nucléiques

Ce métal agit sur le métabolisme des acides nucléiques par les enzymes dont il est le cofacteur : ADN ou ARN polymérase, ARNt synthétases, transcriptases reverses, thymidine kinase. En l'absence de zinc, la molécule perd la possibilité de se fixer sur l'ADN. L'ADN cellulaire est formé d'une succession de gènes. Chaque gène pourra être transcrit en molécule d'ARN par une enzyme, l'ARN polymérase ; cet ARN servira de modèle pour donner une protéine spécifique. Pour être transcrit, le gène nécessite d'être activé par un facteur de transcription. Celui-ci activera le gène en se fixant sur une séquence particulière de l'ADN, le promoteur, situé en amont du gène à transcrire (Burdin, 2014; Seve M, 2002).

Le zinc est nécessaire à la forme active de très nombreux facteurs de transcription. Ils vont reconnaître la région spécifique du promoteur grâce à de petits prolongements particulièrement riches en zinc : ce sont les doigts de zinc figure (08), constituant une des principales structures de liaison à l'ADN. Les atomes de soufre de la cystéine et les azotes des histidines, liés à un atome de zinc, forment un com-

plexe, qui entraîne un repliement de la chaîne peptidique, nécessaire à la reconnaissance de l'ADN (Burdin, 2014).

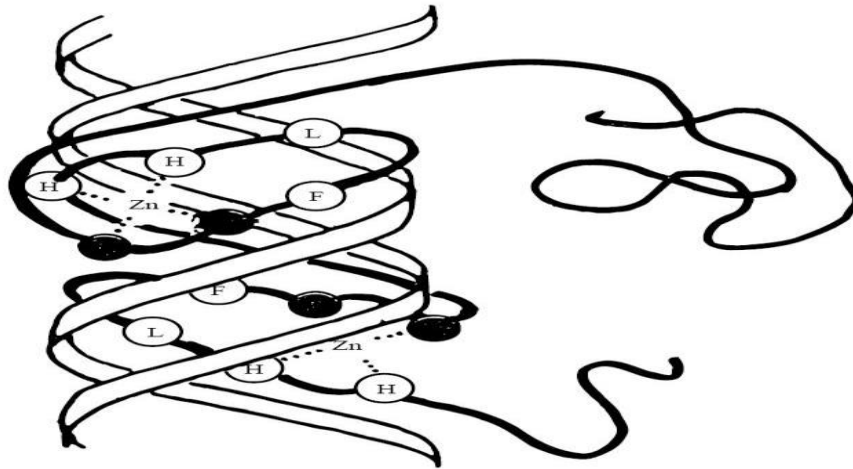


Figure (08) : fixation au niveau d'un gène d'un facteur de transcription de l'ADN, fonctionnant comme une protéine dactyle à zinc et pourvu de deux doigts de zinc (Favier, 1992)

Le déficit en zinc est un facteur de risque de dommages oxydatifs de l'ADN et de cancer, en entraînant non seulement des dommages sur l'acide nucléique, mais en diminuant la capacité des cellules à réparer ces dommages (Ho *et al.*, 2003).

5.2. Rôle physiologique

5.2.1. Croissance et multiplication cellulaire

Un déficit en zinc perturbe la croissance cellulaire et la multiplication cellulaire en phase S de la mitose. La liaison entre le zinc et les enzymes clés de la réplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN explique ce mécanisme. Le zinc est impliqué dans la croissance humaine. Des anomalies de la croissance osseuse (retard de croissance) peuvent être causées par une insuffisance d'apport en zinc. Cet effet peut s'expliquer par la perturbation de nombreuses enzymes (phosphatases alcalines, collagénases et ARN polymérase). De plus, ce métal est un cofacteur essentiel pour l'activité de l'hormone de croissance GH (Chappuis, 1991; Seve M, 2002).

5.2.2. Protection contre les radicaux libres

Cet oligo-élément est un antioxydant puissant. Son déficit peut être un facteur de risque de pathologies oxydatives comme les cancers, les maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2. Cependant, peu d'études se sont intéressées à la relation entre le déficit en zinc, l'augmentation du stress oxydant et l'incidence des

pathologies (Roussel *et al.*, 2009). Le zinc est un antioxydant important au niveau de trois mécanismes :

- Il est le cofacteur avec le cuivre de la superoxydedismutase, enzyme clé piégeant les ions superoxydes.
- Il a une action anti-radicalaire directe sur la formation du radical hydroxyle. Il peut aussi s'opposer aux réactions non enzymatiques catalysées par le fer (Réaction de Fenton) produisant le radical hydroxyle.
- Il stabilise les membranes en se couplant aux groupes thiol et leur évite de réagir avec le fer. Il maintient une concentration élevée en métallothionéines, riches en SH, ce qui équivaut à une fonction piègeur de radicaux libres (Seve M, 2002).

5.2.3. Zinc et os

Le squelette est un important lieu de stockage du zinc car il contient 30 % du zinc de l'organisme. Le zinc joue un rôle important dans le métabolisme osseux en tant que cofacteur de métallo-enzymes impliquées dans l'activité osseuse, comme la phosphatase alcaline nécessaire à la calcification et la collagénase nécessaire à la résorption et au remodelage osseux (Sarazin *et al.*, 2000). Le zinc interagit avec des hormones impliquées dans la croissance osseuse (somatomédine C, testostérone, hormones thyroïdiennes et l'insuline) (Hill *et al.*, 2005). Des retards de croissance et de la maturation sexuelle sont bien décrits dans les populations vivant dans des régions où les sols sont carencés en zinc. Le rôle du zinc dans la réplication et son rôle structural au sein de l'hormone de croissance pourrait expliquer les retards de croissance observés en cas de déficits en zinc, mais le bénéfice des suppléments reste controversé (Salgueiro *et al.*, 2004).

5.2.4. Zinc et cerveau

Le zinc est, avec le fer, l'oligoélément le plus concentré dans le cerveau. Il contribue à la structure et participe au bon fonctionnement cérébral (Frederickson *et al.*, 2000). Le cerveau contient une teneur élevée en zinc. Il existe une barrière homéostatique régulant les taux cérébraux de zinc au niveau des plexus choroïdes. Environ 90 % du zinc présent dans le cerveau est lié à des métalloprotéines. On le trouve au niveau du cortex dans les vésicules présynaptiques des neurones glutamnergiques. Son mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé, mais il semblerait qu'il agisse comme neurotransmetteur et neuro-modulateur des récep-

teurs glutamatergiques (Bohic *et al.*, 2011; Levenson, 2006) et qu'il ait un effet sur l'humeur. La diminution des activités des désaturases dans le déficit en zinc, en altérant le métabolisme des acides gras oméga 6 et oméga 3 essentiels à la croissance neuronale (Bhatnagar *et al.*, 2001), pourrait être également un autre mécanisme, par lequel la carence en zinc a un effet sur les altérations cérébrales.

6. Zincémie

Bien que corps humain contient 2-4 g de zinc, les valeurs normales de la zincémie sont comprises entre 12,3-16,9 $\mu\text{mol/L}$. Les déficits biologiques modérés (sans signes cliniques) sont définis pour des zincémies inférieures à 10,7 $\mu\text{mol/L}$ et inférieures à 6 $\mu\text{mol/L}$ dans le cas de déficits sévères, Une zincémie de 14 $\mu\text{mol/L}$ serait prédictive d'un meilleur état de santé (Roussel *et al.*, 2009).

CHAPITRE

III

LE MAGNESIUM

Le magnésium (Mg)

1. Historique

Le mot « magnésium » est lié à la ville grecque Magnesia, près de laquelle se trouvaient d'importants dépôts de carbonate de magnésium. L'élément magnésium a été découvert en 1808 par le chimiste britannique HUMPHREY DAVY, puis isolé en 1829 par le pharmacien français ANTOINE BUSSY. En 1926, le médecin français JEHAN LEROY montrait grâce à des expériences sur la souris le rôle essentiel du magnésium pour la croissance. Il y a un demi-siècle, le Dr DELBET, révélait l'importance biologique du magnésium en agriculture et en alimentation. Il lui a même donné, pendant quelques années, sa première vague de célébrité en le préconisant comme agent anti-infectieux et préventif du cancer (sous forme de chlorure de magnésium) Puis, l'intérêt du magnésium a été réactivé par le Dr DURLACH, dans la seconde moitié du XXe siècle. Son rôle physiologique a été étudié de manière précise grâce à l'apparition de nouvelles techniques de dosages et la découverte d'isotopes stables capables de suivre le devenir de cet élément dans l'organisme.

2. Description et aspects chimiques

Le magnésium, souvent indiqué par le symbole «Mg dans la table périodique des éléments» est le 12ème élément de la classification de MENDELEÏEV. Il appartient au groupe II de la période 3, famille dans laquelle on retrouve également le calcium et le zinc, des éléments avec lesquels le magnésium présente certaines analogies. Le magnésium est un minéral compte parmi les sels minéraux essentiels au bon fonctionnement de l'organisme. Il s'agit d'un métal alcalinoterreux et d'un cation divalent. Le magnésium de numéro atomique 12 possède une masse molaire atomique de 24,3 g/mol(De Baaij *et al.*, 2015), c'est un métal alcalino-terreux blanc argenté, qui se présente sous une forme solide et légère. Il fond aux alentours de 650 °C, bout vers 1100 °C. Sa densité est de 1,74. Il est instable et s'oxyde très facilement en perdant deux électrons, c'est pourquoi on le trouve toujours sous forme d'ions divalents Mg^{2+} ou sous forme oxydée MgO. C'est un minéral alcalin, il s'associe donc aux anions d'acides minéraux (chlorure, sulfate, phosphate, carbonate, hydroxyle) ou organique (citrate, lactate, orotate, pidolate, glycérophosphate...). Il réagit facilement avec les groupements phosphatés, ce qui implique une interaction avec toute

molécule biologique possédant ces groupements et explique une grande partie de ses propriétés biochimiques (Berthelot, 2004).

3. Métabolisme du magnésium

Le corps renferme 20 à 30 g de magnésium, dont (60%) se trouve dans les os, sous la forme de phosphates ou de carbonates (tableau 09), il entre aussi dans la composition de l'émail dentaire, ceux-ci servent de réserve pour fournir aux cellules le magnésium nécessaire en cas de besoin. Les muscles contiennent aussi du magnésium (28%), le reste est réparti dans l'ensemble du corps, surtout dans le système nerveux et les organes-clés pour le métabolisme : cœur, foie, tube digestif, reins, glandes endocrines, système lymphatique. Le sérum ne renferme qu' 1 à 3 mg de magnésium pour 100 ml, où ce minéral circule surtout sous la forme d'ions. Le reste est lié à des protéines ou chélate par du phosphate du citrate ou d'autres substances (Jahnen-Dechent *et al.*, 2012).

Tableau(09) : Répartition du Magnésium dans l'organisme (Blanchard, 2013)

Organe	Pourcentage
Squelette	(50 à 60)%
Muscles squelettiques	environ 20%
Autres cellules	environ 20%
Espaces extracellulaires	environ 1%

4. Apports alimentaires et absorption intestinale du magnésium

Présent dans approximativement tous les types d'aliments, le magnésium est particulièrement abondant dans les légumes verts, puisqu'il rentre dans la composition de la chlorophylle. L'apport moyen de magnésium par l'alimentation est de 12 à 15 mmol (de 300 à 350 mg) par jour, dont (30 à 50) % sont absorbés en fonction du contenu en magnésium de la diète et des besoins de l'organisme(Blanchard, 2013) et qui peut être augmentée à 80% en cas de déficit important (De Baaij *et al.*, 2015). Elle a lieu majoritairement au niveau de l'intestin grêle, essentiellement au niveau de l'iléon et du jéjunum mais aussi dans une moindre mesure au niveau du côlon. Le reste du magnésium sera éliminé dans les selles. Le magnésium va être

absorbé dans un intervalle de 2 à 8 heures (Eder, 2009). Lors d'un apport de 300 mg de magnésium par l'alimentation, 130 mg pourront par exemple être absorbés (Gröber *et al.*, 2015). L'absorption intestinale du magnésium résulte de deux flux inverses : un flux de facilité d'absorption transcellulaire (40 % des apports) et un flux de sécrétion passif paracellulaire (8 % des apports) (Blanchard, 2013).

L'absorption se fait selon deux mécanismes différents:

- Dans le jéjunum (où les concentrations en Mg sont élevées au cours du processus digestion-absorption), l'absorption se fait par transfert passif par voie paracellulaire ou intercellulaire selon le gradient électrochimique de la lumière intestinale vers le plasma. Elle a lieu essentiellement au niveau des cryptes. L'absorption augmente proportionnellement avec l'augmentation des apports alimentaires de Mg (Badran *et al.*, 2009).

- Dans l'iléon (où les concentrations en Mg sont relativement diminuées), l'absorption se fait par voie transcellulaire par diffusion facilitée dépendant d'énergie. Ce processus est saturable à des concentrations de Mg relativement faibles de 9mmol/L. Cette voie est médiée par un transporteur spécifique qui est saturé pour de faibles concentrations de Mg (Badran *et al.*, 2009).

En effet, elle dépend d'une protéine kinase canal : TRPM6. Ce transporteur est défectueux dans le cas d'hypomagnésémie congénitale (Montaigne *et al.*, 2004).

L'absorption du magnésium alimentaire est affectée par plusieurs facteurs, certains vont influencer cette absorption qui va dépendre du taux en magnésium de l'individu et de l'apport à travers l'alimentation. Un régime riche en protéines, la vitamine B6, l'acidité gastrique, la sécrétion d'hormone parathyroïdienne et l'hormone de croissance ou encore la présence de vitamine D sont des éléments favorisant l'absorption. En revanche, l'alcool, le calcium, de phosphates, d'acide oxalique (épinards, rhubarbe), un repas riche en graisses vont plutôt avoir un impact négatif (Blaine *et al.*, 2015).

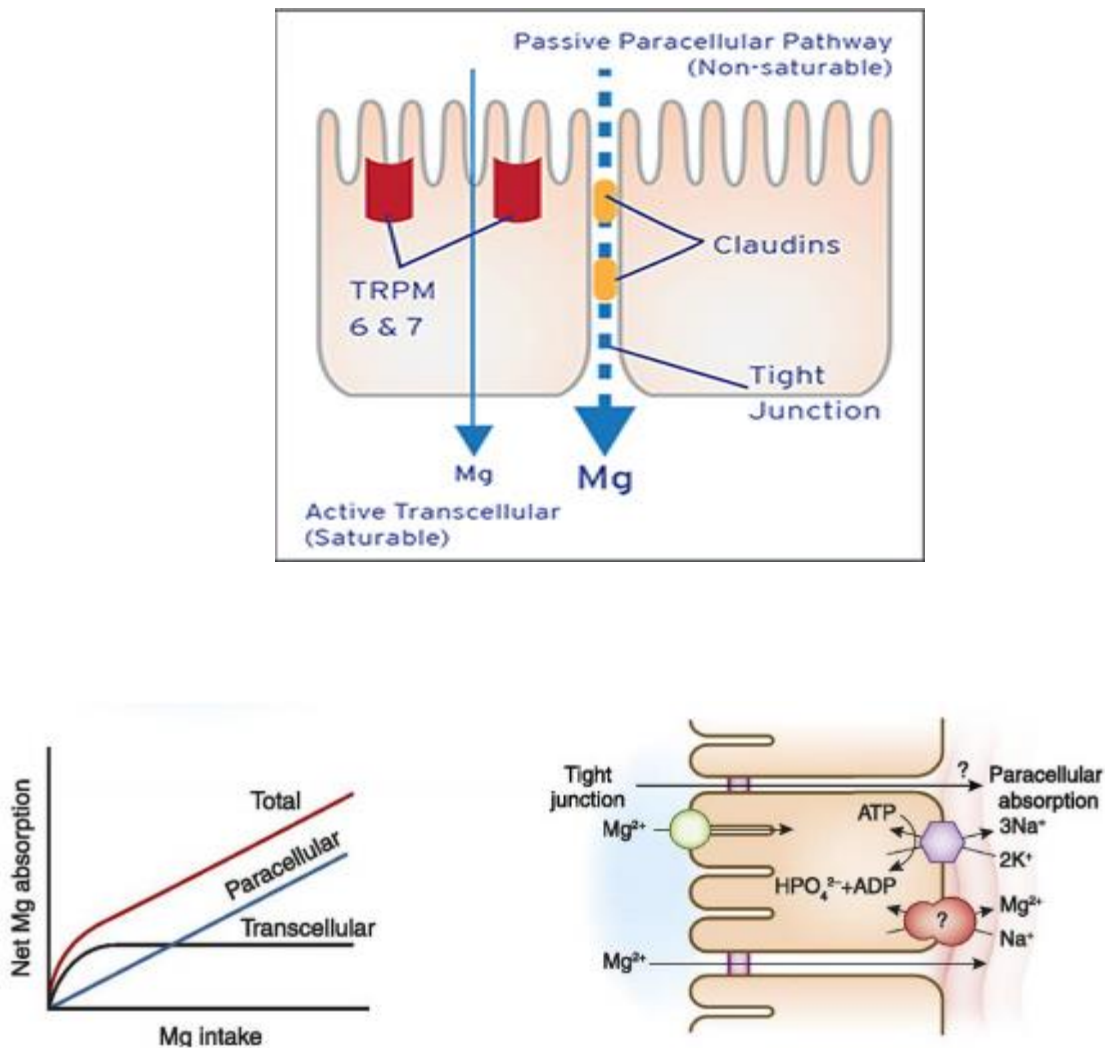


Figure (09) : Voies d'absorption du magnésium (Blaine *et al.*, 2015)

5. L'élimination du magnésium

La régulation de l'élimination du magnésium est importante. Selon l'état de carence de l'individu, l'excrétion peut varier de 0,5 à 70 % (Jahnen-Dechent *et al.*, 2012). Le rein joue un rôle essentiel dans l'homéostasie magnésienne, 2400 mg de magnésium sont filtrés par 24h dont seulement 5% sont excrétés dans les urines (Badran *et al.*, 2009).

Deux mécanismes ont lieu au niveau du rein : la filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire. Environ 70 % du Mg plasmatique est filtré au niveau du glomérule et 95% de ce magnésium filtré va ensuite être réabsorbé (Badran *et al.*, 2009). 10% à 15 % du magnésium filtré est réabsorbé au niveau du tubule proximal, environ 60 % à 70% est réabsorbé au niveau de la branche ascendante de l'anse de

Henlé et 10 à 15 % est réabsorbé par le tube distal. Celui-ci est le dernier segment du néphron capable de transporter cet ion. Son rôle est donc déterminant dans la quantité de magnésium qui sera excrété dans l'urine ; ses réponses aux variations de magnésémie et de charge urinaire sont rapides et fines (Montaigne *et al.*, 2004). Face à un manque en magnésium, le rein diminue la fraction excrétée jusqu'à moins de 0.5% (12mg/j) et la réabsorption est augmentée (Badran *et al.*, 2009).

6. Rôles biologiques

Le magnésium, minéral ubiquitaire, est impliqué dans de nombreux processus biologiques. Son rôle est prépondérant au sein de l'organisme dans sa globalité et aussi au sein de la cellule elle-même. De nombreuses études indiquent que le magnésium intervient dans plus de 300 réactions enzymatiques. Des études récentes ont estimé qu'il était cofacteur de 600 enzymes. Celles dont les substrats possèdent un groupement phosphate sont activées par le magnésium. Celui-ci intervient dans la synthèse des acides aminés et la formation des protéines. Il permet également la synthèse de l'AMP cyclique, un second messenger intracellulaire, à partir de l'adénylatecyclase et intervient dans la phosphorylation oxydative (De Baaij *et al.*, 2015).

6-1- Magnésium et système nerveux

Le magnésium est impliqué dans la régulation de l'activité nerveuse chez l'homme. Les différentes relations entre le magnésium et le système nerveux sont liées aux propriétés biochimiques du magnésium (Berthelot, 2004). C'est de son action anticalcique, le magnésium extracellulaire inhibe le système excitation-sécrétion. En règle générale, l'arrivée du potentiel d'action à l'extrémité présynaptique de la fibre nerveuse entraîne une entrée de calcium qui permet la sortie du neurotransmetteur par exocytose. Cependant, une augmentation du magnésium extracellulaire vient freiner l'entrée du calcium. Les récepteurs N-méthyl-D-aspartate jouent un rôle dans la transmission synaptique excitatrice et sont étroitement liés au magnésium qui a un effet inhibiteur sur ces récepteurs car il occupe l'entrée du port (De Baaij *et al.*, 2015).

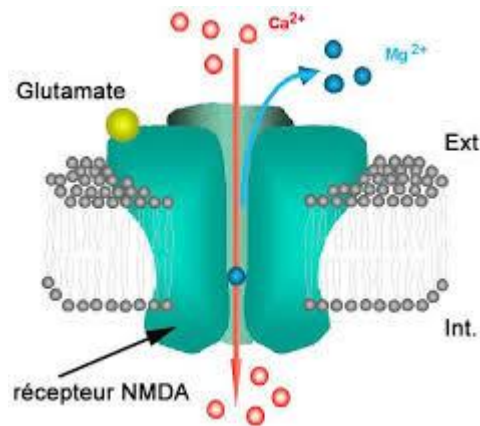


Figure (10) : Le récepteur N-méthyl-D-aspartate (Abbasi *et al.*, 2012)

Lors d'un déficit en magnésium, les fonctions inhibitrices ne sont plus pleinement assurées. Les récepteurs ne vont plus être entièrement bloqués, les récepteurs NMDA deviennent hyperexcitables et les canaux peuvent s'ouvrir plus facilement (De Baaij *et al.*, 2015).

Des études expérimentales chez le rat ont démontré que la carence en magnésium est responsable de perturbations neurologiques et notamment d'une hyperexcitabilité. A contrario, une hypermagnésémie induit une hypoexcitabilité. Par conséquent, il a été démontré *in vitro* qu'une augmentation du magnésium extracellulaire inhibe la libération des neuromédiateurs, tels que la noradrénaline, la dopamine ou l'acétylcholine (Berthelot, 2004).

PARTIE PRATIQUE

«Tout est poison, rien
n'est poison, seule la dose
fait le poison » Paracelse,
alchimiste et médecin
SUIS

CHAPITRE

IV

MATERIEL

ET

METHODES

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Le matériel biologique que nous avons choisi dans cette étude est le rat Wistar (*Rattus norvegicus*). Quarante-huit rats mâles de souche Wistar, provenant de l'institut « LUIS PASTEUR » centre d'élevage Kouba à Alger. A leur arrivé, les rats pesés 200 ± 50 g et sont hébergé dans des cages translucides en polyéthylène au niveau de l'animalerie du département de biologie (université Badji Mokhtar Anna-ba), les bases des cages sont couvert de copeaux de bois et sont nettoyés régulièrement chaque deux jours. Dans des conditions optimums, les animaux sont placés dans une salle ventilée, à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit (jour entre 12 et 12h), et ils ont accès libre à la nourriture et à des biberons rempli d'eau de robinet, l'aliment présenté au rats provenant de l'ONAB (office national d'alimentation de bétails) de Béjaia (tableau10), Afin d'éviter tout genre de stress (voyage, changement de place ...etc.), les animaux sont laissé à adapté pendant (15) jours.

Tableau (10) : Composition de l'alimentation (office national d'alimentation de bétails) de Béjaia.

Composition	Quantité (%)
Protéines	14,5
Lipides	7,5
Glucides	55,8
Cellulose	5,4
Humidité	11
Matiéremirale	9,5
Energie métabolisable (KJ/g)	14,60

1.2. Matériel chimique

Les produits chimiques utilisés au cours cette étude sont :

- Le chlorure de Cadmium (CdCl_2) (AcrosOrganics, New Jersey USA)
- Le chlorure de Zinc (Zn) (ZnCl_2) (AcrosOrganics, New Jersey USA)
- Le chlorure de Magnésium (Mg) (MgCl_2) (AcrosOrganics, New Jersey USA)
- L'eau distillé - L'éthanol 70- Formaldéhyde 10%

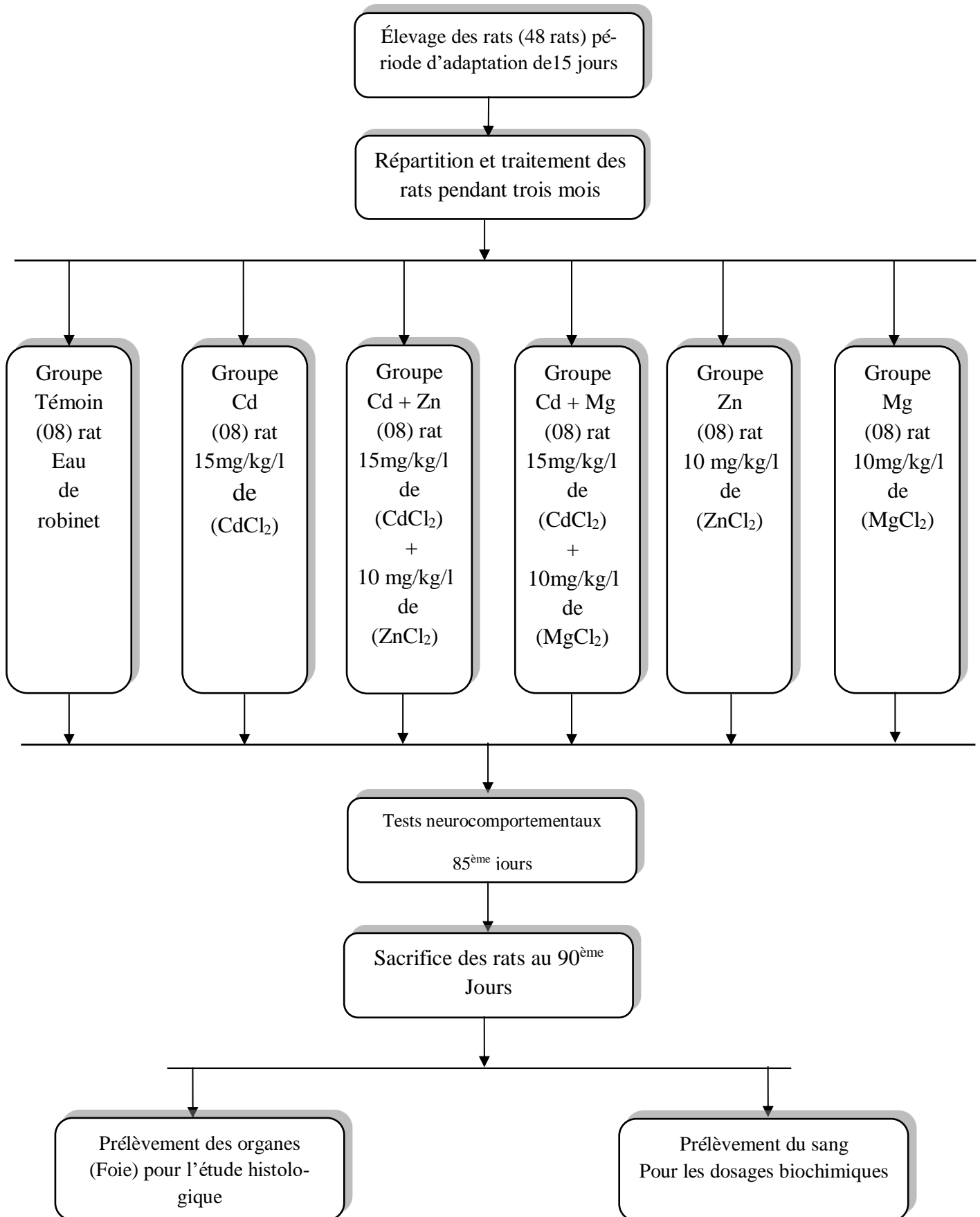
2. Protocole expérimental

Après une période d'adaptation de 15 jours, les Quarante-huit rats regroupés aléatoirement en (06) groupes, huit rats dans chaque groupe et traités comme suit:

Groupes	Groupe (1) Témoin	Groupe (2) Cd	Groupe (3) Cd + Zn	Groupe (4) Cd + Mg	Groupe (5) Zn	Groupe (6) Mg
Traitement	Eau de robinet	15mg/kg/L de(CdCl ₂)	15mg/kg/L de (CdCl ₂) + 10 mg/kg/L de (ZnCl ₂)	15mg/kg/L de(CdCl ₂) + 10mg/kg/L de (MgCl ₂)	10 mg/kg/L de (ZnCl ₂)	10 mg/kg/L de (MgCl ₂)

Le traitement a duré 90 jours et par voie orale. Les doses de Cd, Zn et Mg ont été choisies en fonction des données de la littérature (Alvarez *et al.*, 2004; Omar *et al.*, 2016; Soltani *et al.*, 2005).

Pendant la période de traitement, on a pu suivre le poids hebdomadaire et l'état sanitaire des rats (transformation morphologique, perte de poils, comportement).

**Figure (11):Protocole expérimental**

3. Tests neurocomportementaux

Au jour 85^{ème} (j 85), à la fin du traitement, les rats ont subi différents tests neurocomportementaux afin de voir l'état anxieux et dépressif.

3.1. Le labyrinthe en croix surélevé (Elevated plus maze)

Ce test permet de mesurer le degré d'anxiété d'un animal selon la peur naturelle pour les espaces ouverts et en hauteur. Le test exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces fermés aux espaces ouverts.

Ce modèle a été initialement décrit par Pellow et al. (1985) chez le rat. Le dispositif est en forme de « plus » constitué de quatre bras de 50cm de longueur et de 10cm de largeur, deux bras ouverts et l'autre fermé par des parois de plexiglas transparentes verticales de 45cm de hauteur et une zone centrale, le tout surélevé de 50cm au-dessus du sol. On met le rat au centre de la croix face à un bras fermé, le comportement de l'animal dans le dispositif est filmé à l'aide d'une caméra vidéo pendant 5 minutes. Nombre d'entrées et le temps passé dans chaque compartiment sont mesurés. Le dispositif est nettoyé avant d'utiliser avec d'autre rat (Pellow *et al.*, 1985).



Figure (12): Le labyrinthe en croix surélevé (Elevated Plus maze)

3.2. Test de champ ouvert (Open Field)

Grâce à ce test, qui a été inventé par Walsh et Cummins (1976), on mesure les déplacements d'un rat dans une situation libre, pendant 5 minutes. On détermine ainsi le comportement moteur ainsi que les capacités locomotrices, exploratrice et anxiété de l'animal. Le rat est placé au centre de dispositif pour l'explorer pendant 5 minutes avant le test final, ainsi le test dure 5 minutes. Avant chaque nouvelle utilisation, le dispositif doit être nettoyé par l'éthanol à 70 % (Walsh *et al.*, 1976).

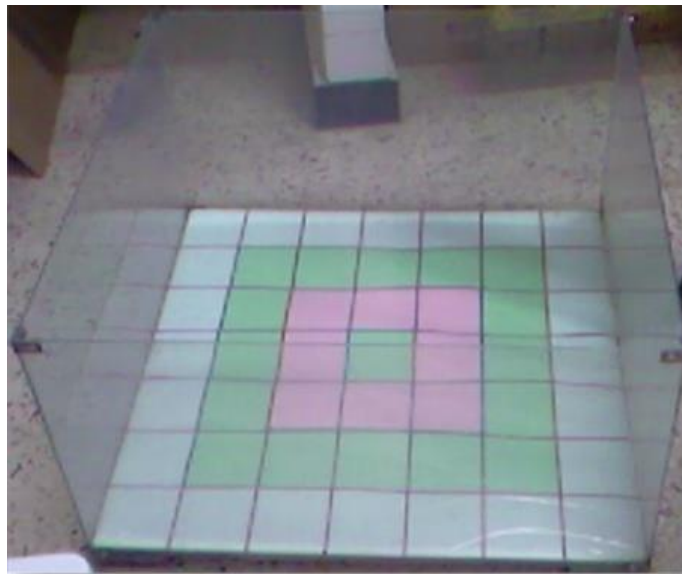


Figure (13): Test de champ ouvert (Open Field)

4. Sacrifice des rats

Au jour (j 90^{ème}) après un jeûne de 12 heures, les rats sont sacrifiés le matin (décapitation) sans anesthésie. Le sang collecté par un entonnoir dans des tubes secs et héparinés, les tubes secs centrifugés à 3000 tours/10 minutes, le surnatant du plasma conservé pour l'utilisation des dosages biochimiques et enzymatique, le sang des tubes héparinés utilisé rapidement pour la glycémie et FNS (Formule de Numération Sanguine).

Après le sacrifice, les rats ont subi une dissection par incision de la paroi abdominale : le foie, les reins et le cerveau sont retirés et immédiatement rincés en solution saline physiologique (NaCl 0,9%) afin de les nettoyer et laver. Puis les organes prélevés sont conservés dans une solution formaldéhyde 10% pour les études histologiques.

5. Dosages biochimiques

5.1. La glycémie : Réalisée selon la fiche technique « Biolabo ».

Principe : Méthode de Trinder

Le glucose est oxydé par la GOD (Glucose oxydase) en acide gluconique et H_2O_2 , ce dernier réagit en présence de POD (péroxydase) avec le chloro-4-phénol et le PAP 4-Amino-antipyrine pour former une quinonéimine rouge.

L'absorbance du complexe coloré est mesurée à 500 nm (Farrance, 1987; Trinder, 1969).

5.2. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée se fait selon la méthode enzymatique et colorimétrique basée sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. Les ions ammonium forment ensuite avec le chlore et le salicylate un complexe coloré bleu-vert. L'intensité de coloration, proportionnelle à la concentration en urée dans le spécimen, est mesurée à 600 nm (Searcy *et al.*, 1967), le kit utilisé est (BIO-LABO).

5.3. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine se fait selon la méthode cinétique.

5.3.1. Intérêt cliniques

Au niveau du métabolisme musculaire, la phosphocréatine et la créatine sont partiellement dégradés en créatinine. Ainsi, la quantité de créatinine produite chaque jour est en fonction de la masse musculaire, poids du corps, âge, sexe, alimentation et exercice. De fait que la créatinine est produit endogène secrété dans les liquides du corps et présent dans le plasma à des taux maintenus dans des limites étroites, la mesure de sa clairance est un bon indicateur du débit de filtration glomérulaire (DFG) (Tietz, 1999a).

5.3.2. Principe

La réaction colorimétrique (réaction de Jaffé) de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement est mesurée à 490 nm. (Fabiny *et al.*, 1971; Labbé *et al.*, 1996)

5.3.3. Réactif

Réactif (01)	Acide picrique	4,0 mmol/L
Réactif (02)	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
Étalon	Créatinine	20 mg/L

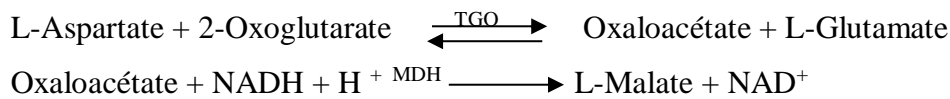
On mélange le réactif (01) et le réactif (02) et l'on agit légèrement pour l'obtenir le réactif de travail (R1+R2).

5.4. Dosage des transaminases (TGO – TGP)

l'aspartateaminotransférase ASAT (TGO) et l'alanine aminotransférase ALAT (TGP), font partie d'un groupes d'enzymes, les aminotransférase ou transférases, qui catalysent la transformation réversible des α - cétonique en acide aminés par transfert de groupes amines.

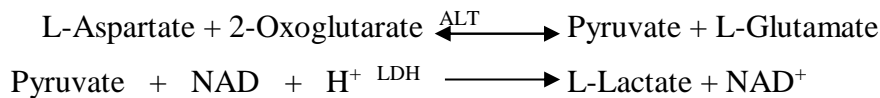
Cette méthode de dosage est développée par Karmali et al (Bergmeyer *et al.*, 1986). Le schéma réactionnel est le suivant :

- TGO



La diminution de l'absorbance proportionnelle à l'activité ASAT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm (Bergmeyer *et al.*, 1986).

- TGP



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺, et proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm (Bergmeyer *et al.*, 1986).

5.5. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

En milieu alcalin, la phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate (Tietz, 1999a) selon la réaction suivante:



La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, suivi par la variation de l'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité PAL dans le spécimen.

5.6. Dosage de la Bilirubine totale et directe

Le dosage de la bilirubine totale et directe se fait selon la méthode DCA (dichloroaniline) basée sur le principe de Rand et Di Pasqua automatisée par Golub et al (Golub, 1964; Rand *et al.*, 1962).

Bilirubine totale

La réaction entre la BT et la dichloroanilinediazotée en présence d'un détergent ou d'un solvant conduit à un composé, l'azobilirubine dont l'absorbance, directement proportionnelle à la concentration en BT dans le spécimen, est mesurée à 550 nm (540-560).

Bilirubine directe

La réaction entre la BD et la dichloroanilinediazotée conduit à la formation d'un composé, l'azobilirubine dont l'absorbance, directement proportionnelle à la concentration en BD dans le spécimen, est mesurée à 550 nm (540-560).

5.7. Dosage de l'albumine

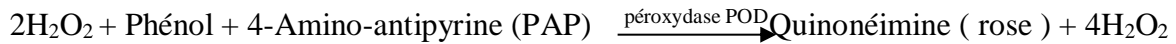
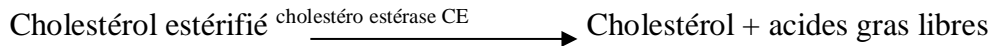
Le dosage de l'albumine est effectué par la méthode colorimétrique (kit Biolabo). En milieu tamponné à pH 4,2 le vert de bromocrésol se combine à l'albumine pour former un complexe coloré dont l'absorbance mesurée à 630 nm (620-640) est proportionnelle à la concentration en albumine dans le spécimen (Doumas *et al.*, 1971).

5.8. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines totales se fait selon la méthode Biuret, c'est une méthode colorimétrique décrite par Gornall et al. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, est mesurée à 550 nm.

5.9. Dosage du cholestérol

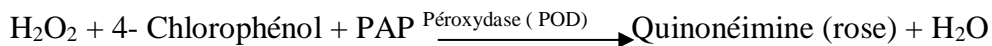
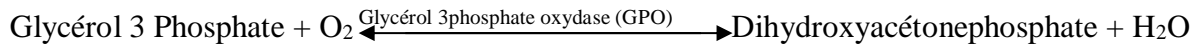
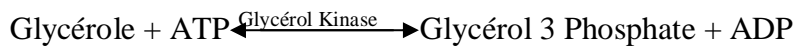
Le dosage du cholestérol associé aux autres dosages de lipides sériques est utile dans le diagnostic de l'hyperlipoprotéïnémie, il peut aussi permettre le diagnostic de maladies hépatiques et thyroïdiennes (Tietz, 1999b). On a utilisé la méthode enzymatique qui est décrite par Allain et al, Selon le schéma réactionnel suivant :



On mesure la quinonéimine produite à 500 nm (Allain, 1974).

5.10. Dosage des triglycérides

La mesure de la concentration en triglycérides sanguins est importante dans le diagnostic et le suivi des hyperlipidémies. Son augmentation peut être d'origine génétique ou secondaire à d'autres désordres métaboliques tels que : le diabète, les hyper et hypothyroïdies, les maladies hépatique, les pancréatites aiguës, et chronique et les néphrose (Tietz, 1999b). On a utilisé la méthode de fossati et principe couplée à une réaction de Trinder selon le schéma réactionnel suivant :



L'absorbance du complexe coloré (quinonéimine), proportionnelle à la concentration en triglycérides dans le spécimen, est mesurée à 500 nm.

6. L'étude histologique du foie

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques humaines (Niha, Annaba). La technique utilisée est celle décrite par (Houlot, 1984) qui comporte les étapes suivantes:

➤ **Fixation** : La fixation des échantillons a été faite dans le Bouin alcoolique.

L'utilisation de ce fixateur a pour avantage de ramollir l'échantillon. Le liquide est préparé à partir :

- D'une solution acide picrique (75%) 45 ml.
- D'acide acétique (5%) 7 ml.
- De formaldéhyde 26 ml.
- Eau distillée 22 ml.

➤ **Déshydratation** : Une fois fixées, les échantillons sont placés dans des bains successifs (48 heures) d'éthanol (70%, 80%, 90% et 100%), ils sont ainsi déshydratés par élimination d'eau dans les tissus. Cette opération permet également de stopper l'action du Bouin.

➤ **Inclusion à la paraffine** : Les prélèvements sont ensuite déposés dans des cassettes (boîtes en plastique avec une ouverture sur le dessus), qui sont plongées dans de la paraffine liquide à 56°C pour inclusion.

Les cassettes sont étiquetées pour permettre leurs identifications avant d'être mises au contact d'une plaque réfrigérée, la paraffine se solidifie alors en quelques secondes, on démoule la cassette pour obtenir un bloc solide prêt pour la coupe.

Des coupes de 3 à 5 µm sont réalisées sur un microtome (Microtome Reichert-Jung) à partir des blocs refroidis. Les coupes ainsi confectionnées sont étalées sur des lames porte-objet, puis dépliées et fixées par une eau gélative chauffée à 40 °C. Elles sont ensuite conservées dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures.

➤ **Coloration** : Après séchage, les lames sont colorées en HE (Hématoxyline-Eosine), coloration standard utilisée en histologie. Cette coloration a été effectuée selon le protocole suivant :

- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillé.
- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux).
- Différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70% + 50 ml HCl), puis les rincer à l'eau de robinet
- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillé + 2 ml d'ammoniaque).
- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).
- Déshydratation rapide dans l'alcool et montage des lames en Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.

Après séchage, les lames peuvent être observées au microscope. Les photos des coupes ont été prises grâce à un microscope couplé à un appareil photo numérique.

7. L'analyse statistique

Pour l'analyse statistique, On a utilisé le logiciel d'analyse statistique Graph Pad Prism statistics software (version 6). Les résultats sont exprimés par la moyenne $\text{mean} \pm \text{ET}$. La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test « t » de Student.

(*) Indique une différence significative comparée au groupe témoin.

(#) Indique une différence significative comparée au groupe intoxiqué (Cd).

CHAPITRE

V

RESULTATS

ET

DISCUSSION

1. Effet du cadmium sur l'évolution pondérale

L'effet de l'intoxication subchronique au cadmium sur l'évolution du poids corporel consiste un bon indicateur de la croissance des rats. Nos résultats montrent que les rats exposés au CdCl_2 présentent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de poids corporel final en comparaison à celle des rats témoins pendant la durée du traitement (90 jours) (Tableau 11). Et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de poids corporelle final chez les rats des groupes (Cd + Zn) et (Cd+Mg) par rapport au groupe (Cd) (Tableau 11). En revanche, le poids du foie chez les rats intoxiqué au CdCl_2 présente une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) en comparaison aux poids de foie des rats témoins qu'ils reçu l'eau de robinet (Tableau 11). Alors, le poids du foie du groupes (Cd+ Zn) et (Cd+ Mg) présent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au poids de foie chez le groupe (Cd) (Tableau 11).

Tableau (11): Poids corporel et poids du foie (g)

Groupes	Poids Initial	Poids final	Foie
Témoin	245±14,35	280±13,44	9,10±0,36
Cd	240±34,12	218±34,31**	12,1±0,08**
Cd+ Zn	236±40,65	260±41,29##	8,90±0,24##
Cd + Mg	234±16,42	252±15,39##	8,87±0,29##
Zn	243±11,47	279±21,56	7,74±0,33
Mg	239±21,67	282±27,11	9,45±0,43

Variation des poids corporel, foie chez les rats Témoin, Cd, Cd+ Zn, Cd + Mg, Zn, Mg pendant un traitement de 90 jours (n=8). Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

2. Bilan hématologiques

Nos résultats de l'étude hématologique après 12 semaines d'expérimentation, montre une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de taux de globules rouges, hémoglobine et hématocrite chez les rats contaminé au CdCl_2 par rapport aux rats témoins qui ont été alimenté uniquement par l'eau de robinet (Figure : 14, 15, 16). Tandis que chez le groupe (Cd+ Zn) qu'il est contaminé par le CdCl_2 et traité par le (ZnCl_2), on observe une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de taux des paramètres hématologique (globules rouges, hémoglobine, hématocrite) en comparant avec le groupe témoin (Figure : 14, 15, 16), chez le groupe (Cd + Mg)

on constate une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) des taux des globules rouges et hémoglobine par rapport au groupes contaminé par CdCl_2 (Figure : 14, 15) et augmentation significative ($p < 0,05$) d'hématocrite on comparaison avec le groupe (Cd) (Figure : 16).

Au niveau des globules blancs, les résultats obtenus, ont également montré une augmentation du taux des globules blancs de manière hautement significative ($p < 0,01$) comparativement au témoin. et une diminution de taux de globules blancs hautement significative et très hautement significative chez les groupes (Cd+Zn), (Cd+Mg) par rapport au groupe Cd.

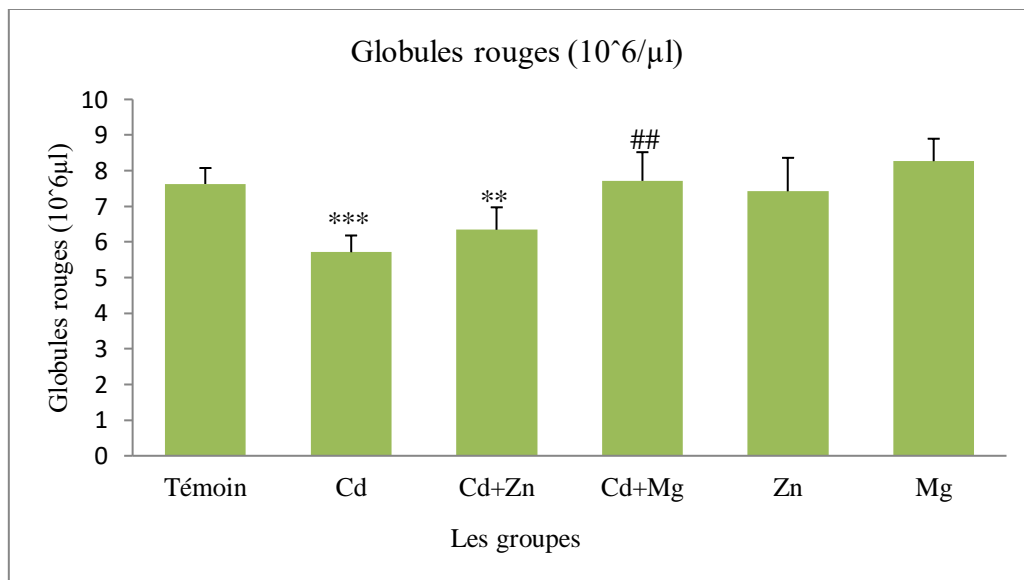


Figure (14): L'effet du chlorure de cadmium sur la teneur des Globules rouges chez les rats témoin, intoxiqués au CdCl_2 , intoxiqués au CdCl_2 et traité à ZnCl_2 et MgCl_2 pendant trois mois de traitement par voie orale.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

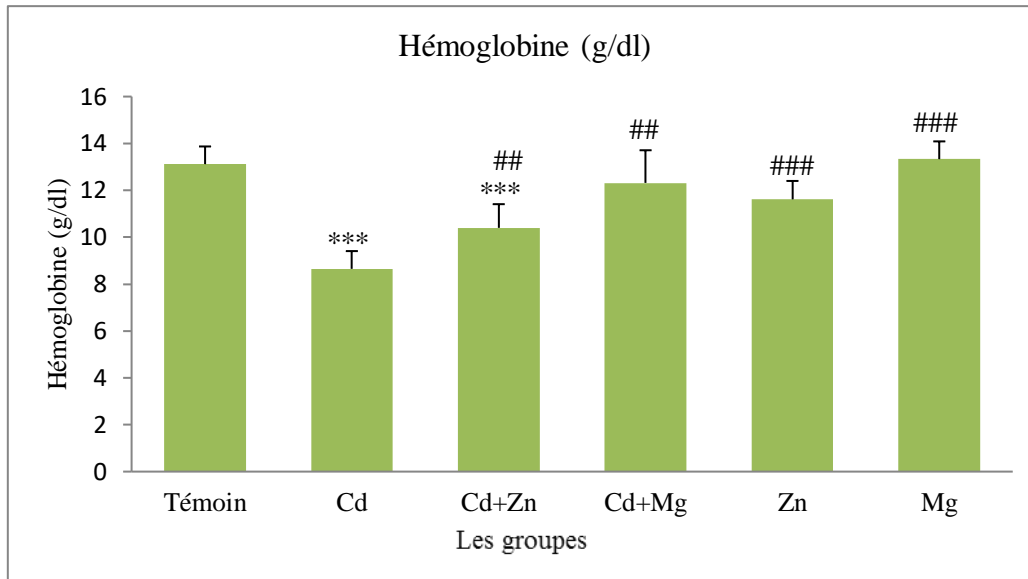


Figure (15): L'effet du chlorure de cadmium sur le taux de l'hémoglobine chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

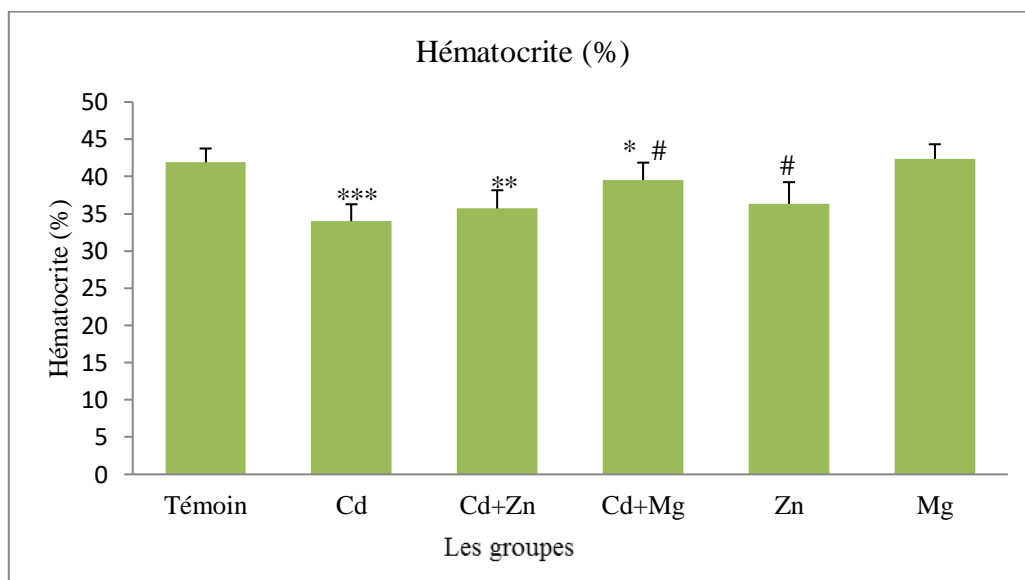


Figure (16): L'effet du chlorure de cadmium sur le taux de l'Hématocrite chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

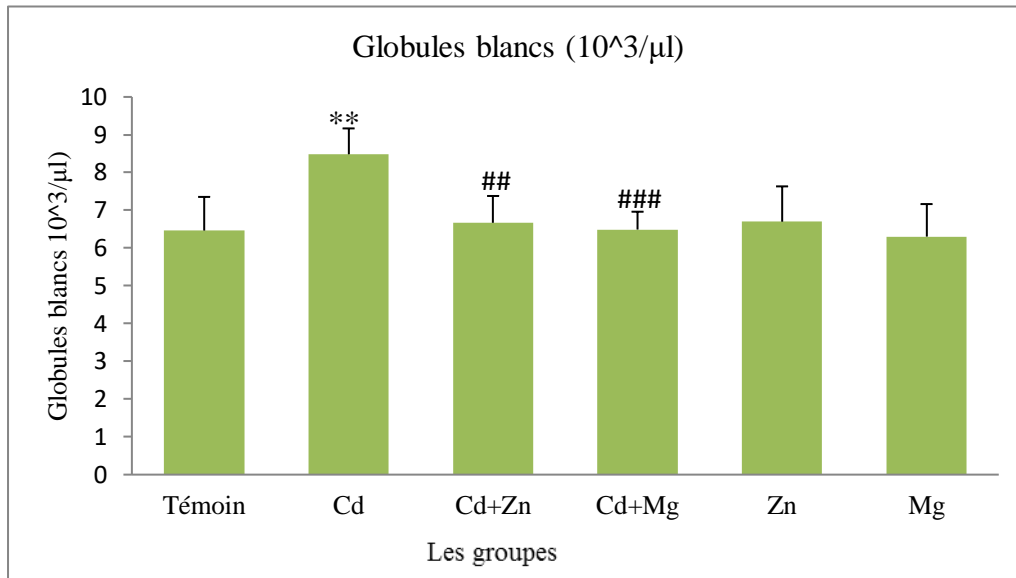


Figure (17): L'effet du chlorure de cadmium sur la teneur des Globules blancs chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl_2 , intoxiqués au CdCl_2 et traité à ZnCl_2 et MgCl_2 pendant trois mois de traitement par voie orale.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

3. Effet sur les paramètres biochimiques

L'effet de l'exposition subchronique au CdCl_2 et le traitement par le (ZnCl_2) et le (MgCl_2) pendant trois mois par voie orale, révèle à des résultats variable des paramètres biochimique.

3.1. Dosage de la glycémie

L'effet de l'exposition subchronique au CdCl_2 pendant trois mois sur le taux de glucose sanguin montre une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de glycémie chez les rats contaminé par le Cd en comparaison à celle des témoins (Figure : 17). Cependant, les groupes des rats traité de ZnCl_2 et MgCl_2 permet d'enregistré une baisse de taux de glycémie par rapport au groupe contaminé par le CdCl_2 (Figure : 17).

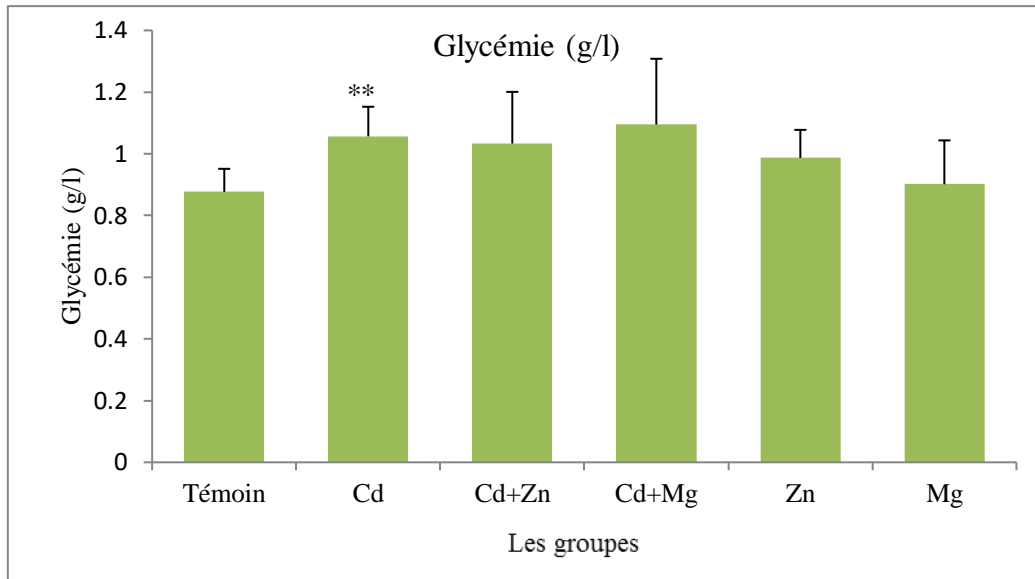


Figure (18): L'effet du chlorure de cadmium sur la Glycémie sanguin chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

3.2. La fonction rénale

L'analyse biochimique des paramètres rénaux après trois mois d'expérimentation montre une élévation de taux de la créatinine et l'urée chez les rats de groupe contaminé au CdCl₂ comparés aux rats témoins qu'ils ont reçu que l'eau de robinet (Figure : 18, 19).

En même temps, les rats des groupes (Cd+ Zn) et (Cd + Mg) présentent une baisse de taux de l'urée et de la créatinine en comparaison au groupe contaminé au CdCl₂ (Figure : 18, 19).

En revanche on a enregistré une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de taux des protéines totales chez les rats du groupe (Cd) par rapport aux rats témoins (figure 20).

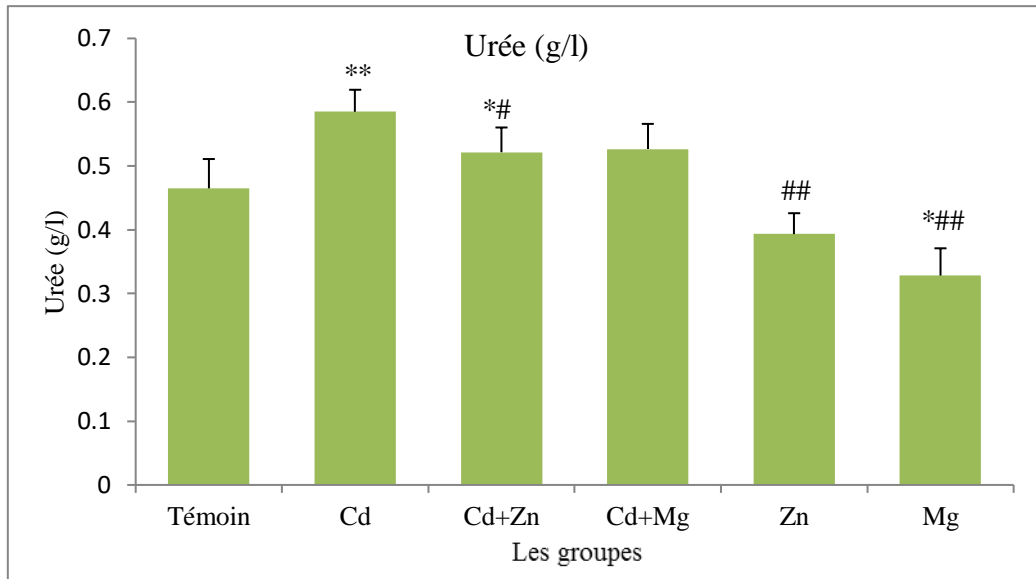


Figure (19): Effet du chlorure de cadmium sur la teneur sanguin en urée chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

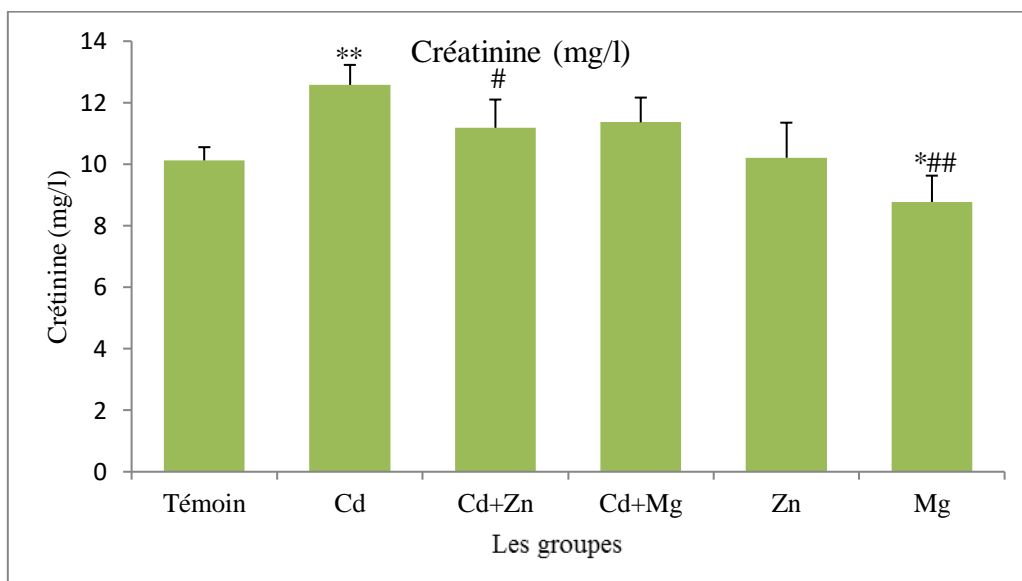


Figure (20): L'effet du chlorure de cadmium sur la teneur en Créatinine chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

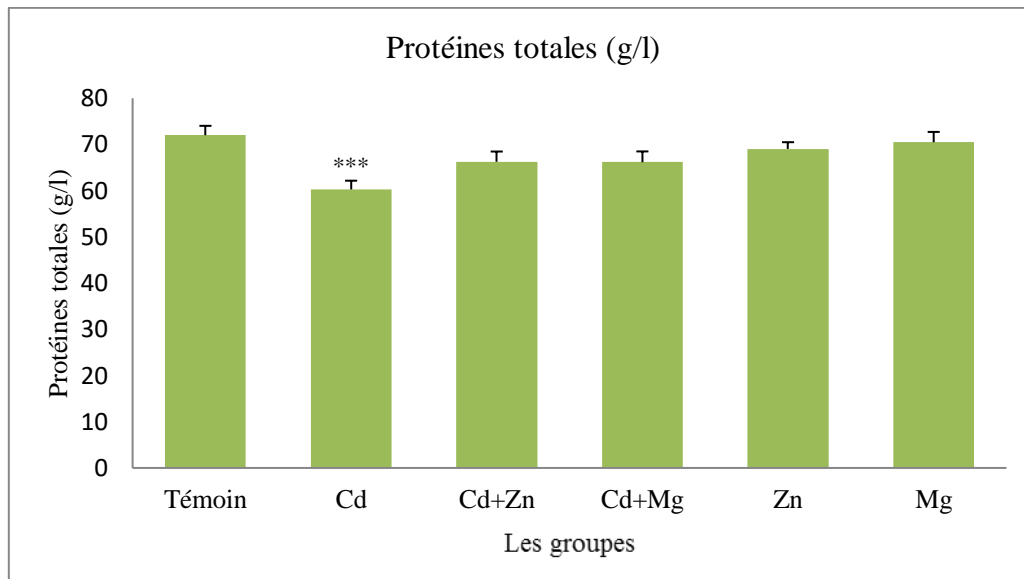


Figure (21): Effet du chlorure de cadmium sur la teneur en Protéines totales chez le rat témoin, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0,05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0,05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

3.3. Fonction hépatique

Les résultats obtenus de certains indicateurs biologiques de la fonction hépatique après trois mois d'expérimentation montrent une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de la bilirubine totale chez les groupes (Cd) et (Cd+Zn) par rapport au groupe témoin (Figure : 21). Aussi on a enregistré une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de taux de la bilirubine directe chez le groupe (Cd) par rapport au groupe témoin (Figure : 22). Tandis que le résultat de la bilirubine indirect montre une élévation significative ($p < 0,05$) chez le groupe (Cd) par rapport au groupe témoin (Figure : 23), et une diminution très hautement significative ($p < 0,01$) chez le groupe (Cd+Mg) par rapport au groupes (Cd)(Figure : 23). Alors que le taux de l'albumine sanguin marque une augmentation significative ($p < 0,05$) chez les groupes (Cd) et (Cd+Zn) par rapport au groupe témoin (Figure : 24), et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) chez le groupe (Cd+Mg) on comparaison au groupe témoin (Figure: 24).

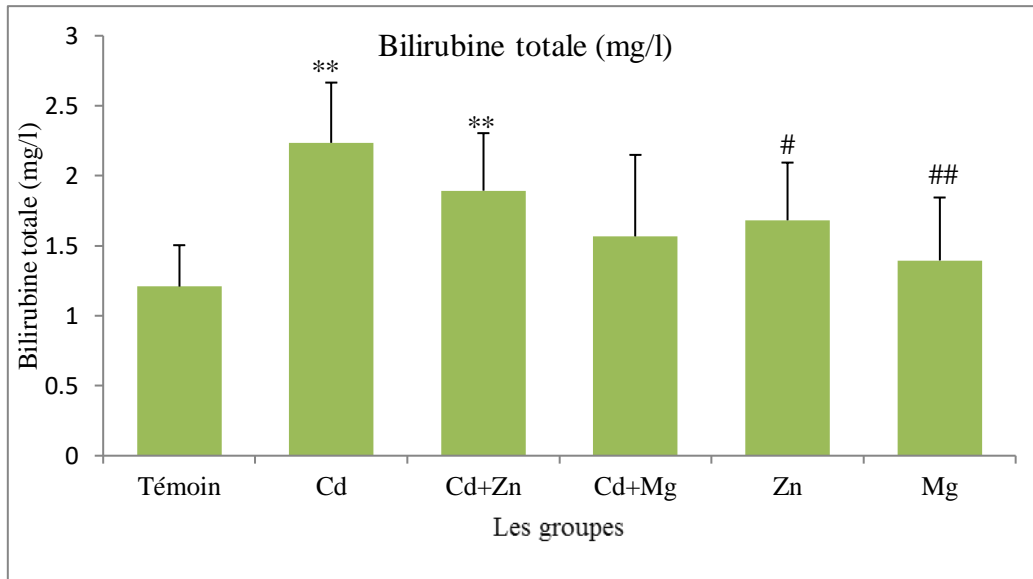


Figure (22): L'effet du chlorure de cadmium sur la Bilirubine totale chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

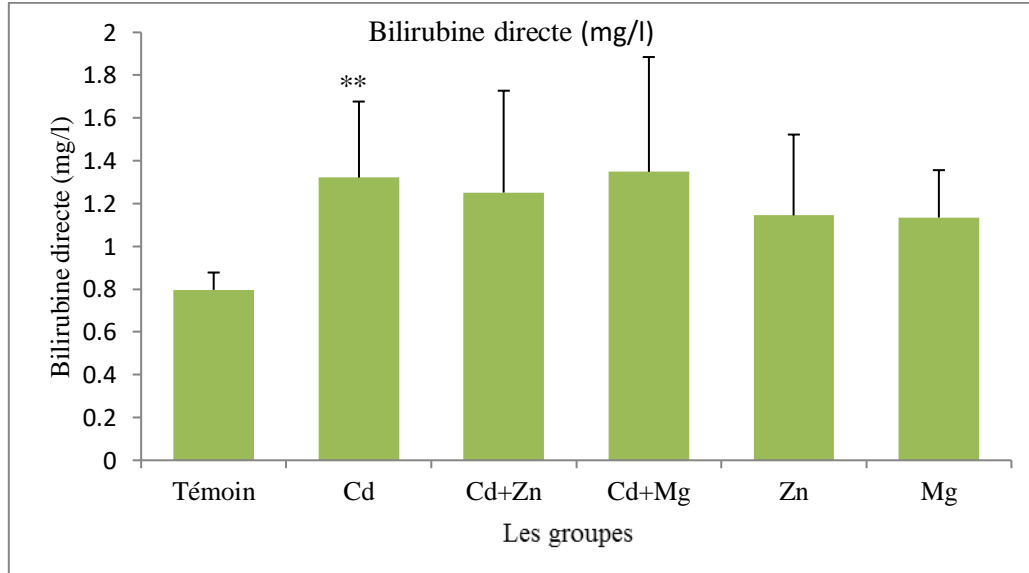


Figure (23): L'effet du chlorure de cadmium Bilirubine Directe chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

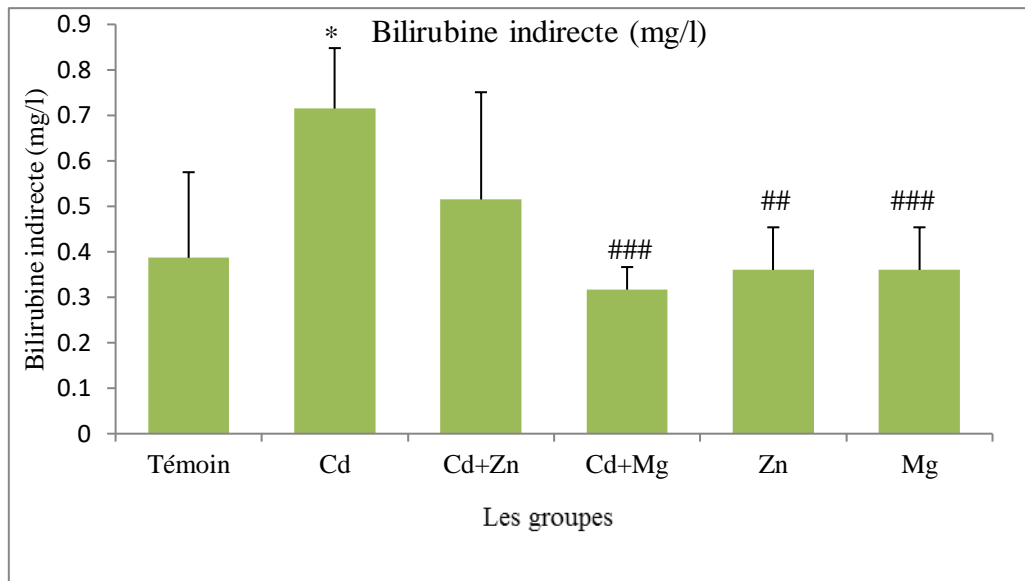


Figure (24): L'effet du chlorure de cadmium sur la Bilirubine indirecte chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

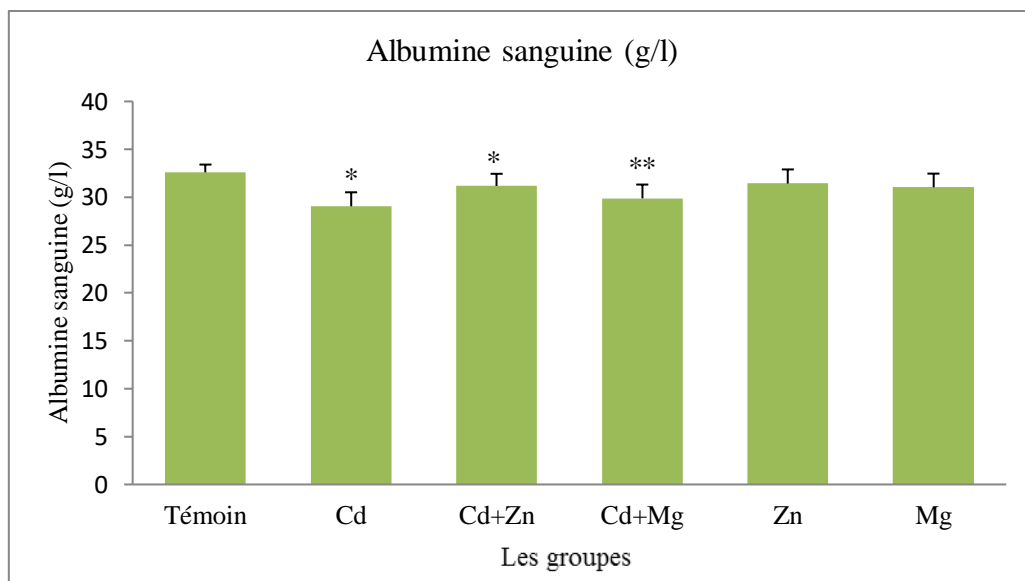


Figure (25): Effet du chlorure de cadmium sur la teneur en 'Albumine sanguine chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

3.4. Le profil lipidiques

L'exposition subchronique au CdCl_2 pendant 12 semaines par voie orale, induit une augmentation significative ($p < 0,05$) de taux de cholestérol et une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de taux de triglycéride comparativement au groupe témoin (Figure : 25, 26).

En revanche, les rats contaminé par le Cd et traités par le Zn et le Mg présentent une diminution de taux de cholestérol et de triglycéride par rapport au rats contaminé par le Cd (Figure : 25, 26).

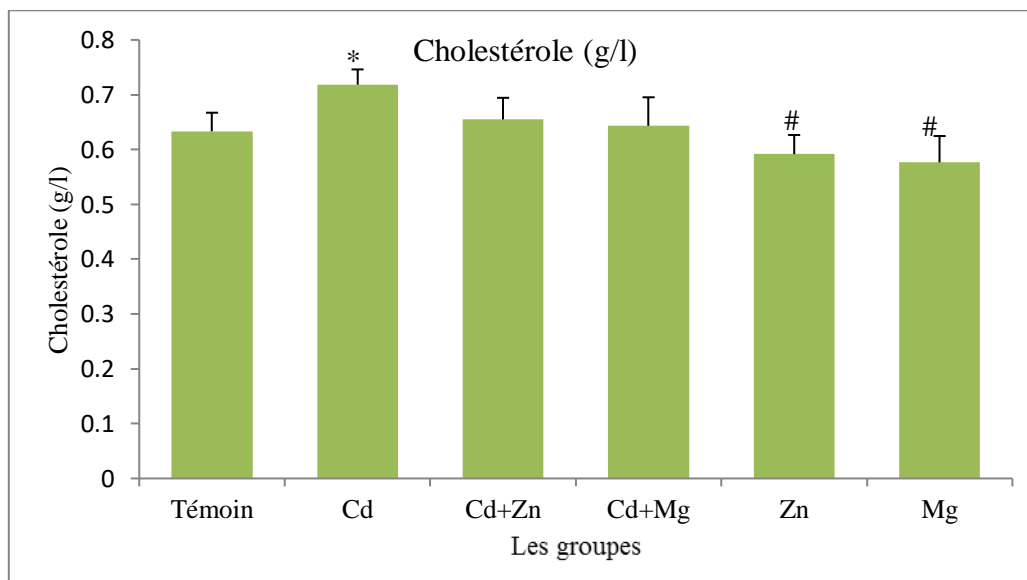


Figure (26): l'effet du chlorure de cadmium sur le Cholestérol chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl_2 , intoxiqués au CdCl_2 et traité à ZnCl_2 et MgCl_2 pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

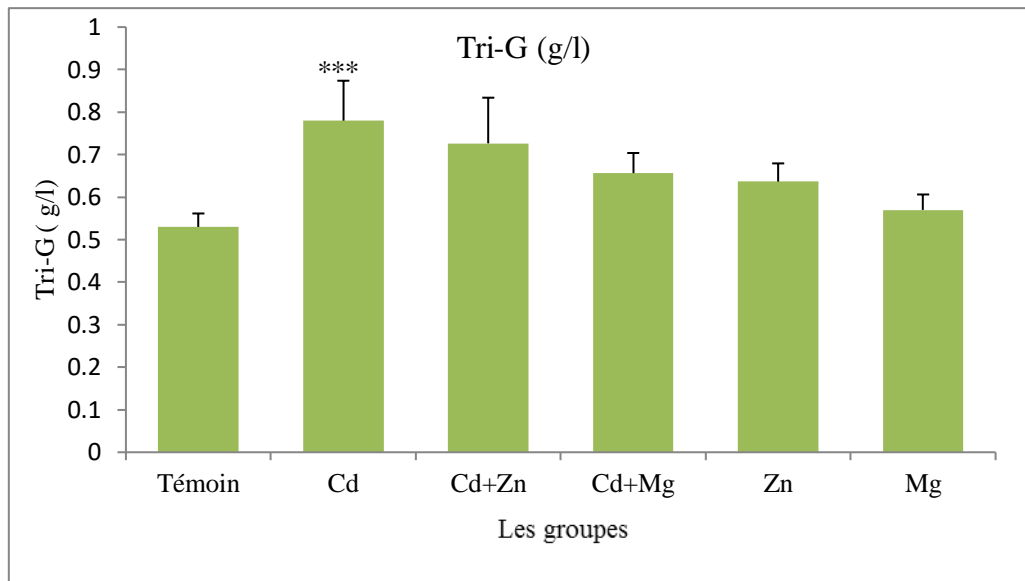


Figure (27): L'effet du chlorure de cadmium sur les Triglycérides chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

3.5. Effet sur l'activité enzymatique (TGO, TGP, PAL)

Les résultats de l'activité enzymatique après trois mois de d'expérimentation des rats par voie orale, s'affichent :

Les rats contaminés par CdCl₂ montrent une augmentation significative ($p < 0,05$) de taux de TGO par rapport au groupe témoin (Figure : 27), et une diminution significative ($p < 0,05$) de taux de TGO chez le groupe (Cd+Mg) par rapport au groupes (Cd) (Figure : 27). On a enregistré aussi une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de taux de TGO chez les rats du groupe (Mg) par rapport au taux de TGO des rats du groupe (Cd) (Figure : 27).

Tandis qu'on a enregistré une augmentation significative ($p < 0,05$) de taux d'aspartateaminotransférase (TGP) chez le groupe (Cd) par rapport au groupe témoin (Figure : 28).

L'activité d'enzyme phosphatase alcaline montre une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) chez les groupes (Cd) + (Cd+Zn) + (Cd+Mg) par rapport au groupe témoin (Figure : 29), et une diminution significative ($p < 0,05$) chez le groupe (Cd+Mg) par rapport au groupe (Cd) (Figure : 29).

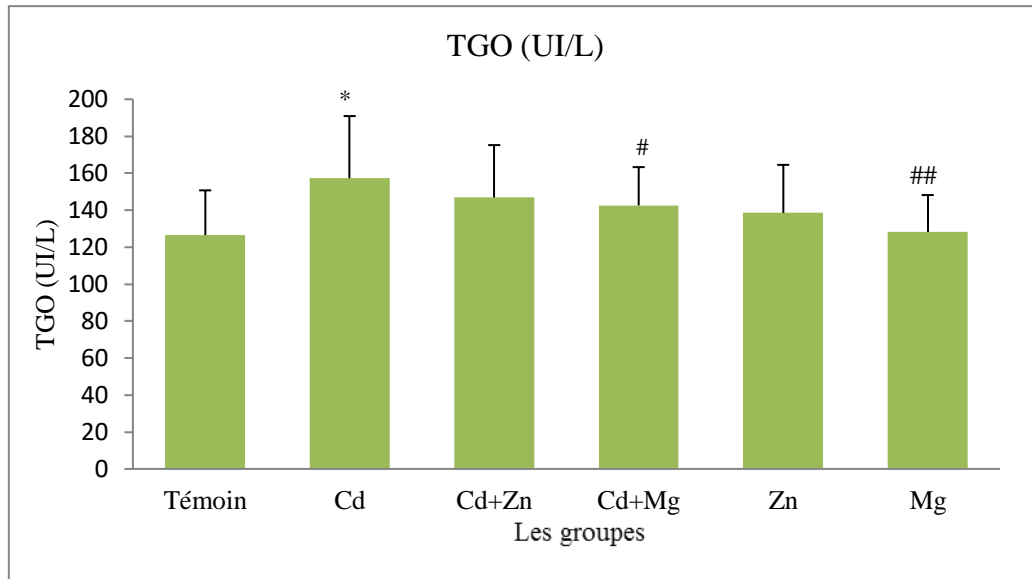


Figure (28): L'effet du chlorure de cadmium sur l'activité d'enzyme aspartateamino-transférase (TGO) chez les rats témoin, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

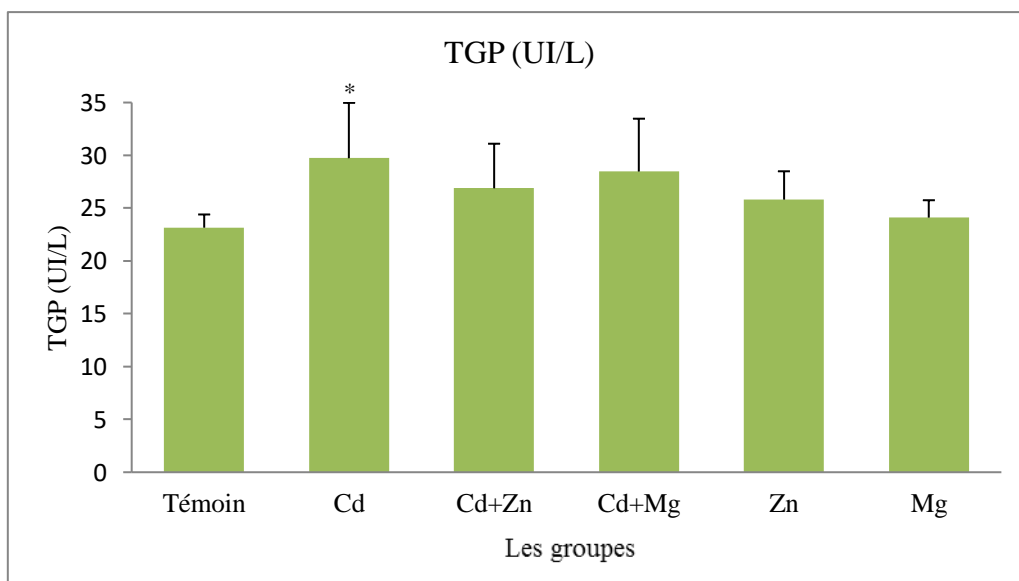


Figure (29): L'effet du chlorure de cadmium sur l'activité d'enzyme alanine amino-transférase (TGP) chez les rats témoin, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

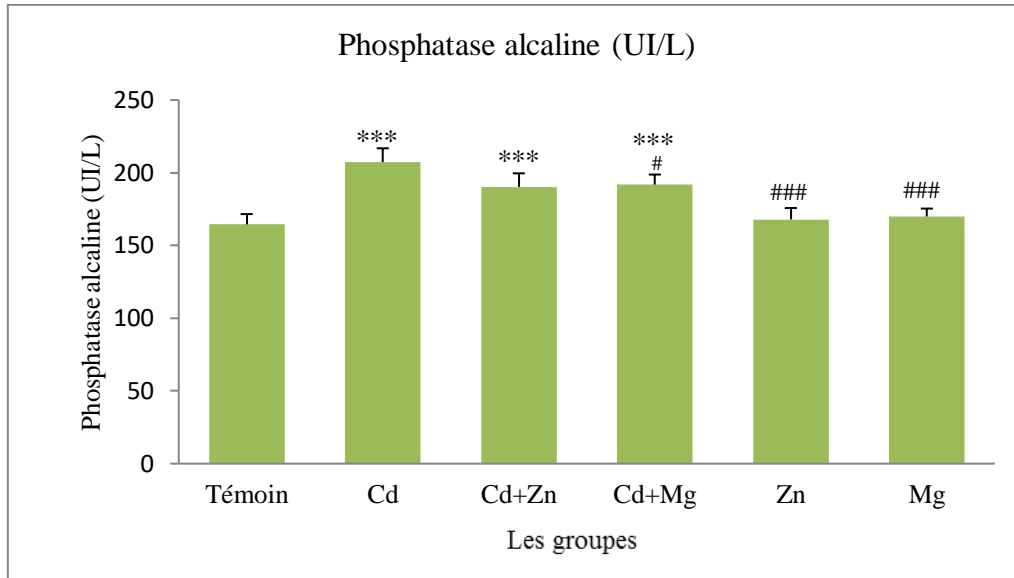


Figure (30) : L'effet du chlorure de cadmium sur l'activité d'enzyme phosphatase alcaline (UI /L) chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

4. L'effet du traitement sur les fonctions neurocomportementales

4.1. Le labyrinthe en croix surélevé

Couramment utilisé pour l'étude des comportements liés à l'anxiété, cette série d'expérimentations consiste à la mesure du nombre d'entrées et la durée de séjour dans chacun des deux compartiments. L'analyse statistique révèle que durant le teste du labyrinthe en croix surélevé le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras fermés est significativement augmenté ($p < 0.001$) chez le groupe contaminé au Cd par rapport au groupe témoin. Au contraire, on a enregistré une diminution très hautement significative de nombre d'entré et du temps passé dans les bras ouverts chez le groupe contaminé au Cd par rapport au groupe témoin (figures 31 et 32).

En revanche, les groupes contaminés au cadmium et traité respectivement par le zinc et le magnésium montrent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe du Zn et significative chez le groupe du magnésium ($p < 0.05$).

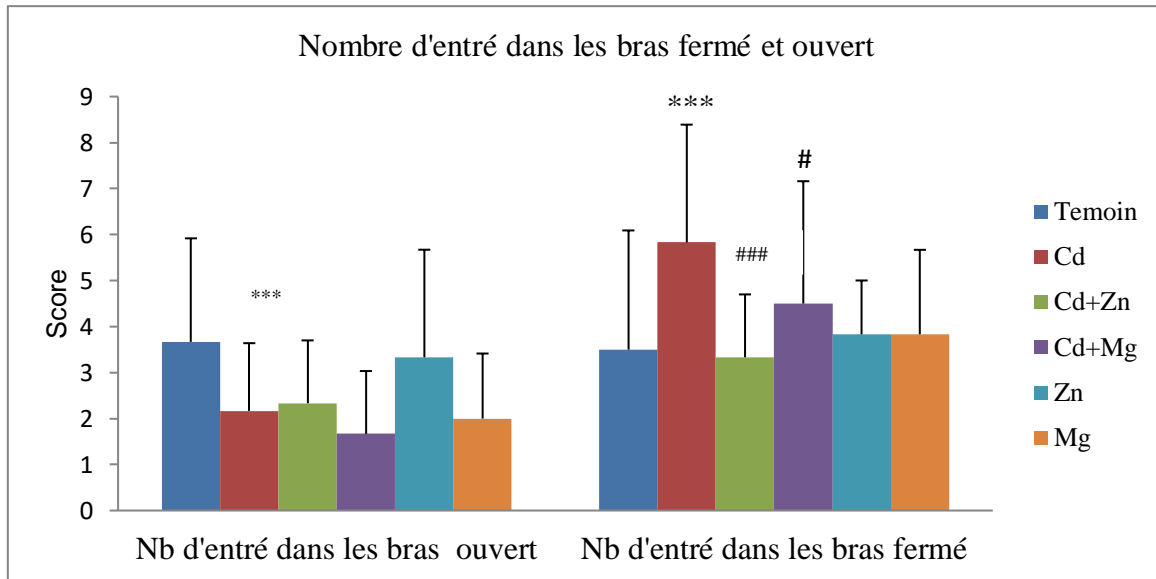


Figure (31): Nombres d'entrée dans les bras fermés et ouverts durant le test de labyrinthe en croix surélevé chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl_2 , intoxiqués au CdCl_2 et traité à ZnCl_2 et MgCl_2 pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

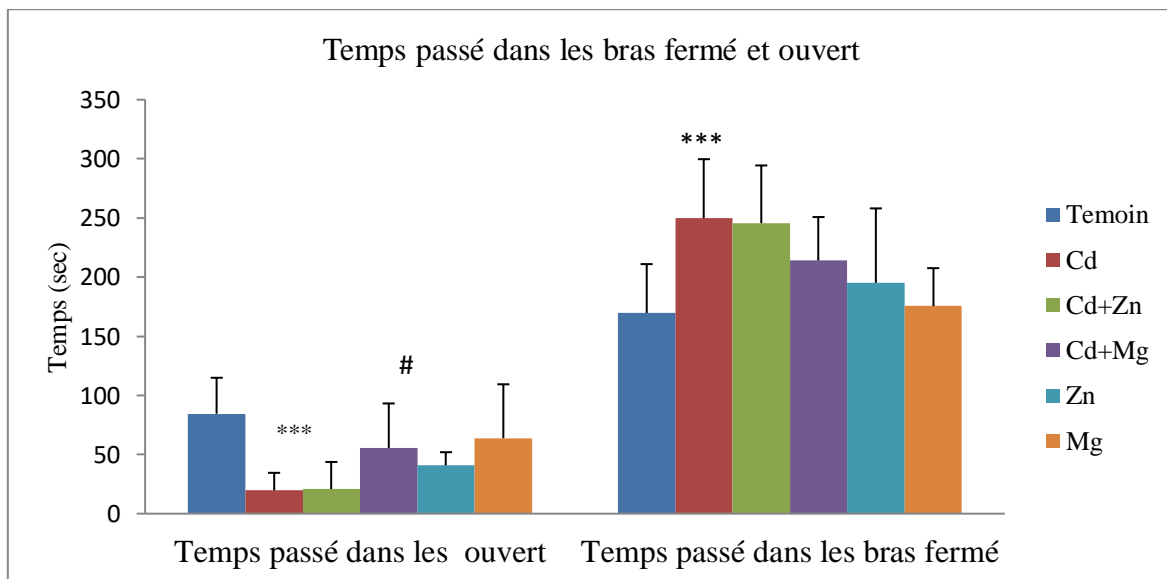


Figure (32): Temps passé dans les bras fermés et ouverts durant le test de labyrinthe en croix surélevé chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl_2 , intoxiqués au CdCl_2 et traité à ZnCl_2 et MgCl_2 pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

4.2. Champ ouvert (Open Field)

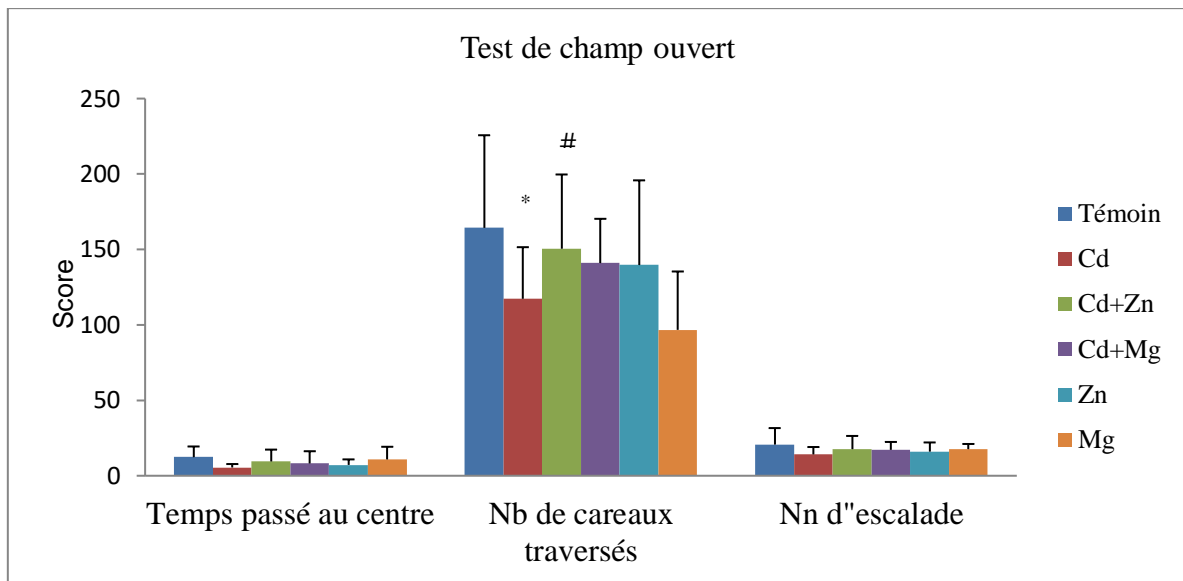


Figure (33): Temps passé au centre, nombre de carreau traversé, nombre d'escalade durant le test de champ ouvert chez les rats témoins, intoxiqués au CdCl₂, intoxiqués au CdCl₂ et traité à ZnCl₂ et MgCl₂ pendant trois mois de traitement par voie orale

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm ET. (*) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe témoin. (#) Indique une différence significative à $p < 0.05$ comparée au groupe intoxiqué (Cd).

5. L'étude histologique du foie

L'étude histologique du foie chez les rats témoins montre des cellules hépatiques normales, cytoplasme granuleux et préservé avec une veine centrale clairement visible (Figure : 35 A). En revanche, l'étude histologique des foies des rats du groupe contaminé par le CdCl₂ révèle une altération sévère de l'architecture du foie avec une veine centrolobulaire dilatée, hépatocytes irréguliers ballonnés, inflammation et nécrose hépatique (Figure : 36 B).

Alors que, l'étude histologique des foies chez les rats contaminés par le CdCl₂ et traités par le ZnCl₂ et MgCl₂ montre une veine centrolobulaire dilatée mais en général l'architecture semble intacte (Figure : 37, 38).

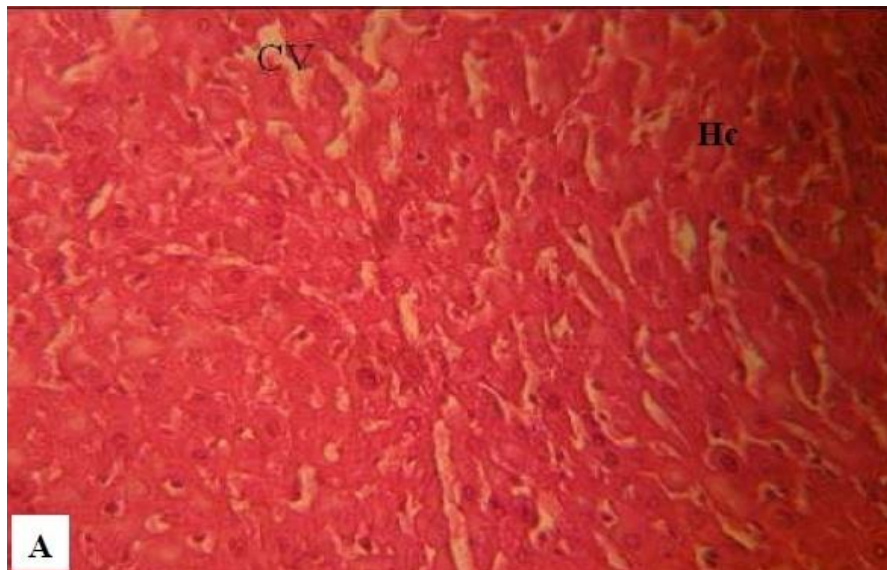


Figure (34) : Coupe histologique du foie des rats témoins (A). (Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : $\times 400$)

Hc : Hépatocyte (cellule hépatique)
CV : Veine centrolobulaire

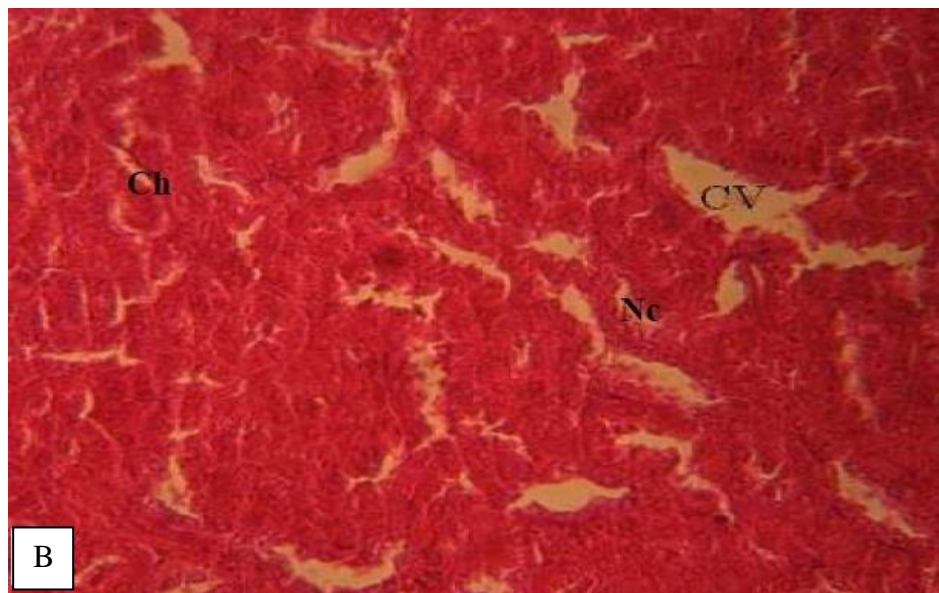


Figure (35) : Coupe histologique du foie des rats contaminé par le CdCl₂ (B). (Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : $\times 400$)

CV : Veine centrolobulaire
Ch : Cytolyse hépatique
Nc : Nécrose

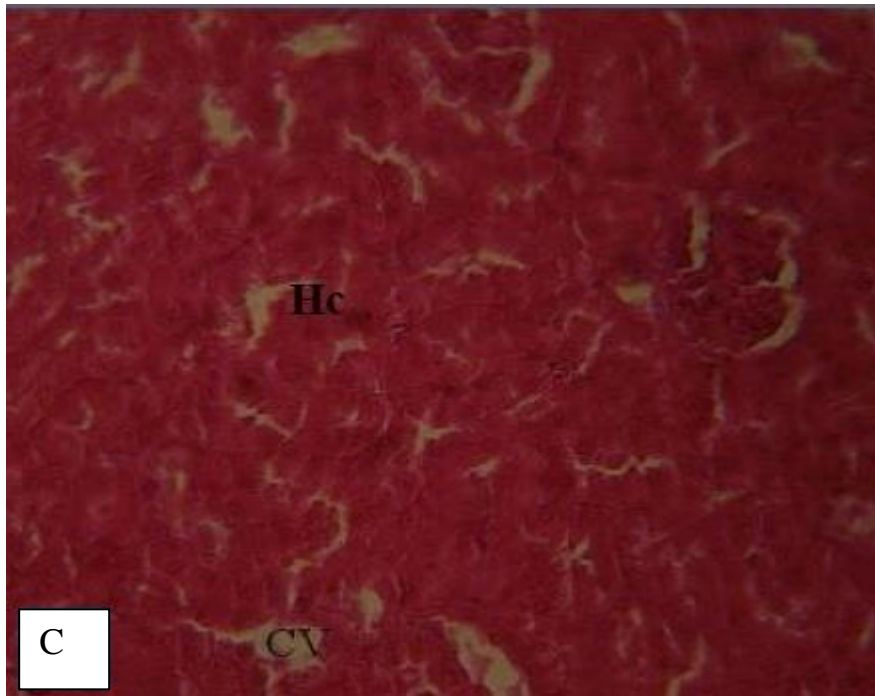


Figure (36) : Coupe histologique du foie des rats contaminé par le CdCl_2 et traité par le ZnCl_2 (C). (Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : $\times 400$)
Hc : Hépatocyte (cellule hépatique)

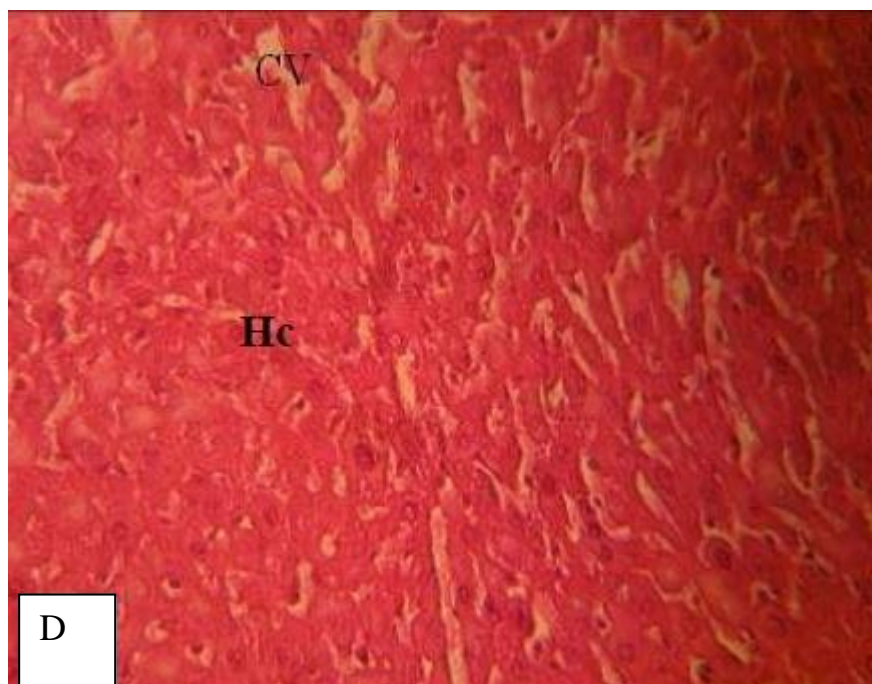


Figure (37) : Coupe histologique du foie des rats contaminé par le CdCl_2 et traité par le MgCl_2 (D). (Coloration : hématoxyline-éosine. Gr : $\times 400$)
Hc : Hépatocyte (cellule hépatique)

6. Discussion

Les métaux lourds ont tous un potentiel toxique qui dépend principalement de leur concentration dans le milieu considéré et de leur biodisponibilité c'est-à-dire de leur fonction soluble et accessible par les organismes. De trop fortes concentrations en métaux lourds même essentiels sont toxiques pour les organismes vivants (Crine, 1993).

La biodisponibilité en métaux lourds définit leur aptitude à être transférés d'un compartiment vers un autre, ce qui augmente le risque de toxicité sur les organismes vivants (Maynaud, 2012). Parmi ces métaux lourds le cadmium (Cd), qui est actuellement l'un des polluants professionnels et environnementaux les plus importants, Il est associé à des effets rénaux, neurologiques, squelettiques et autres effets toxiques, y compris la toxicité pour la reproduction, la génotoxicité et la cancérogénicité (Matović, Bulat, *et al.*, 2011), il présente dans le sol, l'eau, l'air, les aliments et la fumée de cigarette (Trzcinka-Ochocka *et al.*, 2010).

L'objectif de notre étude a été d'évaluer l'impact de l'exposition subchronique au cadmium sur des rats Wistar pendant une période d'expérimentation de 90 jours et de voir l'effet protecteur et bénéfique du zinc et du magnésium contre la toxicité du cadmium.

Notre étude expérimentale a démontré que l'exposition subchronique au cadmium (15mg/Kg/l) a altéré le poids corporel des rats Wistar, en effet nous avons observé une perte de poids des rats contaminés au cadmium par rapport aux témoins.

Cette diminution remarquable est due à une élévation de la dégradation des lipides et des protéines causée par la toxicité du cadmium (Erdogan *et al.*, 2005). D'autre part, le cadmium réagit avec plusieurs éléments nutritifs (SOLOMONS *et al.*, 1982), les métaux divalents Cd^{+2} affectent le métabolisme ou les concentrations tissulaires de plusieurs éléments importants dans le métabolisme de l'os chez les mammifères : le calcium, le magnésium et le zinc (Sugawara, 1977; Washko *et al.*, 1977), par conséquent, il peut induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps (Nielson *et al.*, 1984; Smialowicz *et al.*, 1987). Ainsi, la perte de poids du groupe traité Cd peut-être à cause de la réduction des protéines sériques (F. M. El-

Demerdash *et al.*, 2004), de l'autre côté, des études ont montré que le cadmium inhibe la croissance (Waalkes *et al.*, 1999).

En revanche, le traitement des rats traités par le zinc (Zn) et par le magnésium (Mg) ont entraîné une amélioration du poids corporel. Plusieurs preuves indiquent que le traitement avec Mg ou Zn lors de l'exposition Cd a empêché les effets nocifs du cadmium (Djukic-Cosic *et al.*, 2007; Jacobs *et al.*, 1983).

Concernant le poids des organes, nous remarquons une augmentation du poids du foie chez les rats contaminés par le cadmium. Cela s'explique, d'une part, par la hypertrophie du foie causée par ce métal et d'autre part, par l'accumulation intense de ce métal dans cette cible organe aux métaux lourds. Simons *et al.* (1995) ont rapporté que l'augmentation du poids du foie est révélatrice de la toxicité des substances utilisées. Nos résultats sont conformes aux données bibliographiques (SVS Rana, 1996; Simons, 1995). En revanche, le traitement des rats contaminés au cadmium et traités au zinc et au magnésium ont entraîné une amélioration du foie en raison de l'effet protecteur du zinc et du magnésium contre la toxicité de cadmium.

Concernant l'étude des paramètres hématologiques, le mécanisme de toxicité du cadmium n'est pas complètement élucidé (Anđela *et al.*, 2009). Toutefois, la rate, le foie, et la moelle osseuse qui sont des organes erythropoïétiques sont la cible du cadmium (Oluwafemi *et al.*, 2014). Ainsi, les paramètres hématologiques sont utilisés comme indicateur précoce de la toxicité des polluants sur ces tissus (Paprikar *et al.*, 2003).

L'analyse de nos résultats a montré que l'exposition subchronique des rats au cadmium a provoqué une diminution importante des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite. D'après ces résultats on peut dire que le cadmium a provoqué une anémie (Horiguchi, 2007; Kostić *et al.*, 1993). L'anémie est une importante expression de la toxicité du cadmium. Elle pourrait donc s'expliquer d'une part :

Par une augmentation de la destruction des globules rouges et en même temps une diminution de leur synthèse. En effet, les métaux, en s'accumulant dans la rate, le foie et les reins, inhibent l'activité erythropoïétique en endommageant la synthèse de l'érythropoïétine qui est une hormone sécrétée par les reins dont le rôle est la stimulation des globules rouges (Oluwafemi *et al.*, 2014).

Chapitre V: Résultats ET DISCUSSION PARTIE PRATIQUE

Et d'autre part: aux effets des radicaux libre générés par le cadmium sur les globules rouges, où certains radicaux libres comme : O_2 et OH sont des espèces très réactives capables de provoquer des dommages cellulaires par le biais de la peroxydation des lipides membranaires, de plus en présence de fortes concentrations de ces radicaux, l'hémoglobine peut facilement s'oxyder (Gürer *et al.*, 1998). Ces résultats sont en accord avec les études (Tung *et al.*, 1975).

Cependant cette anémie est corrigée chez les lots traités aux Cd +Zn, Cd +Mg après trois mois de traitement, ce qui montre davantage l'effet cytotoxique du cadmium (Dogra *et al.*, 2002; Levander, 1977).

Par contre, On a enregistré une augmentation bien claire des globules blancs chez les rats contaminés au cadmium par rapport aux témoins. Cette augmentation s'explique par le fait que l'animal mobilise toutes ces capacité de défense (notamment les leucocytes) pour lutter contre les agents infectieux causés par la présence des xénobiotiques dans son organisme (Karmakar *et al.*, 2000). L'augmentation de ces cellules sanguines témoigne d'un état inflammatoire général (Fahim *et al.*, 2012) due aux dommages causées par la toxicité du cadmium (Enuneku *et al.*, 2013). Ce qui confirme l'importance des globules blancs dans la défense immunitaire contre les éléments toxiques.

Mais, chez les groupes Cd+Zn et Cd+Mg, on a enregistré un taux de globules blancs moins qu'il est enregistré chez le groupes contaminé par $CdCl_2$.

Nos résultats montrent un taux de glycémie élevé (glucose sérique) chez les rats contaminés par le cadmium. Cette hyperglycémie est causée par la toxicité du cadmium (Massanyi *et al.*, 1995) qui inhibe la production de l'insuline par les îlots de langerhans (Dormer *et al.*, 1974) ou il bloque l'utilisation du glucose par les cellules et mène à la présence d'une concentration élevée d'insuline (Sunderman Jr *et al.*, 1976) ou en raison de perturbation dans la sécrétion de glucagon et mène à la dégradation élevée du glycogène, offre nouvelle production de glucose à partir d'autres sources non glucidique comme les protéines (Massanyi *et al.*, 1995).

Ces résultats sont en accord avec les études de (Massanyi *et al.*, 1995; SV Rana *et al.*, 1996) chez les rats.

Le traitement par le zinc et le magnésium amélioré le taux du glucose chez les rats contaminés au cadmium et ceci suggère que le traitement au zinc et au magnésium provoqué une diminution de l'effet du cadmium en se liant à des biomolé-

cules ainsi que l'amélioration de la sécrétion d'insuline en réduisant l'accumulation du glucose. Le zinc et le magnésium protège les enzymes et l'ATP impliqués dans le métabolisme du glucose (Ambali, 2011; Noël *et al.*, 2006).

Le rein est l'organe-cible de l'intoxication chronique au cadmium. Classiquement, il s'agit d'une néphropathie tubulaire proximale caractérisée par une fuite de protéines de faible poids moléculaire (retinol-bindingprotein [RBP], 1-microglobuline, 2-microglobuline...) non réabsorbées par les cellules tubulaires proximales. L'atteinte tubulaire proximale est notamment associée à une enzymurie (N-acétylglucosaminidasurie...), une aminoacidurie, une glycosurie, une hypercalciurie et une hyperphosphaturie. La fuite phosphocalcique urinaire favorise la survenue de lithiase urinaire. À un stade plus avancé, une tubulopathie distale se surajoute, avec des troubles de la concentration et de l'acidification des urines. Une néphropathie glomérulaire, caractérisée par une fuite de protéines de haut poids moléculaire (albumine...), peut être associée à une atteinte tubulaire préexistante. La protéinurie tubulaire se poursuit souvent après l'arrêt de l'exposition au cadmium (Järup *et al.*, 1993). Ce qui explique la diminution de taux de protéines et d'albumine chez les rats contaminé par le cadmium par rapport au groupe témoin, par contre le traitement par le zinc et le magnésium chez les groupes Cd+Zn et Cd+Mg réduit l'effet toxique du CdCl₂ sur la teneur du sang en protéines et d'albumine.

D'autres auteurs ont également prouvé d'une manière concluante que le zinc stimule la synthèse de protéines (Ehara *et al.*, 1996; Giugliano *et al.*, 1987) ce qui fait du zinc un facteur essentiel pour la synthèse protéique.

Les résultats ont montré que le traitement par le Mg a eu des effets positifs sur les changements induits par Cd dans les niveaux des paramètres sériques. L'influence favorable de Mg sur les altérations induites par Cd dans les paramètres sériques liés à la fonction rénale peut résulter de l'action indépendante de cette bioélément et son interaction avec Cd (Bulat *et al.*, 2008). Ainsi, nous pouvons conclure que Mg peut montrer une activité antioxydante en empêchant la peroxydation des lipides dans le tissu rénal. De même, Djukić-Cosic *et al.* (2007) ont montré des effets bénéfiques de Mg sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie des rats exposés au Cd (Djukic-Cosic *et al.*, 2007). En fait, Mg est un cofac-

teur des enzymes, qui sont impliquées dans la synthèse du GSH qui est un important antioxydant cellulaire. En outre, une carence en magnésium augmente le stress oxydatif en augmentant la production de radicaux libres et la diminution des défenses anti-oxydantes (Matović *et al.*, 2012; Soldatovic *et al.*, 1997).

Le Cd et les métaux essentiels peuvent interagir en influençant les taux d'absorption, de rétention, de distribution de chacun et la biodisponibilité dans le corps. C'est principalement en raison de leur concurrence pour la même liaison sites, en particulier les groupes SH, dans diverses enzymes et d'autres métalloprotéines telles que la métallothionéine (MT). Des taux sanguins de Mg plus bas, généralement considérés comme du fait de l'exposition au Cd, pourrait s'expliquer par un augmentation du niveau de Cd dans l'intestin, induite par les mucociliaires transfert, par élimination de la bile ou par excrétion de Cd à travers les parois de l'intestin (Matović *et al.*, 2010).

Plusieurs études ont démontré l'effet protecteur du magnésium contre les effets toxiques du cadmium (Soldatovic *et al.*, 1997). Cet effet du magnésium pourrait être expliqué par l'antagonisme concurrentiel entre cadmium et magnésium (Matović, Buha, *et al.*, 2011). Les travaux de Matović montrés que l'ajout du magnésium pourrait réduire le taux du cadmium dans les reins (Matović, Buha, *et al.*, 2011).

L'augmentation des taux sériques en de l'urée et de la créatinine chez les rates contaminées au cadmium est considérée comme un bio-marqueur de la dysfonction rénale et les dommages rénaux provoqué par ce métal. L'urée et la créatinine ce sont des paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (Finco, 1997). De plus, l'augmentation de l'urée dans le sérum est corrélée avec l'augmentation de catabolisme protéique, les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine. Donc l'augmentation de l'urée et de la créatinine chez les rats contaminées au cadmium est due à l'effet néphrotoxique de cadmium (F. El-Demerdash *et al.*, 2013; Harper, 1979).

Par ailleurs, l'administration du zinc et du magnésium au groupe contaminé au cadmium a diminué le taux de l'urée et de la créatinine par rapport au lot cadmium ça reviens presque a la normal comparé aux témoins, même chose pour lot zinc comparé aux témoins.

La capacité de la supplémentation en Zn et en Mg pour empêcher les modifications induites par Cd en poids et des concentrations sériques de la protéine, l'urée et de la créatinine permet de conclure que le Zn et le Mg peut protéger les reins contre les dommages Cd. Selon les données de la littérature, avec un co-traitement du Zn et du Mg lors de l'administration Cd a des effets bénéfiques sur la néphrotoxicité induite par Cd (Bulat *et al.*, 2008; Eissa *et al.*, 2012). Parmi les mécanismes possibles, le Zn peut réduire l'absorption rénale du Cd par la concurrence avec ce métal lourd pour les transporteurs communs, En outre, le Zn induit la synthèse de la métallothionéine dans le foie, ce qui provoque l'accumulation de Cd dans le foie et retarde son transfert au rein (Kulikowska-Karpinska *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 1992). Les travaux de Jacquillet et al (2006) ont démontré aussi que le Zn pourrait empêcher l'apoptose induite par Cd par l'activation de la caspase 3 dans un cortex de rein (Jacquillet *et al.*, 2006). Nos résultats sont en accord avec les données publiées par Mahran (2011) qui a observé que le Zn a exprimé une action antagoniste sur la toxicité du cadmium. Les observations faites dans cette étude semblent indiquer que l'effet protecteur possible de Zn pendant l'exposition au Cd peut être lié à ses propriétés anti - oxydantes et de réduire les changements histologiques rénales induite par le Cd (Mahran *et al.*, 2011).

Nos résultats montrent une augmentation sérique des transaminases (ASAT et ALAT), et de la PAL dans le sérum des rats contaminées au cadmium. L'augmentation de ces enzymes indique une lésion hépatique et s'explique par la fuite des enzymes du tissu vers le plasma due à l'altération de la perméabilité membranaire (Navarro *et al.*, 1993).

En outre, Pour l'évaluation des lésions hépatiques, ces enzymes sont principalement utilisées et peuvent être trouvée dans le cytosol et tout dommage libère l'enzyme dans la circulation sanguine et donc il est déterminable. Des quantités accrues de ces enzymes sont des indices de déversement cellulaire et la perte d'intégrité fonctionnelle des membranes cellulaires dans le foie. L'augmentation sérique des enzymes peut être due à des lésions tissulaires dans le foie, les reins et le cœur suite à des modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire, ou également due à une augmentation de la synthèse ou de la diminution de la destruction des transaminases (Krim *et al.*, 2013). L'ASAT, l'ALAT, et la PAL sont les biomarqueurs les plus sensibles qui sont directement impliqués dans l'étendue de la toxicité et des

Chapitre V: Résultats ET DISCUSSION PARTIE PRATIQUE

dommages cellulaires puisqu'ils sont cytoplasmiques et libérés immédiatement dans la circulation sanguine après l'atteinte cellulaire (Farag *et al.*, 2010).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Pari *et al.*, 2005; S. Tandon *et al.*, 2001; Uyanik, 2001) chez les rats qui ont confirmé l'augmentation de ces enzymes.

Le traitement par le zinc a amélioré l'activité des transaminases (ASAT et ALAT) et de la PAL chez les rats contaminés au cadmium. Cet antioxydant peut stabiliser la membrane cellulaire hépatique et de protéger les hépatocytes contre les effets toxiques du cadmium qui peut diminuer la fuite des enzymes vers le plasma (Bettger *et al.*, 1981; Dhawan *et al.*, 1995).

Ainsi, le traitement par le magnésium a amélioré l'activité des transaminases (ASAT et ALAT), et de la PAL chez les rats contaminés au cadmium. le magnésium aussi peut stabiliser la membrane cellulaire hépatique et de protéger les hépatocytes contre les effets toxiques du cadmium qui peut réduire la fuite des enzymes vers le plasma (Djukic-Cosic *et al.*, 2007; Matović, Bulat, *et al.*, 2011).

Par ailleurs d'après nos résultats, l'exposition au cadmium modifie le profil lipidique. En effet, notre étude a montré que le taux plasmatiques du cholestérol sériques était significativement augmenté avec une augmentation non significative des triglycérides chez les rats traités par le cadmium. Cette augmentation est due à la dégradation des tissus adipeux de l'organisme (Cempel *et al.*, 2002), et qui peut être due à un stress oxydatif induit par le cadmium conduisant à un niveau élevé d'hydroperoxydes lipidiques (LOOH), à une faible activité paraoxonase, ainsi, la toxicité du cadmium provoque une perturbation du métabolisme lipidique en plus de la perturbation des taux de cytokines pro-inflammatoires (Afolabi *et al.*, 2012). Ce résultat concorde d'ailleurs avec ceux de (Larregle *et al.*, 2008; Murugavel *et al.*, 2007).

Ce désordre enregistré chez le groupe contaminé au cadmium est réduit chez les groupes des rats intoxiqués par le cadmium et traité avec le zinc et le magnésium, autrement dit les concentrations sériques des paramètres lipidiques sont stabilisées par l'addition du zinc et du magnésium. Une diminution significative du taux sérique de cholestérol et triglycéride ont été observées chez des rats dont l'alimentation a été enrichie par le zinc et le magnésium.

Nos résultats indiquent qu'il y a une augmentation significative des taux des bilirubines (totale, directe, indirecte) chez le groupe contaminé au chlorure du cad-

mium par rapport au groupe témoin. Cette augmentation des niveaux de bilirubine peut avoir été causée par la dégradation des érythrocytes et d'autres protéines contenant de l'hème, de la myoglobine et des cytochromes. L'hème (de la porphrine) de la molécule d'hémoglobine est séparé de la globine et l'hème est converti principalement dans la rate en biliverdine qui est réduite en bilirubine(Doumas *et al.*, 1973).

Ceci est également en tandem avec la diminution limitée des niveaux de volume d'hémoglobine et de cellules tassées due à exposition au Cd comme indiqué précédemment(Ibiam *et al.*, 2012). Une autre explication possible est que l'exposition au Cd est connue pour induire la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les organismes qui ont le potentiel de provoquer des dommages oxydatifs sur les cellules, les tissus et les organes et même la mort (Price *et al.*, 1983).

Par contre, les groupes contaminés au cadmium et traité au zinc et au magnésium ont enregistré une diminution significative des taux de bilirubines (totale, direct et indirect) par rapport au groupe contaminé au cadmium. l'administration du zinc et du magnésium au groupe contaminé au cadmium protège contre la toxicité induite par l'exposition au cadmium et représenté par la destruction des globules rouges et l'oxydation de l'hémoglobine ce qui mène a une augmentation des bilirubines (Gürer *et al.*, 1998; Oluwafemi *et al.*, 2014).

Toutes fois, on a choisi une batterie des tests d'ordre neurocomportemental pour évaluer l'état de la dépression, de l'anxiété, de l'activité locomotrice ainsi qu'un dosage du glucose sanguin étant donné qu'il est un bon indicateur du stress.

Ces tests ont été réalisés pour estimer l'état du stress chez des rats Wistar exposées au cadmium comparativement aux témoins.

Concernant le test de l'open Field les résultats notés montrent clairement que l'administration par voie orale du cadmium a présenté une augmentation très hautement significative dans le nombre de carreaux traversés et le nombre de redressement, ce qui révèle une hyperactivité locomotrice chez les rattes intoxiquées par rapport aux non intoxiquées.

Cette augmentation dans l'exploration du milieu est expliquée par l'action des métaux lourds (cadmium) sur le système dopaminergique qui se traduit par une aug-

mentation de la synthèse , de la libération du neurotransmetteur et l'hyperfonctionnement des récepteurs post synaptiques (Slotkin *et al.*, 2007).

Par contre chez les lots traités au zinc nous avons remarqué une diminution du nombre de carreaux traversés et le nombre de redressement ceci est dut au pouvoir bénéfique et antioxydant du zinc qui est un oligoélément qui entre dans le développement du système nerveux et la transmission des signaux synaptiques(Brzóska *et al.*, 2001).

Concernant les lots traités au magnésium nous avons enregistré une baisse du nombre de carreaux traversés et le nombre de redressement a cause du magnésium qui est un oligoélément qui est nécessaire est indispensable dans le développement du système nerveux et la transmission des signaux synaptiques et surtout pour lutter contre le stress(Cernak *et al.*, 2000).

Par ailleurs, nous avons examiné l'action du cadmium par voie orale sur des rats Wistar pendant le test du plus maze, nous avons remarqué une augmentation très hautement significative du nombre d'entrées dans les bras fermés et le temps passé dans les bras fermés ceci s'explique par l'état anxieux et dépressif provoqué par le cadmium chez les rats Wistar.

Le plus maze test est l'un des modèles de comportement les plus populaires pour l'anxiété, l'augmentation du nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts sont considérés comme étant les indices les plus représentatifs de l'activité anxiolytique.

Dans ce dispositif, les rats préfèrent passer beaucoup de leur temps dans les bras fermés, ce comportement semble refléter une aversion envers les bras ouverts qui est généré par la peur des espaces ouverts. Les médicaments qui augmentent exploration des bras ouverts sont considérés comme anxiolytiques et l'inverse est vrai pour les anxiogènes (Dhonnchadha *et al.*, 2003).

Contrairement au groupe cadmium les lots Cd+Zn, Cd+Mg, Zn, Mg présentent une certaine amélioration et diminution dans le nombre d'entrées dans les bras fermés, le temps passé dans les bras fermés ceci est expliqué par les capacités antioxydantes du zinc et du magnésium à diminuer l'effet du cadmium sur le système

Chapitre V: Résultats ET DISCUSSION PARTIE PRATIQUE

nerveux en renforçant la transmission dopaminergique et sérotoninergique chez les rats Wistar (Golf *et al.*, 1998; Santon *et al.*, 2003).

L'observation des coupes histologiques que nous avons réalisées révèle que la toxicité du cadmium s'est manifestée par des lésions tissulaires du foie. Ces altérations sont induites, lors d'un stress oxydatif, par l'augmentation de la peroxydation lipidique. Il en résulte une activation des inflammations cellulaires et une dégradation des produits lipidiques (Das *et al.*, 2001; Nemmiche *et al.*, 2007; SV Rana *et al.*, 1996)

L'administration de zinc et de magnésium au cadmium a entraîné une normalisation assez importante de l'histologie hépatique. De tels effets bénéfiques du zinc et du magnésium dans le foie en régulant les niveaux de différentes enzymes ont également été observés par nous plus tôt lors de l'évaluation de son potentiel de toxicité au cadmium (Sidhu *et al.*, 2006; A. Tandon *et al.*, 1999).

De nombreuses études ont montré que les radicaux libres d'oxygène sont à l'origine de ces altérations (Jamakala *et al.*, 2014). En effet, ces radicaux peuvent se diffuser dans le cytoplasme et à travers les membranes, pour attaquer les composants cellulaires loin de leur site de production ou pour atteindre d'autres cellules (Waalkers *et al.*, 1985).

L'attaque des composants organiques des cellules (lipides, protéines ou glucides) permet la transmission du caractère radical et déclenche ainsi des pathologies sévères jusqu'à la mort des animaux (Mahran *et al.*, 2011). Il a été rapporté que l'exposition orale subchronique au cadmium entraîne une nécrose hépatique multiple associée à des changements dans l'ultrastructure et des changements hépatiques (Bulat *et al.*, 2008).

Bien que le modèle lamellaire des hépatocytes soit revenu à presque normal dans les groupes traités au zinc et au magnésium, il peut être attribué à la capacité du zinc et du magnésium à réduire la menace des radicaux oxygène qui conduit à la réduction des changements pathologiques (Djukic-Cosic *et al.*, 2007). Le zinc et le magnésium offrent une protection contre le stress oxydatif induit par le cadmium et la toxicité dans les tissus hépatiques et rénaux. On peut conclure que le mélange de

Chapitre V: Résultats ET DISCUSSION PARTIE PRATIQUE

supplémentassions en Zn et Mg était plus bénéfique contre la toxicité subchronique du cadmium (Bulat *et al.*, 2008).

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

En conclusion, Notre présente étude vise à évaluer d'une part le potentiel toxique d'un contaminant à usage agricole et industriel, le chlorure de cadmium et d'autre part de montrer les effets bénéfiques de la supplémentation du zinc et du magnésium. L'administration orale du chlorure de cadmium à 15 mg/kg/L pendant 90 jours chez les rats Wistar a provoqué des perturbations dans le bilan biochimique, neurocomportemental et histologique. Ces perturbations sont corrigées et diminuent en ajoutant le zinc et magnésium. Les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants :

- Un déficit du gain du poids corporel avec augmentation du poids foie par rapport aux rats témoins, alors que l'administration du zinc et du magnésium a améliorée la croissance des rats.
- Une perturbation des paramètres biochimique, le chlorure du cadmium induit une augmentation de la concentration du glucose, des triglycérides, de l'urée, de la créatinine, et de la bilirubine. ainsi que l'augmentation de l'activité enzymatique des :
ASAT, ALAT et PAL. La supplémentation du zinc et du magnésium a considérablement réduit cette perturbation, ceci montre son effet protecteur.
- De plus, les résultats relatifs aux tests de comportement plus précisément ceux de l'anxiété, (labyrinthe de croix surélevé) et celle de champ ouvert dévoilent clairement que l'intoxication au cadmium provoque des troubles neurocomportementaux se traduisant par une hypoactivité locomotrice, une réduction du comportement d'exploratrice du milieu qui reflète un état de stress et anxiété, cet état a été diminué par la supplémentation du zinc et magnésium.
- Les coupes histologiques réalisées sur des fragments de foie permettent de confirmer l'effet cyto-protecteur zinc et du magnésium.

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'action protectrice du zinc et du magnésium et ses capacités à moduler les effets toxiques causés par le cadmium.

Comme, perspective, il serait intéressant de compléter nos résultats par :

- Déterminer le taux du cadmium dans le sang, le cerveau, le foie, les reins
- Dosage des neuro-transmetteurs.
- Etude histologique du cerveau.

BIBLIOGRAPHIE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Abbasi, B., Kimiagar, M., Sadeghniaat, K., Shirazi, M. M., Hedayati, M., & Rashidkhani, B. (2012). The effect of magnesium supplementation on primary insomnia in elderly: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, *17*(12), 1161.
- Afolabi, O. K., Oyewo, E. B., Adekunle, A. S., Adedosu, O. T., & Adedeji, A. L. (2012). Impaired lipid levels and inflammatory response in rats exposed to cadmium. *EXCLI journal*, *11*, 677.
- Åkesson, A., Bjellerup, P., Lundh, T., Lidfeldt, J., Nerbrand, C., Samsioe, G., . . . Vahter, M. (2006). Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. *Environmental Health Perspectives*, *114*(6), 830-834.
- Åkesson, A., Lundh, T., Vahter, M., Bjellerup, P., Lidfeldt, J., Nerbrand, C., . . . Skerfving, S. (2005). Tubular and glomerular kidney effects in Swedish women with low environmental cadmium exposure. *Environmental Health Perspectives*, *113*(11), 1627-1631.
- Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., Cravedi, J.-P., Dogliotti, E., Di Domenico, A., . . . Galli, C. L. (2009). SCIENTIFIC OPINION Cadmium in food Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*, *980*, 1-139.
- Alfvén, T., Elinder, C. G., Carlsson, M. D., Grubb, A., Hellström, L., Persson, B., . . . Järup, L. (2000). Low-level cadmium exposure and osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*, *15*(8), 1579-1586.
- Alfvén, T., Elinder, C. G., Hellström, L., Lagarde, F., & Järup, L. (2004). Cadmium exposure and distal forearm fractures. *Journal of Bone and Mineral Research*, *19*(6), 900-905.
- Allain, C. (1974). Cholesterol enzymatic colorimetric method. *J. of Clin. Chem*, *20*, 470.
- Alvarez, S. M., Gómez, N. N., Scardapane, L., Zirulnik, F., Martínez, D., & Giménez, M. S. (2004). Morphological changes and oxidative stress in rat prostate exposed to a non-carcinogenic dose of cadmium. *Toxicology letters*, *153*(3), 365-376.
- Ambali, S. F., Shuaib, K., Edeh, R., Orijei, B. C., Shittu, M., & Akande, M. (2011). Hyperglycemia induced by subchronic co-administration of chlorpyrifos and lead in Wistar rats: Role of pancreatic lipoperoxidation and alleviating effect of vitamin C. *Biol. Med*, *3*(1), 6-14.
- Anđela, M., & Ivana, P. (2009). EFFECTS OF ACUTE CADMIUM TOXICITY ON OXIDATIVE DAMAGE IN NERVOUS TISSUE. *Acta Veterinaria*, *59*.
- Andujar, P., Bensefa-Colas, L., & Descatha, A. (2010). [Acute and chronic cadmium poisoning]. *Rev Med Interne*, *31*(2), 107-115. doi: 10.1016/j.revmed.2009.02.029
- Arisawa, K., Uemura, H., Hiyoshi, M., Dakeshita, S., Kitayama, A., Saito, H., & Soda, M. (2007). Cause-specific mortality and cancer incidence rates in relation to urinary β 2-microglobulin: 23-year follow-up study in a cadmium-polluted area. *Toxicology letters*, *173*(3), 168-174.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- ARNAUD, J. F. A., & Favier, A. (1991). Les oligoéléments en médecine et biologie. *Le Zinc, Paris, Lavoisier, Tec et Doc*, 347-397.
- ASA, E.-K. (2011). Morphological and Metabolic Repons of *Aspergillus nidulans* and *Fusarium oxysporum* to Heavy Metal Stress. *J Appl Sci Res*, 7, 1737-1745.
- ATSDR, I. (2012). Toxicological Profile for Cadmium. US Department of Health and Human Services. *Public Health Service, Atlanta, GA*, 42.
- Badran, A. M., & Crenn, P. (2009). Les sels de magnésium oraux. *Nutrition clinique et métabolisme*, 23(1), 9-15.
- Ballatori, N., Hammond, C. L., Cunningham, J. B., Krance, S. M., & Marchan, R. (2005). Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicology and applied pharmacology*, 204(3), 238-255.
- Barbier, O., Jacquillet, G., Tauc, M., Poujeol, P., & Cougnon, M. (2004). Acute study of interaction among cadmium, calcium, and zinc transport along the rat nephron in vivo. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 287(5), F1067-F1075.
- Barnhart, S., & Rosenstock, L. (1984). Cadmium chemical pneumonitis. *Chest*, 86(5), 789-791.
- Barregard, L., Fabricius-Lagging, E., Lundh, T., Mölne, J., Wallin, M., Olausson, M., . . . Sallsten, G. (2010). Cadmium, mercury, and lead in kidney cortex of living kidney donors: Impact of different exposure sources. *Environmental research*, 110(1), 47-54.
- Berger, M., & Chioloro, R. (2001). Apport d'antioxydants en réanimation: pourquoi, lesquels, avec quels objectifs? *Réanimation*, 10(6), 527-534.
- Bergmeyer, H., Horder, M., & Rej, R. (1986). IFCC method for aspartate aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem*, 24(7), 497-510.
- Bernhoft, R. A. (2013). Cadmium toxicity and treatment. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Berridge, M. J., Lipp, P., & Bootman, M. D. (2000). The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 1(1), 11-21. doi: 10.1038/35036035
- Berthelot, A. (2004). *Le magnésium*. paris: John Libbey Eurotext.
- Bettger, W. J., & O'Dell, B. L. (1981). A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life sciences*, 28(13), 1425-1438.
- Beyersmann, D., & Hechtenberg, S. (1997). Cadmium, gene regulation, and cellular signalling in mammalian cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 144(2), 247-261.
- Bhatnagar, S., & Taneja, S. (2001). Zinc and cognitive development. *British journal of nutrition*, 85(S2), S139-S145.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Blaine, J., Chonchol, M., & Levi, M. (2015). Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(7), 1257-1272.
- Blanchard, A. (2013). Métabolisme du magnésium et son rôle en pathologie. *EMC - Endocrinologie - Nutrition* 10(1), 1-8.
- Bliefert, C., & Perraud, R. (2001). *Chimie de l'environnement Air, eau, sols, déchets*, (D. Boeck Ed. 2eme édition ed.). Paris.
- Bliefert, C., & Perraud, R. (2004). Chimie de l'Environnement: Air, eau, sols; déchets 1 ère édition. *De Boeck Université*, 234-251.
- Bohic, S., Gherzi-Egea, J.-F., Gibon, J., Paoletti, P., Arnaud, J., Hunot, S., . . . Bouron, A. (2011). Rôles biologiques des éléments traces dans le cerveau—exemples du Zn et du Fe. *Revue neurologique*, 167(4), 269-279.
- BONET, A. (2011). *EFFETS DU CADMIUM SUR L'EXPRESSION D'ENZYMES DE BIOTRANSFORMATION AU COURS DE LA DIFFÉRENCIATION ENTÉROCYTAIRE*. UNIVERSITÉ DU QUÉBEC, MONTRÉAL.
- Bourrelier, P.-H., Berthelin, J., & Pédro, G. (1998). *Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion:[organisé par l'Académie des sciences, 11 mai 1998]*: Tec & Doc.
- Brown, K. H., Wuehler, S. E., & Peerson, J. M. (2001). The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food and nutrition bulletin*, 22(2), 113-125.
- Brzóska, M., & Moniuszko-Jakoniuk, J. (2001). Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and chemical toxicology*, 39(10), 967-980.
- Buchet, J.-P., Lauwerys, R., Roels, H., Bernard, A., Bruaux, P., Claeys, F., . . . Amery, A. (1990). Renal effects of cadmium body burden of the general population. *The Lancet*, 336(8717), 699-702.
- Buckler, H. M., Smith, W. D., & Rees, W. D. (1986). Self poisoning with oral cadmium chloride. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 292(6535), 1559-1560. doi: 10.1136/bmj.292.6535.1559
- Bulat, Z. P., Djukić-Ćosić, D., Maličević, Ž., Bulat, P., & Matović, V. (2008). Zinc or magnesium supplementation modulates Cd intoxication in blood, kidney, spleen, and bone of rabbits. *Biological trace element research*, 124(2), 110-117.
- Burdin, L. (2014). *Oligothérapie et personne âgée: intérêt du chrome, du sélénium, du zinc et du cuivre?*
- Cai, S., Wang, J., Xue, J., Zhu, X., & Wang, Y. (1992). A judgment of attribution of increase in urine beta 2-microglobulin after environmental cadmium exposure. *Biomedical and environmental sciences: BES*, 5(2), 130-135.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Cai, Y., Aoshima, K., Katoh, T., Teranishi, H., & Kasuya, M. (2001). Renal tubular dysfunction in male inhabitants of a cadmium-polluted area in Toyama, Japan—an eleven-year follow-up study. *Journal of epidemiology*, *11*(4), 180-189.
- Callender, E. (2003). Heavy metals in the environment—historical trends. *Treatise on geochemistry*, *9*, 612.
- Cannino, G., Ferruggia, E., Luparello, C., & Rinaldi, A. M. (2009). Cadmium and mitochondria. *Mitochondrion*, *9*(6), 377-384. doi: 10.1016/j.mito.2009.08.009
- CE. (2007). Cadmium metal : Part II Human Health : Risk Assessment - cadmium. *Communauté Européenne*
- Cempel, M., & Janicka, K. (2002). Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after oral administration of nickel (II) chloride. *Biological trace element research*, *90*(1-3), 215.
- Cernak, I., Savic, V., Kotur, J., Prokic, V., Kuljic, B., Grbovic, D., & Veljovic, M. (2000). Alterations in magnesium and oxidative status during chronic emotional stress. *Magnesium research*, *13*(1), 29-36.
- Chang, W., & Shoback, D. (2004). Extracellular Ca²⁺-sensing receptors—an overview. *Cell calcium*, *35*(3), 183-196.
- Chappuis, P. (1991). *Les oligoéléments en médecine et biologie* (Edition Lavoisier ed. Vol. vol.1).
- Chen, L., Jin, T., Huang, B., Nordberg, G., & Nordberg, M. (2006). Critical exposure level of cadmium for elevated urinary metallothionein—an occupational population study in China. *Toxicology and applied pharmacology*, *215*(1), 93-99.
- Chen, X., Zhu, G., Jin, T., Åkesson, A., Bergdahl, I. A., Lei, L., . . . Liang, Y. (2009). Changes in bone mineral density 10 years after marked reduction of cadmium exposure in a Chinese population. *Environmental research*, *109*(7), 874-879.
- Chesters, J. (1989). Biochemistry of zinc in cell division and tissue growth *Zinc in human biology* (pp. 109-118): Springer.
- Chung, J., Nartey, N. O., & Cherian, M. G. (1986). Metallothionein levels in liver and kidney of Canadians—a potential indicator of environmental exposure to cadmium. *Arch Environ Health*, *41*(5), 319-323. doi: 10.1080/00039896.1986.9936704
- COUSIN, S. (1980). *Contribution à l'amélioration de la qualité des eaux destinées à l'alimentation humaine par l'utilisation d'argile au cours des traitements de floculation décantation. Etude de l'élimination des métaux toxiques et des micropolluants organiques.* (Thèse de Doctorat), Université Paris V, René Descartes.
- Crine, M. (1993). Le traitement des eaux industrielles chargées en métaux lourds: situation actuelle et perspectives de développement. *La Tribune de l'eau*, *46*(561), 3-19.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Dalton, T. P., He, L., Wang, B., Miller, M. L., Jin, L., Stringer, K. F., . . . Nebert, D. W. (2005). Identification of mouse SLC39A8 as the transporter responsible for cadmium-induced toxicity in the testis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(9), 3401-3406.
- Dardenne, M., Wade, S., Savino, W., Nabarra, B., Prasad, A., Bach, J., & Prasad, A. (1988). Thymulin and zinc deficiency. *Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease*. Prasad AS, ed. Alan R Liss, New York, 329-336.
- Das, K. K., Das, S. N., & DasGupta, S. (2001). The influence of ascorbic acid on nickel-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 12(3), 187-194.
- De Baaij, J. H., Hoenderop, J. G., & Bindels, R. J. (2015). Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiological reviews*, 95(1), 1-46.
- DEGRÉMONT, S. (1989). Mémento technique de l'eau, édition du cinquantième, 9^e édition. LAVOISIER (Éditeur), Paris, France, tomes, 1.
- Dhawan, D., & Goel, A. (1995). Further evidence for zinc as a hepatoprotective agent in rat liver toxicity. *Experimental and molecular pathology*, 63(2), 110-117.
- Dhonnchadha, B. d. Á. N., Bourin, M., & Hascoët, M. (2003). Anxiolytic-like effects of 5-HT₂ ligands on three mouse models of anxiety. *Behavioural Brain Research*, 140(1-2), 203-214.
- Dijkstra, M., Havinga, R., Vonk, R. J., & Kuipers, F. (1996). Bile secretion of cadmium, silver, zinc and copper in the rat. Involvement of various transport systems. *Life sciences*, 59(15), 1237-1246.
- DITRIA, M. (2002). Tableau périodique des éléments. *Faculté technologique de chimie, Split*.
- Djukic-Cosic, D., Ninkovic, M., Malicevic, Z., Matovic, V., & Soldatovic, D. (2007). Effect of magnesium pretreatment on reduced glutathione levels in tissues of mice exposed to acute and subacute cadmium intoxication: a time course study. *Magnesium research*, 20(3), 177-186.
- Dogra, S., Waseem, M., Khanna, A. K., & Kaw, J. L. (2002). Immunotoxicity of soluble and insoluble salts of cadmium instilled intratracheally.
- Doré, M. (1989). *Chimie des oxydants et traitement des eaux*: Technique et Documentation-Lavoisier.
- Dormer, R. L., Kerbey, A. L., McPherson, M., Manley, S., Ashcroft, S. J., Schofield, J. G., & Randle, P. J. (1974). The effect of nickel on secretory systems. Studies on the release of amylase, insulin and growth hormone. *Biochemical Journal*, 140(2), 135-142.
- Doumas, B. T., Perry, B. W., Sasse, E. A., & Straumfjord Jr, J. V. (1973). Standardization in bilirubin assays: evaluation of selected methods and stability of bilirubin solutions. *Clinical chemistry*, 19(9), 984-993.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Doumas, B. T., Watson, W. A., & Biggs, H. G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clinica chimica acta*, 31(1), 87-96.
- Eder, K. (2009). Magnesium-Verbindungen. Aufnahme, Funktionen und therapeutische Aspekte. *Pharmazie in unserer Zeit*, 38(3), 262-267.
- Ehara, Y., & Yamaguchi, M. (1996). Zinc stimulates protein synthesis in the femoral-metaphyseal tissues of normal and skeletally unloaded rats. *Research in experimental medicine*, 196(1), 363-372.
- Eissa, F. I., & El-Refaiy, A. I. (2012). Histopathology and cytotoxicity as biomarkers in treated rats with cadmium and some therapeutic agents. *Comunicata Scientiae*.
- El-Demerdash, F., Dewar, Y., ElMazoudy, R. H., & Attia, A. A. (2013). Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experimental and toxicologic pathology*, 65(6), 897-901.
- El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., Kedwany, F. S., & Baghdadi, H. H. (2004). Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β -carotene. *Food and chemical toxicology*, 42(10), 1563-1571.
- Elder, J. F. (1988). *Metal biogeochemistry in surface-water systems: A review of principles and concepts* (Vol. 1013): Department of the Interior, US Geological Survey.
- Enuneku, A. A., & Ezemonye, L. I. (2013). *The effects of sub lethal concentrations of cadmium on haematological indices of two amphibians*. Paper presented at the 3rd International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences (ICMBPS'2013) January.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry*, 1(6), 529-539.
- Erdogan, Z., Erdogan, S., Celik, S., & Unlu, A. (2005). Effects of ascorbic acid on cadmium-induced oxidative stress and performance of broilers. *Biological trace element research*, 104(1), 19-31.
- Everett, C. J., & Frithsen, I. L. (2008). Association of urinary cadmium and myocardial infarction. *Environmental research*, 106(2), 284-286.
- Ezaki, T., Tsukahara, T., Moriguchi, J., Furuki, K., Fukui, Y., Ukai, H., . . . Ikeda, M. (2003). No clear-cut evidence for cadmium-induced renal tubular dysfunction among over 10,000 women in the Japanese general population: a nationwide large-scale survey. *International archives of occupational and environmental health*, 76(3), 186-196.
- Fabiny, D. L., & Ertingshausen, G. (1971). Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the Centrifichem. *Clinical chemistry*, 17(8), 696-700.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Fahim, M. A., Nemmar, A., Dhanasekaran, S., Singh, S., Shafiullah, M., Yasin, J., . . . Hasan, M. (2012). Acute cadmium exposure causes systemic and thromboembolic events in mice. *Physiological Research*, 61(1), 73.
- Farag, A. G., Elhalwagy, M. E., & Farid, H. E. (2010). Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 97(3), 267-274.
- Farrance, I. (1987). Plasma glucose methods, a review. *Clin. Biochem. Rev*, 8, 55-68.
- Faurkov, B., & Bjerregaard, H. F. (2002). Evidence for cadmium mobilization of intracellular calcium through a divalent cation receptor in renal distal epithelial A6 cells. *Pflügers Archiv*, 445(1), 40-50.
- Favier, A. E. (1992). The role of zinc in reproduction. *Biological trace element research*, 32(1-3), 363-382.
- Fernández, E. L., Gustafson, A.-L., Andersson, M., Hellman, B., & Dencker, L. (2003). Cadmium-induced changes in apoptotic gene expression levels and DNA damage in mouse embryos are blocked by zinc. *Toxicological sciences*, 76(1), 162-170.
- Filipič, M., Fatur, T., & Vudrag, M. (2006). Molecular mechanisms of cadmium induced mutagenicity. *Human & experimental toxicology*, 25(2), 67-77.
- Finco, D. (1997). Kidney function In: Kaneko JJ, Harvey J. W., Bruss ML (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals. Aufl. *Academic Press, San Diego ua, 19967*, 441-484.
- Fleischer, M., Sarofim, A. F., Fassett, D. W., Hammond, P., Shacklette, H. T., Nisbet, I. C., & Epstein, S. (1974). Environmental impact of cadmium: a review by the Panel on Hazardous Trace Substances. *Environmental Health Perspectives*, 7, 253-323.
- Frederickson, C. J., Suh, S. W., Silva, D., Frederickson, C. J., & Thompson, R. B. (2000). Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *The Journal of nutrition*, 130(5), 1471S-1483S.
- Gichner, T., Patková, Z., Száková, J., & Demnerová, K. (2004). Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 559(1-2), 49-57.
- Giugliano, R., & Millward, D. (1987). The effects of severe zinc deficiency on protein turnover in muscle and thymus. *British journal of nutrition*, 57(1), 139-155.
- Golf, S., Bender, S., & Grüttner, J. (1998). On the significance of magnesium in extreme physical stress. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 12(2), 197-202.
- Golub, M. (1964). An automated method for the determination of serum bilirubin. *Clinical chemistry*, 10(5), 399-405.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Goyer, R. A., & Clarkson, T. W. (1996). Toxic effects of metals. *Casarett & Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, Fifth Edition, Klaassen, CD [Ed]. McGraw-Hill Health Professions Division.*
- Gröber, U., Schmidt, J., & Kisters, K. (2015). Magnesium in prevention and therapy. *Nutrients*, 7(9), 8199-8226.
- Gürer, H., Özgünes, H., Neal, R., Spitz, D. R., & Erçal, N. (1998). Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicology*, 128(3), 181-189.
- Haber, L., Diamond, G., Zhao, Q., Erdreich, L., & Dourson, M. (2000). Hazard identification and dose response of ingested nickel-soluble salts. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31(2), 231-241.
- Harper, P. (1979). Myotonic dystrophy, major problems in neurology, Vol. 9: Saunders, Philadelphia.
- He, X., Lu, C.-Z., & Yuan, D.-Q. (2006). Two 3D porous cadmium tetrazolate frameworks with hexagonal tunnels. *Inorganic chemistry*, 45(15), 5760-5766.
- Hess, S. Y., & Brown, K. H. (2009). Impact of zinc fortification on zinc nutrition. *Food and nutrition bulletin*, 30(1_suppl1), S79-S107.
- Hill, T., Meunier, N., Andriollo-Sanchez, M., Ciarapica, D., Hininger-Favier, I., Polito, A., . . . Cashman, K. (2005). The relationship between the zinc nutritive status and biochemical markers of bone turnover in older European adults: the ZENITH study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(S2), S73.
- Hise, E., & Fulkerson, W. (1973). Chapter VI Environmental impact of cadmium flow in cadmium: the dissipated element. *Oak Ridge National Library.*
- Ho, E., Courtemanche, C., & Ames, B. N. (2003). Zinc deficiency induces oxidative DNA damage and increases p53 expression in human lung fibroblasts. *The Journal of nutrition*, 133(8), 2543-2548.
- Horiguchi, H. (2007). Anemia induced by cadmium intoxication. *Nihon eiseigaku zasshi. Japanese journal of hygiene*, 62(3), 888-904.
- Houeix, M. B.-R. D.-N., Lefèvre, C. H.-G. L.-J., Morin, S. L.-H. M.-A., Pichard, G. P.-A., & Gillet, L. C.-C. (2014). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *INERIS, Version N°3*, 21-22.
- Houlot, R. (1984). Techniques d'histologie et de cytologie. Paris: Edition Maloine human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186, 1-85.
- Hubert, N., & Hentze, M. W. (2002). Previously uncharacterized isoforms of divalent metal transporter (DMT)-1: implications for regulation and cellular function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(19), 12345-12350.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Ibiam, U., Ugwuji, E., Ejeogo, C., Aja, P., Afiukwa, C., & Oji, O. (2012). Hemoprotective and nephroprotective potentials of aqueous extract of *Jussiaea nervosa* leaf in cadmium exposed albino rats. *IOSR J Pharm Biol Sci*, 4(1), 48-53.
- Inskip, H., Beral, V., & McDowall, M. (1982). Mortality of Shipham residents: 40-year follow-up. *The Lancet*, 319(8277), 896-899.
- IZiNCG, I. Z. N. C. G. (2004). International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document# 1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull*, 25(1), S99-S203.
- Jacobs, R. M., Jones, A. L., Fox, M. S., & Lener, J. (1983). Effects of dietary zinc, manganese, and copper on tissue accumulation of cadmium by Japanese quail. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 172(1), 34-38.
- Jacquillet, G., Barbier, O., Cougnon, M., Tauc, M., Namorado, M., Martin, D., . . . Poujeol, P. (2006). Zinc protects renal function during cadmium intoxication in the rat. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 290(1), F127-F137.
- Jahnen-Dechent, W., & Ketteler, M. (2012). Magnesium basics. *Clinical kidney journal*, 5(Suppl_1), i3-i14.
- Jakubowski, M. (2001). Zinc and cadmium. *Patty's Toxicology 5ed*, 2, 253-325.
- Jamakala, O., & Rani, A. U. (2014). Mitigating role of zinc and iron against cadmium induced toxicity in liver and kidney of male albino rat: a study with reference to metallothionein quantification. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(9), 411-417.
- Järup, L., Persson, B., Edling, C., & Elinder, C. G. (1993). Renal function impairment in workers previously exposed to cadmium. *Nephron*, 64(1), 75-81.
- Jarup, L., Roggenfelt, A., Elinder, C. G., Nogawa, K., & Kjellstrom, T. (1983). Biological half-time of cadmium in the blood of workers after cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health*, 9(4), 327-331.
- Jin, T., Kong, Q., Ye, T., Wu, X., & Nordberg, G. F. (2004). Renal dysfunction of cadmium-exposed workers residing in a cadmium-polluted environment. *Biometals*, 17(5), 513-518.
- Jin, T., Nordberg, M., Frech, W., Dumont, X., Bernard, A., Ye, T.-t., . . . Lundström, N.-G. (2002). Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad). *Biometals*, 15(4), 397-410.
- Jumarie, C., Fortin, C., Houde, M., Campbell, P. G., & Denizeau, F. (2001). Cadmium uptake by Caco-2 cells: effects of Cd complexation by chloride, glutathione, and phytochelatin. *Toxicology and applied pharmacology*, 170(1), 29-38.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Juste, C., Chassin, P., Gomez, A., Linères, M., & Mocquot, B. (1995). *Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines*.
- Karmakar, R., Bhattacharya, R., & Chatterjee, M. (2000). Biochemical, haematological and histopathological study in relation to time-related cadmium-induced hepatotoxicity in mice. *Biometals*, 13(3), 231-239.
- King, J. C., Shames, D. M., & Woodhouse, L. R. (2000). Zinc homeostasis in humans. *The Journal of nutrition*, 130(5), 1360S-1366S.
- Kiss, T., & Osipenko, O. N. (1994). Toxic effects of heavy metals on ionic channels. *Pharmacological Reviews*, 46(3), 245-267.
- Kobayashi, E., Suwazono, Y., Dochi, M., Honda, R., Nishijo, M., Kido, T., & Nakagawa, H. (2008). Estimation of benchmark doses as threshold levels of urinary cadmium, based on excretion of β 2-microglobulin in cadmium-polluted and non-polluted regions in Japan. *Toxicology letters*, 179(2), 108-112.
- Kostić, M., Ognjanović, B., Dimitrijević, S., Zikić, R., Zsctajn, A., Rosić, G., & Zivković, R. (1993). Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: in vivo effects. *European journal of haematology*, 51(2), 86-92.
- Krim, M., Messaadia, A., Maida, I., Aouacheri, O., & Saka, S. (2013). *Protective effect of ginger against toxicity induced by chromate in rats*. Paper presented at the Annales de biologie clinique.
- Kulikowska-Karpinska, E., Wurm-Muszynska, R., Moniuszko-Jakoniuk, J., & Jurczuk, M. (1996). The effect of zinc on cadmium accumulation in selected tissues of experimental rats exposed to cadmium sulphate. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 29(3), 237-242.
- Ottawa, Canada C.F.R. (1994). Le cadmium et ses composés
- Labbé, D., Vassault, A., NICOLAS, A., THIOULOUSE, E., & TREPO, D. (1996). *Technique sélectionnée pour le dosage de la créatinine dans le plasma ou le sérum. Choix des conditions optimales de mesure*. Paper presented at the Annales de biologie clinique (Paris).
- Lafon.M-D. (2010). Valeur toxicologique de référence pour le cadmium et ses composés. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
- Lansdown, A. (1991). Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compounds. *Food and chemical toxicology*, 29(1), 57-64.
- Larregle, E. V., Varas, S. M., Oliveros, L. B., Martinez, L. D., Antón, R., Marchevsky, E., & Giménez, M. S. (2008). Lipid metabolism in liver of rat exposed to cadmium. *Food and chemical toxicology*, 46(5), 1786-1792.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Lauwerys, R. (2000). Principales substances inorganiques et organo-métalliques. *Toxicologie Industrielle et intoxications professionnelles*. Ed. Lauwerys, 131-328.
- Lauwerys, R., Bernard, A., Buchet, J.-P., Roels, H., Bruaux, P., Claeys, F., . . . Amery, A. (1991). Does Environmental Exposure to Cadmium Represent a Health Risk? Conclusions from the Cadmibel Study. *Acta Clinica Belgica*, 46(4), 219-225.
- Lauwerys, R., & De Wals, P. (1981). Environmental pollution by cadmium and mortality from renal diseases. *The Lancet*, 317(8216), 383.
- Lauwerys, R. R. (1990). *Cadmium*. Paris: Masson.
- Leslie, E. M., Deeley, R. G., & Cole, S. P. (2005). Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicology and applied pharmacology*, 204(3), 216-237.
- Levander, O. A. (1977). *Nutritional factors in relation to heavy metal toxicants*. Paper presented at the Federation proceedings.
- Levenson, C. W. (2006). Zinc: the new antidepressant? *Nutr Rev*, 64(1), 39-42. doi: 10.1111/j.1753-4887.2006.tb00171.x
- Liu, X., Jin, T., Nordberg, G., Rännar, S., Sjöström, M., & Zhou, Y. (1992). A multivariate study of protective effects of Zn and Cu against nephrotoxicity induced by cadmium metallothionein in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 114(2), 239-245.
- Mahran, A., Osman, H., El-Mawla, A., & Attia, A. (2011). Protective effect of zinc (Zn) on the histology and histochemistry of liver and kidney of albino rat treated with cadmium. *J Cytol Histol*, 2(4), 2-9.
- Martelli, A., Rousselet, E., Dycke, C., Bouron, A., & Moulis, J.-M. (2006). Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals. *Biochimie*, 88(11), 1807-1814.
- Martin, A., & Potier de Courcy, G. (2012). Besoins nutritionnels et apports conseillés pour la satisfaction de ces besoins. EMC. 10(308), 1-29.
- Massanyi, P., Toman, R., Valent, M., & Cupka, P. (1995). Evaluation of selected parameters of a metabolic profile and levels of cadmium in reproductive organs of rabbits after an experimental administration. *Acta Physiologica Hungarica*, 83(3), 267-273.
- Matović, V., Buha, A., Bulat, Z., & Đukić-Ćosić, D. (2011). Cadmium toxicity revisited: focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 62(1), 65-76.
- Matović, V., Buha, A., Bulat, Z., Đukić-Ćosić, D., Miljković, M., Ivanišević, J., & Kotur-Stevuljević, J. (2012). Route-dependent effects of cadmium/cadmium and magnesium acute treatment on parameters of oxidative stress in rat liver. *Food and chemical toxicology*, 50(3-4), 552-557.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Matović, V., Bulat, Z., Đukić-Ćosić, D., & Soldatović, D. (2011). Zinc, copper or magnesium supplementation against cadmium toxicity: an experimental study. *Biometals: Molecular Structures, Binding Properties and Applications*, 1-32.
- Matović, V., Bulat, Z. P., Djukić-Ćosić, D., & Soldatović, D. (2010). Antagonism between cadmium and magnesium: a possible role of magnesium in therapy of cadmium intoxication. *Magnesium research*, 23(1), 19-26.
- Maynaud, G. (2012). *Adaptation aux métaux lourds de populations de rhizobia impliquées dans la phytostabilisation de déblais miniers: Identification des mécanismes d'adaptation au Zn et au Cd, et structuration des populations de rhizobia adaptées aux sites miniers*. Montpellier 2.
- McCall, K. A., Huang, C.-c., & Fierke, C. A. (2000). Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *The Journal of nutrition*, 130(5), 1437S-1446S.
- MERICAM, P. (1979). MISE AU POINT SUR L'ETAT CHIMIQUE DES METAUX LOURDS DANS LES EAUX DOUCES NATURELLES ET L'EAU DE MER. II: ESPECES ORGANO-METALLIQUES COMMUNEMENT IMPLIQUEES.
- Miquel, G. (2001). Effet des métaux lourds sur l'environnement et la santé, rapport 261. *Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques*, 365.
- Misra, U. K., Gawdi, G., Akabani, G., & Pizzo, S. V. (2002). Cadmium-induced DNA synthesis and cell proliferation in macrophages: the role of intracellular calcium and signal transduction mechanisms. *Cellular signalling*, 14(4), 327-340.
- Montaigne, D., Perimenis, P., Douillard, C., Wemeau, J.-L., & Vantighem, M.-C. (2004). Les hypomagnésémies congénitales. *La Presse Médicale*, 33(19), 1341-1348.
- Murugavel, P., & Pari, L. (2007). Diallyl tetrasulfide protects cadmium-induced alterations in lipids and plasma lipoproteins in rats. *Nutrition research*, 27(6), 356-361.
- Navarro, D., Paz, P., Tugizov, S., Topp, K., La Vail, J., & Pereira, L. (1993). Glycoprotein B of human cytomegalovirus promotes virion penetration into cells, transmission of infection from cell to cell, and fusion of infected cells. *Virology*, 197(1), 143-158. doi: 10.1006/viro.1993.1575
- Navas-Acien, A., Tellez-Plaza, M., Guallar, E., Muntner, P., Silbergeld, E., Jaar, B., & Weaver, V. (2009). Blood cadmium and lead and chronic kidney disease in US adults: a joint analysis. *American journal of epidemiology*, 170(9), 1156-1164.
- Nawrot, T., Geusens, P., Nulens, T. S., & Nemery, B. (2010). Occupational cadmium exposure and calcium excretion, bone density, and osteoporosis in men. *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(6), 1441-1445.
- Nemliche, S., Chabane-Sari, D., & Guiraud, P. (2007). Role of α -tocopherol in cadmium-induced oxidative stress in Wistar rat's blood, liver and brain. *Chem Biol Interact*, 170(3), 221-230.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Nielson, K. B., & Winge, D. (1984). Preferential binding of copper to the beta domain of metallothionein. *Journal of Biological Chemistry*, 259(8), 4941-4946.
- Noël, L., Huynh-Delerme, C., Guérin, T., Huet, H., Frémy, J.-M., & Kolf-Clauw, M. (2006). Cadmium accumulation and interactions with zinc, copper, and manganese, analysed by ICP-MS in a long-term Caco-2 TC7 cell model. *Biometals*, 19(5), 473-481.
- Noonan, C. W., Sarasua, S. M., Campagna, D., Kathman, S. J., Lybarger, J. A., & Mueller, P. W. (2002). Effects of exposure to low levels of environmental cadmium on renal biomarkers. *Environmental Health Perspectives*, 110(2), 151-155.
- Nordberg, G. (1985). Kinetics and metabolism. *Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal.*, 103-178.
- Nriagu, J. O. (1980). Zinc in the Environment. Part I: Ecological Syclng. *JOHN WILEY & SONS, 605 THIRD AVENUE, NEW YORK, N. Y. 10016. 1980.*
- Nzengue, Y. (2008). *Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc: place des métallothionéines et de p53.* Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- Oh, S.-H., Choi, J.-E., & Lim, S.-C. (2006). Protection of betulin against cadmium-induced apoptosis in hepatoma cells. *Toxicology*, 220(1), 1-12.
- Olivi, L., Sisk, J., & Bressler, J. (2001). Involvement of DMT1 in uptake of Cd in MDCK cells: role of protein kinase C. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 281(3), C793-C800.
- Olsson, I.-M., Bensryd, I., Lundh, T., Ottosson, H., Skerfving, S., & Oskarsson, A. (2002). Cadmium in blood and urine--impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environmental Health Perspectives*, 110(12), 1185-1190.
- Oluwafemi, O., Basiru, A., Babatunji, O., & Adebola, O. (2014). Hematological Properties of Irvingia Gabonensis in Male Adult Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 8(18), 599-602.
- Omar, H. E.-D. M., Ibrahim, A. T., Magdy, M. A., & Ahmed, E. A. (2016). The protective effects of zinc and vitamin E supplementation against kidney toxicity by lithium in rats. *European Journal of Biological Research*, 6(1), 21-27.
- Palade, P., Dettbarn, C., Alderson, B., & Volpe, P. (1989). Pharmacologic differentiation between inositol-1, 4, 5-trisphosphate-induced Ca²⁺ release and Ca²⁺-or caffeine-induced Ca²⁺ release from intracellular membrane systems. *Molecular pharmacology*, 36(4), 673-680.
- Paprikar, M., & Sharma, B. (2003). Effect of oral administration of herbicide diclofop on some hematological parameters in mouse. *Journal of Cell and Tissue Research*, 3(1), 1.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Pari, L., & Murugavel, P. (2005). Role of diallyl tetrasulfide in ameliorating the cadmium induced biochemical changes in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 20(3), 493-500.
- Paulusma, C. C., Kool, M., Bosma, P. J., Scheffer, G. L., ter Borg, F., Scheper, R. J., . . . Elferink, R. O. (1997). A mutation in the human canalicular multispecific organic anion transporter gene causes the Dubin-Johnson syndrome. *Hepatology*, 25(6), 1539-1542.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 14(3), 149-167.
- Prasad, A. S. (1991). Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *The American journal of clinical nutrition*, 53(2), 403-412.
- Prasad, A. S. (2009). Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *Journal of the American College of Nutrition*, 28(3), 257-265.
- Prasad, A. S., Halsted, J. A., & Nadimi, M. (1961). Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *The American journal of medicine*, 31(4), 532-546.
- PRASAD, A. S., Miale Jr, A., Farid, Z., Sandstead, H., & Schulert, A. (1963). Zinc Metabolism in Patients with the Syndrome of Iron Deficiency Anemia, Hepatosplenomegaly, Dwarfism, and Hypogonadism. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61(4), 537-549.
- Price, D. J., & Joshi, J. (1983). Ferritin. Binding of beryllium and other divalent metal ions. *Journal of Biological Chemistry*, 258(18), 10873-10880.
- Rana, S. (1996). Protective effects of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury. *Indian J. Exp. Biol.*, 34, 177.
- Rana, S., Singh, R., & Verma, S. (1996). Protective effects of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury. *Indian Journal of Experimental Biology*, 34(2), 177-179.
- Rand, R. N., & di Pasqua, A. (1962). A new diazo method for the determination of bilirubin. *Clinical chemistry*, 8(6), 570-578.
- Raulin, J. (1869). Chemical studies on vegetation. *Annals of Science Nature*, 11, 93-99.
- Rignell-Hydbom, A., Skerfving, S., Lundh, T., Lindh, C., Elmståhl, S., Bjellerup, P., . . . Åkesson, A. (2009). Exposure to cadmium and persistent organochlorine pollutants and its association with bone mineral density and markers of bone metabolism on postmenopausal women. *Environmental research*, 109(8), 991-996.
- Robert, M. (1996). Le sol: interface dans l'environnement, ressource pour le développement.(eds Masson), pp. 241 Robert: M.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Rodier, J. (1984). L'analyse de l'eau; Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 7ème Edition, Ed. *Dunod, Paris*.
- Rodilla, V., Miles, A. T., Jenner, W., & Hawksworth, G. M. (1998). Exposure of cultured human proximal tubular cells to cadmium, mercury, zinc and bismuth: toxicity and metallothionein induction. *Chem Biol Interact*, *115*(1), 71-83.
- Roels, H. A., Lauwerys, R. R., Buchet, J.-P., & Bernard, A. (1981). Environmental exposure to cadmium and renal function of aged women in three areas of Belgium. *Environmental research*, *24*(1), 117-130.
- Roussel, A., & Hininger-Favier, I. (2009). Éléments-trace essentiels en nutrition humaine: chrome, sélénium, zinc et fer. *Endocrinologie Nutrition*, *10*, p16.
- Salgueiro, M., Weill, R., Zubillaga, M., Lysionek, A., Caro, R., Goldman, C., . . . Boccio, J. (2004). Zinc deficiency and growth. *Biological trace element research*, *99*(1-3), 49-69.
- Santon, A., Irato, P., Medici, V., D'Incà, R., Albergoni, V., & Sturniolo, G. C. (2003). Effect and possible role of Zn treatment in LEC rats, an animal model of Wilson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, *1637*(1), 91-97.
- Sarazin, M., Alexandre, C., & Thomas, T. (2000). Influence on bone metabolism of dietary trace elements, protein, fat, carbohydrates, and vitamins. *Joint, bone, spine: revue du rhumatisme*, *67*(5), 408-418.
- Satarug, S., & Moore, M. R. (2004). Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environmental Health Perspectives*, *112*(10), 1099-1103.
- Satarug, S., Nishijo, M., Lasker, J. M., Edwards, R. J., & Moore, M. R. (2006). Kidney dysfunction and hypertension: role for cadmium, p450 and heme oxygenases? *The Tohoku journal of experimental medicine*, *208*(3), 179-202.
- Schlegel, P. (2010). *Facteurs de variation de la biodisponibilité du zinc, ajouté sous forme organique ou inorganique, chez deux especes monogastriques en croissance (poulet et porcelet)*. Paris.
- Schutte, R., Nawrot, T., Richart, T., Thijs, L., Roels, H. A., Van Bortel, L. M., . . . Staessen, J. A. (2008). Arterial structure and function and environmental exposure to cadmium. *Occupational and environmental medicine*, *65*(6), 412-419.
- Schutte, R., Nawrot, T. S., Richart, T., Thijs, L., Vanderschueren, D., Kuznetsova, T., . . . Staessen, J. A. (2008). Bone resorption and environmental exposure to cadmium in women: a population study. *Environmental Health Perspectives*, *116*(6), 777-783.
- Searcy, R., Reardon, J., & Foreman, J. (1967). Enzymatic serum urea determination. *Am. J. Med. Technol*, *33*, 15-20.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Seidal, K., Jorgensen, N., Elinder, C. G., Sjogren, B., & Vahter, M. (1993). Fatal cadmium-induced pneumonitis. *Scand J Work Environ Health*, 19(6), 429-431.
- Seve M, F. A. (2002). Métabolisme du zinc. *Encyclopédie Médico-chirurgicale*(1155-1941), 19.
- SFSP. (1999 novembre 1999). L'incinération des déchets et la santé publique : bilan des connaissances récentes et évaluation du risque. *Société française de santé publique*, vol 7, pp. 65-68.
- Sidhu, P., Garg, M., & Dhawan, D. (2006). Zinc protects rat liver histo-architecture from detrimental effects of nickel. *Biometals*, 19(3), 301-313.
- Sigel, A., Sigel, H., & Sigel, R. K. (2013). *Cadmium: from toxicity to essentiality* (Vol. 11): Springer.
- Simons, J. (1995). Evaluation of nephrotoxicity of complex mixtures containing organics and metals: Advantage and disadvantages of the use of real-world complex mixtures. *Environ. Health Perspect.*, 103, 67-71.
- Slotkin, T. A., MacKillop, E. A., Ryde, I. T., Tate, C. A., & Seidler, F. J. (2007). Screening for developmental neurotoxicity using PC12 cells: comparisons of organophosphates with a carbamate, an organochlorine, and divalent nickel. *Environmental Health Perspectives*, 115(1), 93-101.
- Smialowicz, R. J., Rogers, R. R., Riddle, M. M., Luebke, R. W., Fogelson, L. D., & Rowe, D. G. (1987). Effects of manganese, calcium, magnesium, and zinc on nickel-induced suppression of murine natural killer cell activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 20(1-2), 67-80.
- Soldatovic, D., Vujanovic, D., Matovic, V., & Plamenac, Z. (1997). Compared effects of high oral Mg supplements and of EDTA chelating agent on chronic lead intoxication in rabbits. *Magnesium research*, 10(2), 127-133.
- SOLOMONS, N. W., & VITERI, F. E. (1982). Biological interaction of ascorbic acid and mineral nutrients: ACS Publications.
- Soltani, N., Keshavarz, M., Sohanaki, H., Dehpour, A. R., & Asl, S. Z. (2005). Oral magnesium administration prevents vascular complications in STZ-diabetic rats. *Life sciences*, 76(13), 1455-1464.
- Stipp, S. L., Hochella Jr, M. F., Parks, G. A., & Leckie, J. O. (1992). Cd²⁺ uptake by calcite, solid-state diffusion, and the formation of solid-solution: Interface processes observed with near-surface sensitive techniques (XPS, LEED, and AES). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 56(5), 1941-1954.
- Stohs, S. J., & Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med*, 18(2), 321-336.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Sugawara, N. (1977). Inhibitory effect of cadmium on calcium absorption from the rat duodenum. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 5(1), 167-175.
- Sunderman Jr, F. W., Kasprzak, K., Horak, E., Gitlitz, P., & Onkelinx, C. (1976). Effects of triethylenetetramine upon the metabolism and toxicity of $^{63}\text{NiCl}_2$ in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 38(1), 177-188.
- Suwazono, Y., Kobayashi, E., Okubo, Y., Nogawa, K., Kido, T., & Nakagawa, H. (2000). Renal effects of cadmium exposure in cadmium nonpolluted areas in Japan. *Environmental research*, 84(1), 44-55.
- Szuster-Ciesielska, A., Stachura, A., Słotwińska, M., Kamińska, T., Śnieżko, R., Paduch, R., . . . Kandefer-Szerszeń, M. (2000). The inhibitory effect of zinc on cadmium-induced cell apoptosis and reactive oxygen species (ROS) production in cell cultures. *Toxicology*, 145(2-3), 159-171.
- Tallkvist, J., Bowlus, C. L., & Lönnerdal, B. (2001). DMT1 gene expression and cadmium absorption in human absorptive enterocytes. *Toxicology letters*, 122(2), 171-177.
- Tandon, A., Nagpaul, J., Bandhu, H., Singh, N., & Dhawan, D. (1999). Effect of lithium on hepatic and serum elemental status under different dietary protein regimens. *Biological trace element research*, 68(1), 51-62.
- Tandon, S., Singh, S., Prasad, S., & Mathur, N. (2001). Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice. *Food and chemical toxicology*, 39(6), 571-577.
- Teeyakasem, W., Nishijo, M., Honda, R., Satarug, S., Swaddiwudhipong, W., & Ruangyuttikarn, W. (2007). Monitoring of cadmium toxicity in a Thai population with high-level environmental exposure. *Toxicology letters*, 169(3), 185-195.
- Tellez-Plaza, M., Navas-Acien, A., Crainiceanu, C. M., & Guallar, E. (2008). Cadmium exposure and hypertension in the 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Environmental Health Perspectives*, 116(1), 51-56.
- Tietz, N. (1999a). Text Book of Clinical Chemistry, 3rd eds. AACC. *Torosantucci AC, Bromuro P, Chiani FD, Bernardis F, Berti C, Galli F.*
- Tietz, N. (1999b). Text book of clinical chemistry, CA Burtis, ER Ashwood. *WB Saunders*, 282.
- Todd, W., Elvehjem, C., & Hart, E. (1933). Zinc in the nutrition of the rat. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 107(1), 146-156.
- Trinchella, F., Riggio, M., Filosa, S., Volpe, M. G., Parisi, E., & Scudiero, R. (2006). Cadmium distribution and metallothionein expression in lizard tissues following acute and chronic cadmium intoxication. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 144(3), 272-278.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Trinder, P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of clinical Biochemistry*, 6(1), 24-27.
- Trzcinka-Ochocka, M., Jakubowski, M., Razniewska, G., Halatek, T., & Gazewski, A. (2004). The effects of environmental cadmium exposure on kidney function: the possible influence of age. *Environmental research*, 95(2), 143-150.
- Trzcinka-Ochocka, M., Jakubowski, M., Szymczak, W., Janasik, B., & Brodzka, R. (2010). The effects of low environmental cadmium exposure on bone density. *Environmental research*, 110(3), 286-293.
- Tucker, H. F., & Salmon, W. (1955). Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 88(4), 613-616.
- Tung, J., Vitetta, E. S., Fleissner, E., & Boyse, E. A. (1975). Biochemical evidence linking the GIX thymocyte surface antigen to the gp69/71 envelope glycoprotein of murine leukemia virus. *The Journal of experimental medicine*, 141(1), 198-205.
- Uno, T., Kobayashi, E., Suwazono, Y., Okubo, Y., Miura, K., Sakata, K., . . . Nogawa, K. (2005). Health effects of cadmium exposure in the general environment in Japan with special reference to the lower limit of the benchmark dose as the threshold level of urinary cadmium. *Scand J Work Environ Health*, 31(4), 307-315.
- Uyanik, F., Eren, M., Atasever, A., Tuncoku, G., & Kolsiz, A. H. (2001). Changes in some biochemical parameters and organs of broilers exposed to cadmium and effect of zinc on cadmium induced alterations. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 56(4), 128-134.
- Vahter, M., Berglund, M., Nermell, B., & Åkesson, A. (1996). Bioavailability of cadmium from shellfish and mixed diet in women. *Toxicology and applied pharmacology*, 136(2), 332-341.
- Van Cappellen, P., Charlet, L., Stumm, W., & Wersin, P. (1993). A surface complexation model of the carbonate mineral-aqueous solution interface. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57(15), 3505-3518.
- Viaene, M., Roels, H., Leenders, J., De, M. G., Swerts, L., Lison, D., & Masschelein, R. (1999). Cadmium: a possible etiological factor in peripheral polyneuropathy. *Neurotoxicology*, 20(1), 7-16.
- Viala, S., Freche, M., & Lacout, J. (1998). *Preparation of a new organic-mineral composite: chitosan-hydroxyapatite*. Paper presented at the Annales de Chimie Science des Matériaux.
- Waalkers, M. P., Kasprzak, K. S., Ohshima, M., & Poirier, L. A. (1985). Protective effects of zinc acetate toward the toxicity of nickelous acetate in rats. *Toxicology*, 34(1), 29-41.
- Waalkes, M. P., & Diwan, B. A. (1999). Cadmium-induced inhibition of the growth and metastasis of human lung carcinoma xenografts: role of apoptosis. *Carcinogenesis*, 20(1), 65-70.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Wahlberg, J. E. (1977). Routine patch testing with cadmium chloride. *Contact Dermatitis*, 3(6), 293-296.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., & Beyersmann, D. (2003). Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*, 192(2-3), 95-117.
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The open-field test: a critical review. *Psychological bulletin*, 83(3), 482.
- Wang, Y., Fang, J., Leonard, S. S., & Rao, K. M. K. (2004). Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(11), 1434-1443.
- Washko, P. W., & Cousins, R. J. (1977). Role of dietary calcium and calcium binding protein in cadmium toxicity in rats. *The Journal of nutrition*, 107(5), 920-928.
- Wester, R. C., Maibach, H. I., Melendres, J., Sedik, L., Knaak, J., & Wang, R. (1992). In vivo and in vitro percutaneous absorption and skin evaporation of isofenphos in man. *Fundamental and Applied Toxicology*, 19(4), 521-526.
- Wisniewska-Knypl, J., Jablonska, J., & Myslak, Z. (1971). Binding of cadmium on metallothionein in man: an analysis of a fatal poisoning by cadmium iodide. *Arch Toxikol*, 28(1), 46-55.
- Yanai, J., Zhao, F.-J., McGrath, S. P., & Kosaki, T. (2006). Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environmental Pollution*, 139(1), 167-175.
- Zalups, R. K., & Ahmad, S. (2003). Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicology and applied pharmacology*, 186(3), 163-188.

ANNEX

Hepatoprotective effect of Zinc and Magnesium against subchronic Cadmium toxicity on biochemical, histopathological and neurobehavioral parameters in Wistar rats



Mohamed Kouadria ▪ Samir Djemli  ▪ Abdelkrim Tahraoui

M Kouadria ▪ S Djemli (Corresponding author) ▪ **A Tahraoui**

Applied Neuroendocrinology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar, Sidi Amar, Annaba, Algeria.

email: s_djemli@yahoo.fr

Received: October 10, 2019 ▪ Accepted: November 03, 2019 ▪ Published Online: November 18, 2019

Abstract The aim of this study was carried out to investigate the possible hepato protective effect of Zinc and Magnesium against subchronic cadmium toxicity on biochemical, histopathological and neurobehavioral parameters in Wistar rats during 90 days. Fourty Wistar rats, were randomly divided in four experimental group: 1, control only water; 2, water and oral administration (Cd); 3, (Cd+Mg) in water oral administration; 4, (Cd+Zn) in water oral administration. Zinc and Magnesium was used to reduce hepatotoxicity and neurobehavioral disorders induced by Cadmium in Wistar rats. The Cd-Zn and Cd-Mg groups received 10 mg/kg of ZnCl₂, 10 mg/kg of MgCl₂ added to drinking water. The Cd group received 15mg / kg of CdCl₂. Blood glucose level and body weight were measured every day. According to the results, which have been obtained. There was a reduction in body weight gain due to Cd group and an increase liver weight. The results indicated also changes in biochemical parameters, which are characterized by an increase in serum glucose, serum urea, serum creatinine, of animals contaminated with cadmium compared to the control animals. However, the supplementation of (Zn) and Mg combination improved some but not all the previous parameters. Moreover, the findings showed variation in hematological parameters of Cd treated animals. In other word, there was a rise in number of white cells, and reduction of red cells counts, hemoglobin concentration and hematocrit percentage, but all these parameters returned approximately to their normal values after combined Zn and Mg addition. The neurobehavioral test shows an increase in the number of cells crossed, the number of straightening in the test. Open field in the group exposed to Cd resulting in locomotors hyperactivity compared to the control and it is minimal in other groups treated with Zn and Mg. On the other hand, the elevated plus maze (EPM) revealed an increase of the time spent in the closed arms of the cadmium group compared to the control. The results clearly

showed also deteriorations of liver structure tissue in comparison with the controls, including extensive degeneration of hepatocytes with necrosis, inflammation, the presence of cellular debris within a central vein and cytological vacuolization. The present investigation indicated that Cd had toxicity effects on the previous mentioned parameters. However, the supplementation of combined Zn and Mg was ameliorated some of these parameters and reduced liver histological alterations caused by Cd toxicity.

Keywords: Cadmium, Zinc, Magnesium, subchronic, hepatoprotective, neurobehavioral

Introduction

Cadmium is a heavy metal, which is widely used in industry, affecting human health through occupational and environmental exposure (Bernard et al 1992; Andersen et al 2004). Studies have shown that exposure to cadmium causes hepatotoxicity and neurobehavioral parameters disorders, which is associated with cadmium toxicity in liver and also affects cell proliferation, differentiation, apoptosis and other cellular activities (Brzoska et al 2002).

Zinc is an essential trace element in men, relatively nontoxic (Santon et al 2003), ubiquitous in sub-cellular metabolism and essential component of catalytic sites of enzyme classification (Brzoska and Jakoniuk; Tandon et al 2001). It has been shown in men that zinc has an antioxidant effect and stabilizes cell membranes (Merali and Singhal 1976; Rogalska et al 2009).

Many studies have shown that zinc supplementation can reduce the absorption and accumulation of cadmium at the tissue level, and prevent its harmful actions (Bettger and Dell 1981; Cempel and Janicka 2002).

Studies have indicated that the use of elements such as zinc and magnesium prevents or reduces many toxic effects of

cadmium on various organs and tissues such as the liver, kidneys, skeleton, and blood (Dhawan and Goel 1996; Nepton et al 2005).

Magnesium, as an essential metal, is a vital cofactor to activate many enzyme systems in humans (Smialowicz et al 1987). Some evidence suggests that Mg modifies Cadmium absorption in the gastrointestinal system, and it reduces peripheral blood Cadmium (Soldatovic et al 1997; Matovic et al 2011).

It is an essential cofactor for activating many enzyme systems in humans, involved in the metabolism of carbohydrates, lipids, proteins and DNA, interacting directly with the substrate or the enzyme (Dhawan et al 1992; Comhair and Erzurum 2002).

In this study, we investigated the hepatoprotective potential of Zinc Chloride and Magnesium Chloride against subchronic Cadmium chloride oral administration toxicity and neurobehavioral disorders parameters in Wistar rats.

Materials and Methods

Chemicals

Cadmium chloride ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), zinc chloride (ZnCl_2), and magnesium chloride ($\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) were obtained from Acros Organics (New Jersey, USA). The kits for urea, glycemia, creatinine, and AST ALT were purchased from the Biopharm Company Algeria. All other reagents and chemicals were of analytical grade quality or higher purity.

Animals

Forty adult (10-week-old) male Wistar rats of initial body weight 200 ± 50 g were used in this study. The animals were housed in conventional conditions at a temperature of 25 ± 1 °C, with a relative humidity of 50 ± 10 % and a 12-h/ 12-h light/dark cycle. The rats were maintained on ad libitum diet and water throughout the experimental period. All experiments were performed in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications N°. 80–23), revised 1996.

Experimental protocol

The rats were randomly divided into four experimental groups of ten rats each. Control group received only drinking water, Cd group CdCl_2 was oral administration in drinking water at a dose of 15 mg/kg for 90 days. (Cd+Zn 15 mg/kg+10 mg/kg) were oral administration in drinking water, (Cd+Mg 15 mg/kg+10 mg/kg) were oral administration in drinking water respectively. Cd, Zn, and Mg doses were chosen based on available literature data (Silvina et al 2004; Nepton et al 2005; Hossam et al 2016).

Anesthesia and tissue sampling

All animals were anesthetized (ketamine to xylazine, 0.7 mg/kg) 24 h after the administration of the final

dose(s). The blood samples were collected from cardiac puncture. Animals were sacrificed by cervical dislocation and the rats' liver was removed. Serum samples were separated by using centrifugation at 2000 rpm for 20 min. Serum samples were used for biochemical analysis. The liver was weighed and was used for histological studies.

Preparation of tissue homogenate

Frozen tissue samples were quickly weighed and homogenized in phosphate buffer (100 mM) containing EDTA (1 mM; pH 7.4; 1:10 w/v) and then centrifuged ($12,000 \times g$, 30 min, 4 °C). The supernatant was used for biochemical analysis. All procedures were performed at 4 °C.

Biochemical analysis

Serum chemistry

The sample serums were used in the present study to estimate parameters related to liver function such as urea, creatinine, ALT, AST, glycemia and CBS. Serum levels of urea (ure, urease/glutamate dehydrogenase method), creatinine (cre, kinetic jaffe method), were measured by commercial laboratory kits in a fully automated analyzer, Hitachi 902 (Tokyo, Japan) (Kaplan 1984; Murry 1984).

Neurobehavioral tests

Open field test

Hall (1934) proposes the use of a locomotion index as an index of reactivity. Emotional seems problematic, especially during the first test session. Indeed, animals can show high locomotion for the purpose of exploring the device, which would show a low emotional reactivity, but also in order to seek an escape from the device, which would indicate a strong reaction emotional (Soubrié 1971).

The device used is a plastic enclosure in the form of a 70 cm square and 30 cm high. It is divided into two parts: a peripheral part and a central part (Thèse de Doctorat 2002).

The locomotion in the open field was evaluated by raising the index of locomotion in the peripheral part as well as in the central part as a function of time. These two indices cumulative gives us the total locomotion index in the device (Treit et al 1996; Thèse de Doctorat 2002). This test lasted 5 minutes.

Elevated plus maze test (EPM)

The second device we chose to use is the plus maze test. In 1955, Montgomery described the rodents' aversion to empty spaces and height during the free exploration session from a familiar environment (Montgomery 1955).

The device is cross-shaped and elevated to a height of 60 cm on the floor. He consists of a central part (10×10 cm), two open arms (50×10 cm) without walls, and the other two arms are closed by walls ($50 \times 10 \times 30$ cm) that are

opposed two by two, the whole is made of wood. Opaque plastic edges with a height of 0.5 cm are attached to the open arms to facilitate entry (Dawson et al 1995) and to allow animals to grip in case of imbalance.

Given the aversion of rodents for empty spaces and height, the open arms of the device are more anxiety provoking than the closed arms. Thus, the principle of the test is based on the conflict of approach / avoidance of the open arms: an animal that explores the open arms will be described as being "not very anxious" and an animal that remains confined in the closed arms of the device will be described as being "Anxious" (Djemli et al 2015).

The test lasts 5 minutes and begins when the rat is placed in the center of the plus maze, facing an open arm to increase the latency of the first entry into an arm, but also the number of entry into the arm thereafter.

Histological studies

The liver tissues were fixed in 10 % buffered formalin, were embedded in paraffin, and were sectioned at a thickness of 7 µm. The sections were stained with hematoxylin and eosin stain according to Drury and Wallington (1980).

Statistical analysis

For statistical analysis, Graph Pad Prism statistics software (version 6) was used. The results of all measurements are presented as mean ± SD for ten results. Statistical evaluation of the data was performed using a one-way analysis of variance (ANOVA), when the analysis indicated that a significant difference occurred, the experimental groups were compared by post hoc Fisher’s least significant difference (LSD) test. *P* values less than 0.05 were considered to indicate significant differences between the groups.

Results

Body and liver Weight

Body weight was significantly reduced 218g and liver weight was markedly increasing 12.1 in the Cd group when compared with the control group. Body weight was slightly improved after coadministration of 10 mg/kg Zn or Mg mg/kg for 90 days as compared to Cd group. Moreover, administration of Zn or Mg during subchronic Cd intoxication caused a significant decrease in liver damage in comparison with the Cd group. However, a statistically significant reduction in body weight gain was observed in 10 mg/kg and 10 mg/kg Mg treated group in comparison to Cd and control groups. (Table1).

Effects on biochemical parameters

Creatinine

Our results show a very highly significant (*P* < 0.001) increase in serum creatinine concentration in the Cd-contaminated lot compared with controls. While in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-infected and Mg-treated rats, we notice a decrease in serum creatinine compared with Cd. (Figure 1).

Urea

Our results show a highly significant (*P* < 0.01) increase in serum urea concentration in the Cd-contaminated lot compared with controls. While in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-infected and Mg-treated rats we notice a decrease in serum urea concentration compared with Cd. (Figure 2).

Table 1 The body and liver weight of rats exposed for 90 days to Cd, Cd + Zn, Cd + Mg.

Groups	Initial Body weight	Final body weight	Liver weight
Control	245.00 ± 14.35	280.00 ± 13.44	9.10 ± 0.36
(Cd) 15 mg/kg	240.00 ± 34.12	218.00 ± 34.31 ^{a**}	12.1 ± 0.08 ^{a**}
(Cd + Zn) 10 mg/kg	236.00 ± 40.65	260.30 ± 41.29 ^{b**}	8.90 ± 0.24 ^{b**}
(Cd + Mg) 10 mg/kg	234.00 ± 16.42	252.00 ± 15.39 ^{a*b*}	8.87 ± 0.29 ^{b**}

Variation in body and liver weight gain in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Mg-treated and Cd-contaminated rats (n = 5). Values are expressed as mean ± SEM (**P* < 0.05; ***P* < 0.01; ****P* < 0.001).

Blood glucose level

Our results show a very highly significant (*P* < 0.001) increase in serum glucose concentration in the Cd-contaminated lot compared with controls. While in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated and

Mg-treated rats we do not notice a significant change in serum glucose concentration compared to controls. (Figure 3).

ALT and AST

The enzymatic activity of alanine aminotransferase (GOT), the results reveal a very highly significant increase (*P*

< 0.001) in the Cd-contaminated lot compared with controls. On the other hand, in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated and Mg-treated rats, we observe a decrease in the enzymatic activity of alanine aminotransferase (GOT) compared with Cd (Figure 4).

The enzymatic activity of aspartate aminotransferase (GPT), the results obtained reveal a very highly significant

increase ($P < 0.001$) in the batch contaminated with Cd compared to controls. On the other hand, in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated and Mg-treated rats, we notice a decrease in enzymatic activity of aspartate aminotransferase (GPT) compared with Cd (Figure 5).

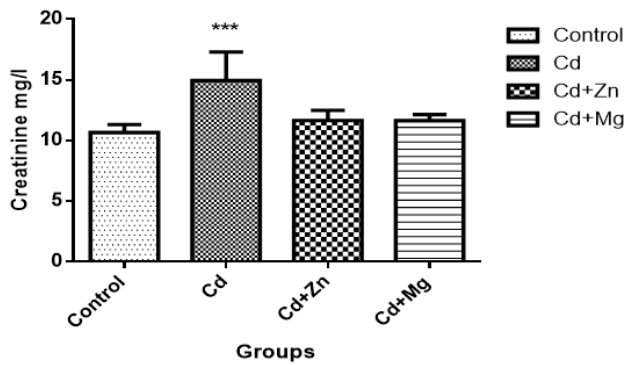


Figure 1 Serum creatinine concentration in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Cd-contaminated rats (n = 10). Values are expressed as mean ± SEM (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

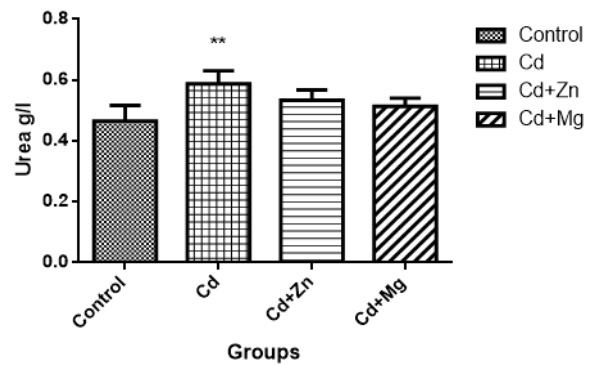


Figure 2 Serum urea concentration in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Cd-contaminated rats (n = 10). Values are expressed as mean ± SEM (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

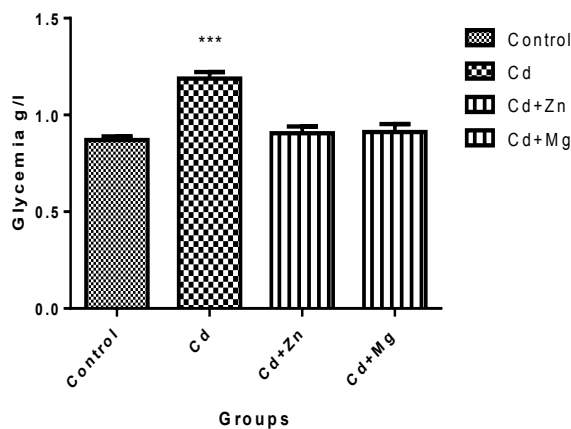


Figure 3 Serum glucose concentration in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Cd-contaminated rats (n = 10). Values are expressed as mean ± SEM (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$).

Effects on hematological parameters

The results show a very highly significant increase ($P < 0.001$) of white blood cells in a Cd-contaminated batch compared to the control group, whereas in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-infected rats and treated in Mg we notice a decrease in white blood cell levels compared to Cd

which confirms the beneficial effect of these two antioxidants (Zn and Mg) against the toxicity of Cd.

Regarding the rate of red blood cells we noticed a very highly significant decrease ($P < 0.001$) in Cd-contaminated batch compared to the control group, while in the Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated rats and treated with Mg we notice an increase in the rate of red blood cells compared to Cd which confirms the beneficial effect of these two antioxidants (Zn and Mg) against the toxicity of Cd.

A very highly significant ($P < 0.001$) decrease in hematocrit (HCT) in the Cd-contaminated lot compared to the control group, whereas in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated rats and treated with Mg we notice an increase in hematocrit (HCT) relative to Cd which confirms the beneficial effect of these two antioxidants (Zn and Mg) against the toxicity of Cd.

A very highly significant ($P < 0.001$) decrease in hemoglobin (Hb) in the Cd-contaminated lot compared to the control group, whereas in Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated rats and treated with Mg we notice an increase in hematocrit (HCT) relative to Cd which confirms the beneficial effect of these two antioxidants (Zn and Mg) against the toxicity of Cd. (Figure 6).

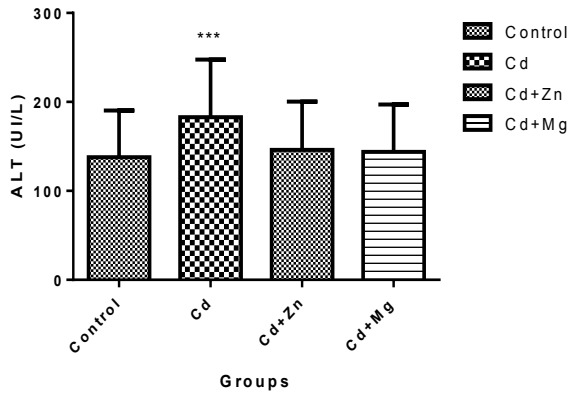


Figure 4 The enzymatic activity of alanine aminotransferase (ALT) in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Mg-treated and Cd-contaminated rats (n = 10). Values are expressed as mean ± SEM (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

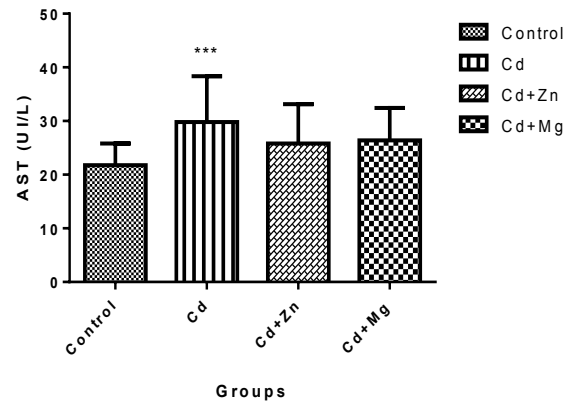


Figure 5 The enzymatic activity of aspartate aminotransferase (TGP) in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Mg-treated and Cd-contaminated rats (n = 10). Values are expressed as mean ± SEM (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

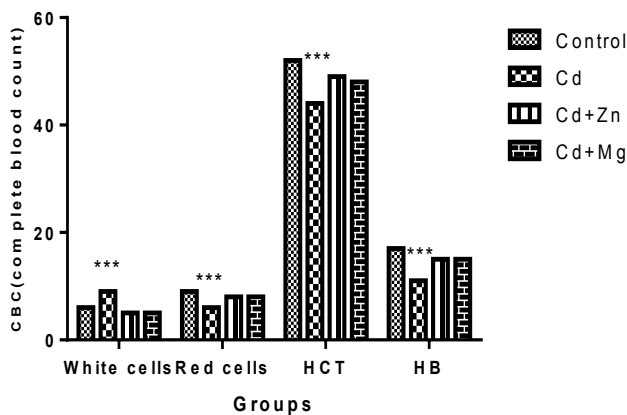


Figure 6 Number of white blood cells, red blood cells, hematocrit and hemoglobin levels in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated, Mg-treated and Cd-contaminated rats (n = 5). Values are expressed as mean ± SEM (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

Effects on neurobehavioral parameters

Open field test

The results of the open field test show a very highly significant increase (P < 0.001) in the number of cells crossed in the Cd-contaminated lot compared to the control group, whereas there is no significant change in the number of cells crossed. In Cd-contaminated rats treated with Zn and Md-treated and Mg-treated rats compared to controls.

A very highly significant increase (P < 0.001) in the number of remedies in the Cd-contaminated lot compared with the control group, whereas there was no significant change in the number of cells crossed than in the Cd-contaminated rats treated with Zn and Cd-contaminated and Mg-treated rats compared to controls.

There was no significant change in the number of visits to the center in the Cd-contaminated lot compared to the control group, the same for the Cd-contaminated rats treated with Zn and the Cd-contaminated and Mg-treated rats compared to the controls.

Finally, there is a highly significant (P < 0.01) increase in the latency time in the Cd-contaminated batch compared to the control group, whereas there is no significant change in the number of cells crossed than in the Cd-contaminated rats treated. Zn and Cd-infected and Mg-treated rats compared to controls. (Figure 7).

Elevated Plus maze test (EPM)

Based on our results, there was a very highly significant (P < 0.001) increase in the number of closed arms entering the Cd-contaminated group compared with the control group. On the other hand, there was no significant change in the number of cells crossed than in the Cd-contaminated rats treated with Zn and the Cd-contaminated and Mg-treated rats compared to the controls.

No significant change in the number of open arms entered in the Cd-contaminated lot compared to the control group. While there was no significant change in the number of open arms in Cd-treated and Zn-treated rats and Md-treated and Mg-treated rats compared to controls.

There was also a very highly significant (P < 0.001) increase in closed-arm time in the Cd-contaminated lot compared with the control group, but no significant change in closed-arm time in contaminated rats. Cd and treated with Zn and Cd-infected and Mg-treated rats compared to controls. (Figure 8).

Histological Study

The normal microscopic architecture of the liver control is composed of hexagonal lobules and acini.

Hexagonal lobules are centered on the central vein (CV) and have a portal triad containing branches of the portal vein, hepatic artery and bile duct. (Figure 9 A) After administration of Cd at 15 mg/kg, liver sections revealed mild congestion of the CV and mild disorganization of hepatic cords, additionally, fusions of the portal triad were observed, indicating severe destruction of nearby hepatic lobules and necrosis (Figure 9 B). Liver sections from treatment with Zn and MG at dose of 10 mg/kg exhibited mild to moderate congestion of the hepatic artery, sinusoids and portal vein, with dilatation of the PV and moderate disorganization of hepatic cords (Figure 9 C).

Discussion

Many studies have shown that most heavy metals such as cadmium, vanadium, lead, nickel, arsenic, cobalt and others are considered toxic agents, disrupting certain enzymatic systems and also the metabolic activities in humans and animals (Who 1992). Moreover, the toxicity of a metal for an organism can be modified by prior, simultaneous, or consecutive exposure to trace elements (zinc, magnesium, selenium, etc.) or vitamins (vitamin C, vitamin E, etc.).

We have attempted in this study to evaluate the impact of a toxic pollutant (cadmium) on Wistar rats. But our

attention will be focused on the possible protective action of the combination of zinc and magnesium against the toxic effects of cadmium. For a better understanding of the biochemical, hematological, neurobehavioral and histological mechanisms involved. The results obtained are analyzed and discussed according to works reported in several bibliographies.

Our study shows that exposure to cadmium chloride (15 mg /kg for 90 days) affected the body weight of rats; indeed, we noticed a decrease in the growth of cadmium-contaminated rats compared to controls. (Solomons et al 1982; Erdogan et al 2005). This may be the result of elevated lipid and protein degeneration caused by cadmium (Sugiwarra 1977). On the other hand, cadmium reacts with several nutrients. Cadmium affects the metabolism or tissue concentrations of several important elements in bone metabolism in mammals: copper, manganese, magnesium, calcium and zinc. (Washko and Cousins 1977).

Concerning the weight of the organs we notice an increase in weight of the liver in the rats contaminated with nickel. This is explained, on the one hand, by the tissue hypertrophy of the liver caused by this metal and on the other hand, by the intense accumulation of this metal in this target organ to heavy metals.

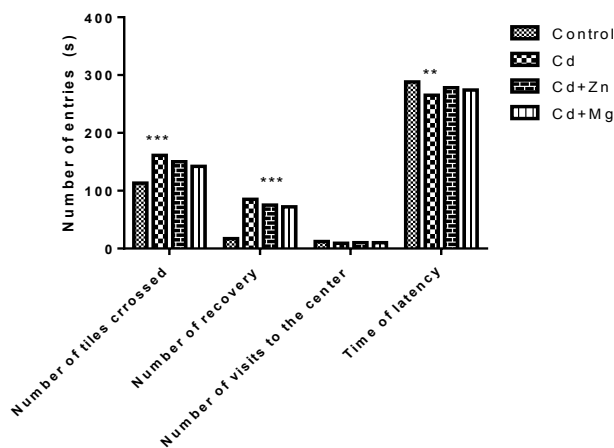


Figure 7 Open field test in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Cd-contaminated rats (n = 5). Values are expressed as mean ± SEM (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

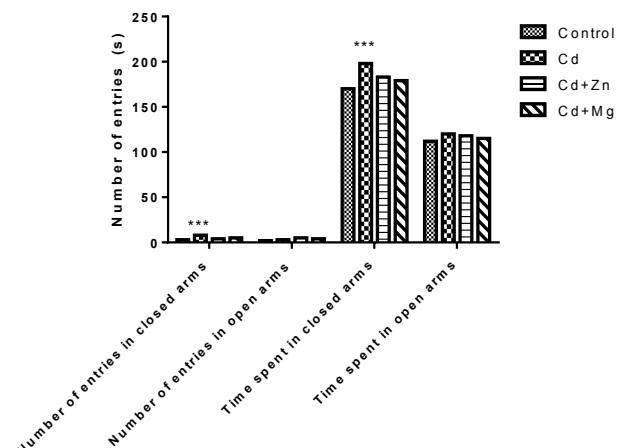


Figure 8 The elevated plus maze test in control, Cd-contaminated, Zn-treated, Cd-contaminated and Cd-contaminated rats (n = 5). Values are expressed as mean ± SEM (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

Simons et al (1995) reported that the increase in liver weights of animals is indicative of the toxicity of the substances used. Our results are consistent with the bibliographic data (Simons et al 1995; Rana et al 1996).

In contrast, the treatment of cadmium-contaminated rats treated with zinc and magnesium resulted in an improvement in body weight and liver weight due to the protective effect of zinc and magnesium against the toxicity of cadmium.

The analysis of the results also showed a higher increase in serum glucose concentration in the cadmium-treated rats. This hyperglycemia is caused by the toxicity of cadmium and is probably due to the toxic action of this metal on the secretory activity of the pituitary gland. It acts by direct inhibition of insulin production by islets of Langerhans (Massanyi et al 1995; Ambali et al 2011) or it blocks the use of glucose by cells and leads to the presence of a high concentration of insulin (Dormer et al 1976) or due to

disruption in glucagon secretion and leads to high glycogen breakdown, offers new glucose production from other non-carbohydrate sources such as proteins (Sunderman et al 1996).

Treatment with zinc and magnesium will improve glucose concentration in nickel-contaminated rats and this suggests that zinc supplementation will cause a decrease in cadmium effect in salt binding to biomolecules as well as improved insulin secretion by reducing glucose accumulation. Zinc protects enzymes and ATP involved in glucose metabolism. While magnesium could alter insulin receptors in muscle and adipose tissue by increasing the permeability of the membrane to improve glucose uptake (Rana et al 1996).

The increase in serum urea and creatinine levels in cadmium-contaminated rats is considered a biomarker of hepatic and renal dysfunction and hepatic damage caused by this metal. Urea and creatinine are essential parameters for assessing hepatic and renal function and glomerular filtration (Finco et al 1997).

Our results show an increase in the enzymatic activity of transaminases (AST, ALT), in the serum of cadmium-contaminated rats. The increase in these enzymes indicates hepatic injury and is explained by the leakage of enzymes from the tissue to the plasma due to the alteration of the membrane permeability (Noel et al 2006; Matovic et al 2011).

Treatment with zinc and magnesium enhanced the activity of transaminase enzymes AST, ALT in cadmium-contaminated rats. These antioxidants can stabilize the hepatic cell membrane and protect hepatocytes from the toxic effects of cadmium that can decrease enzyme leakage to plasma. (Uyanik et al 2001; Pari and Murugavel 2005; Djemli et al 2012).

Cadmium can also cause situations of anemias that are more or less important. Thus, it appears that the presence of cadmium in cells causes an overall imbalance in essential metals such as iron (Kostic et al 1993).

The analysis of our results showed that cadmium contamination of the rats caused a significant decrease in red blood cells, hemoglobin and hematocrit. From these results it can be said that cadmium has caused anemia (Matovic et al 2004).

This anemia is due on the one hand; to the effects of free radicals generated by cadmium on red blood cells, or certain free radicals such as: O_2^- and OH^- are highly reactive species capable of causing cellular damage through the peroxidation of membrane lipids, moreover in the presence high concentrations of these radicals; hemoglobin can readily oxidize (Gurer et al 1998). These results are consistent with the studies (Santon et al 2003; Sameeh et al 2009).

In contrast, there was a clear increase in white blood cells in cadmium-contaminated rats compared with controls. This increase explains that the animal mobilizes all these defense capacities (in particular leucocytes) to fight against the infectious diseases caused by the presence of xenobiotics

in its organism (Sidhu et al 2003). This confirms the importance of white blood cells in the immune defense against toxins.

However, this anemia is corrected in groups treated with Zinc and magnesium after 90 days of treatment; which further demonstrates the cytotoxic effect of cadmium (Brzoska and Jakoniuk 2000).

We have chosen a battery of neurobehavioral tests to assess the state of depression, anxiety, locomotor activity and a blood glucose test since it is a good indicator stress. These tests were performed to estimate the state of stress in Wistar rats exposed to cadmium compared to controls.

Regarding the open field test the results noted clearly show that oral administration of cadmium showed a very high increase significantly in the number of cells crossed and the number of recovery, which reveals a locomotor hyperactivity in poisoned rats compared to non-intoxicated rats.

This increase in exploration is explained by the action of heavy metals (cadmium) on the dopaminergic system which results in an increase in synthesis, release of the neurotransmitter and hyperfunctioning postsynaptic receivers (Nic et al 2003).

On the other hand, in groups treated with zinc and magnesium we noticed a decrease in the number of cells crossed and the number of recovery this is due to the beneficial and antioxidant power of zinc and magnesium which are trace elements that enter the development of the nervous system and transmission of synaptic signals (Golf et al 1998; Cernaki et al 2000).

Furthermore, we examined the action of cadmium orally on Wistar rats during the most maze test, we noticed a very highly significant increase in the number of entries in the closed arms and the time spent in the closed arms. This is explained by the anxious and depressive state caused by cadmium in Wistar rats.

The plus maze test is one of the most popular behavior patterns for anxiety, the increase in the number of entries and the time spent in the open arms are considered to be the most representative indices of anxiolytic activity.

In this device, the rats prefer to spend much of their time in the closed arms; this behavior seems to reflect an aversion to open arms that is generated by the fear of open spaces. Drugs that increase open-arm exploration are considered anxiolytics and the opposite is true for anxiogens (Slotkin et al 2007; Kouadria et al 2019).

Unlike the cadmium group, lots Cd + Zn and Cd + Mg, show some improvement and decrease in the number of entries in the closed arms, the time spent in closed arms this is explained by the antioxidant capacities of zinc and magnesium to reduce the effect of cadmium on the nervous system by reinforcing dopaminergic and serotonergic transmission in Wistar rats (Dawson et al 1995; Fraia et al 2015).

The observation of the histological sections that we have carried out reveals that the toxicity of cadmium was manifested by tissue damage to the liver. These alterations are induced, during an oxidative stress, by the increase of the lipid peroxidation. This results in the activation of cellular inflammations and degradation of lipid products. (Rana et al 1996; Kusal et al 2001; Nemmiche et al 2007).

The administration of zinc and magnesium to cadmium resulted in the normalization of liver histology quite substantially. Such beneficial effects of zinc and magnesium in the liver by regulating the levels of different enzymes also have been observed by us earlier while evaluating its potential in nickel toxicity (Tandon et al 1999; Sidhu et al 2006).

Many studies have shown that free oxygen radicals are at the origin of these alterations (Obaiah and Rani 2014). Indeed, these radicals can diffuse into the cytoplasm and across the membranes, to attack cellular components far from their production site or to reach other cells (Waalkes et al 1985).

The attack of the organic components of the cells (lipids, proteins or carbohydrates) allows the transmission of the radical character and thus triggers severe pathologies up to the death of the animals (Mahran et al 2011). It has been reported that subchronic oral exposure of nickel leads to multiple liver necrosis associated with changes in ultrastructure and hepatic changes (Bulat et al 2008; El Refaiy and Eissa 2012).

Although the lamellar model of hepatocytes has been restored to almost normal in zinc treated and magnesium groups, it can be attributed to the ability of zinc and magnesium to reduce the threat of oxygen radicals which leads to the reduction of pathological change (Djukic et al 2007). The zinc and magnesium provides protection against cadmium induced oxidative stress and toxicity in the liver and kidney tissues. It may be concluded that the mixture of Zn and Mg supplementation was more beneficial against subchronic toxicity of cadmium. (Bulat et al 2008).

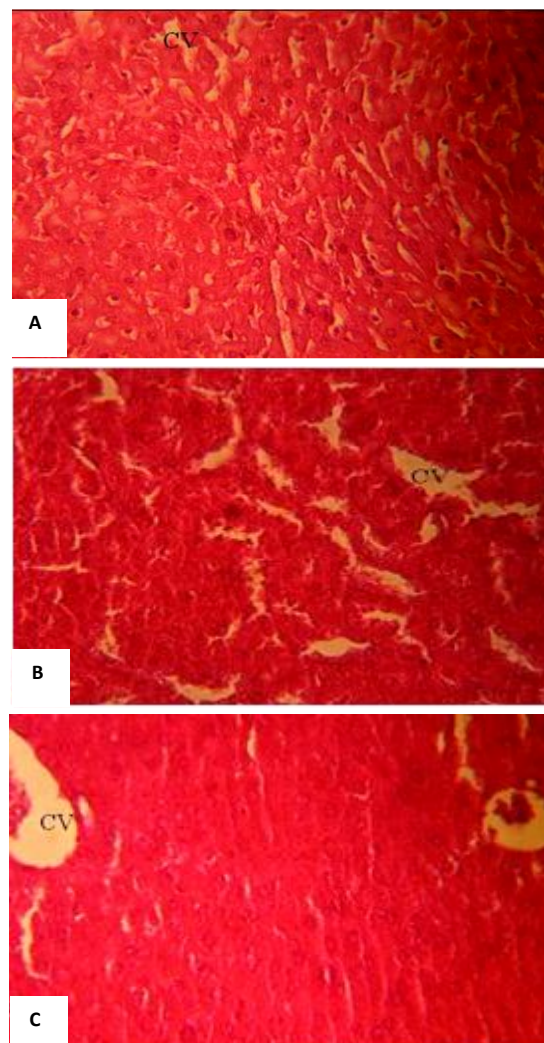


Figure 9 Histological section of the liver of control rats (A), liver of rats treated with Cadmium chloride showing different types of alterations (B) and liver of rats treated with the combination (Cd+Zn, Cd+Mg) (C). (Coloring: hematoxylin-eosin Gr: $\times 400$); CV: Centrlobular vein.

Conclusions

In conclusion, the present study demonstrated that cadmium is a toxic element that causes damages to the liver and neurobehavioral disorders in nervous system (stress and anxiety). Zinc and magnesium have been proven to have protective roles against cadmium toxic effects. The results obtained in the present study showed that zinc or magnesium had nearly the same protective effects against cadmium liver injury. These results suggest that beneficial effects of oral administration of zinc and magnesium. On the other hand, further studies are necessary to explain other possible protective effects of zinc and magnesium in subjects exposed to cadmium and uses other neurobehavioral tests (Forced swimming test) other organs like brain, kidney and testis.

Acknowledgements

This research work is financially supported by Ministry of Higher Education and scientific research of Algeria. We wish to acknowledge Pr. Abdelkrim Tahraoui head of Applied Neuroendocrinology laboratory Departement of Biology University Badji Mokhtar, Annaba, Algeria, for his help support and encouragement.

Conflict of Interest

The author declare no conflict of interest.

References

- Ambali SF, Shuaib K, Edeh R, Orijei BC, Shittu M, Akande M (2011) Hyperglycemia induced by subchronic co-administration of chlorpyrifos and lead in Wistar rats: Role of pancreatic lipoperoxidation and alleviating effect of vitamin C. *Biology and Medicine* 3:6-14.
- Andersen O, Nielsen JB, Nordberg GF (2004) Nutritional interactions in intestinal cadmium uptake-possibilities for risk reduction. *Biometals* 17:543-7.
- Bernard A, Roels H, Buchet JP, Cardenas A, Lauwerys R (1992) Cadmium and health: the Belgian experience. IARC Scientific Publications 118:15-33
- Bettger JW and Dell BL (1981) Critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sci* 28:1425-1438.
- Brzoska M, Moniuszko-Jakoniuk J (2000) Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food Chem Toxicol* 39:967-80.
- Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Piłat-Marcinkiewicz B, Sawicki B (2002) Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol Alcohol* 38:2-10.
- Bulat ZP, Djukić-Cosić D, Malicević Z, Bulat P, Matović V (2008) Zinc or magnesium supplementation modulates Cd intoxication in blood, kidney, spleen, and bone of rabbits. *Biol Trace Elem Res* 124:110-114
- Cempel M and Janicka K (2002) Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after oral administration of nickel (II) chloride. *Biol Trace Elem Res* 90:215-226.
- Cernaki Savic V, Kotur J, Prokic CV, Kuljic BD, Grbovic Veljovic M (2000) Alterations in magnesium and oxidative status during chronic emotional stress. *Magnesium Research* 13:29-36.
- Comhair SA and Erzurum SC (2002) Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283:246-255.
- Contribution à l'étude de conduites émotionnelles chez le rat: Utilisation du handling postnatal et de l'approche éthoexpérimental du comportement (2002) Thèse de doctorat, Université de Rouen, France.
- Dawson GR, Crawford SP, Collinson N, Iverson SD and Tricklebank MD (1995) Evidence that the anxiolytic-like effects of chlordiazepoxide on the elevated plus maze are confounded by increases in locomotor activity. *Psychopharmacology* 118:316-323.
- Dhawan D and Goel A (1996) Further evidence for zinc as a hepatoprotective agent in rat liver toxicity. *Exp Mol Pathol* 63:110-117.
- Dhawan D, Goel A, Gautam CS (1992) Effects of zinc intake on liver enzymes in carbontetrachloride induced liver injury. *Med Sci Res* 20:55-56.
- Djemli S, Fraia A, Frih H, Bachir A, Zaafour M and Djenidi R (2015) Neurobehavioral Effects of Dexamethasone (Inhibition of Adrenal Axis) in Male Mice *Mus musculus*. *Global Veterinaria* 15:545-553.
- Djemli S, Zine Kechrid Z, Djabar MR (2010) Combined protective effect of zinc and vitamin C on nickel-induced oxidative liver injury in rats. *Scholar Research Library: Annals of Biological Research* 3:3278-3286.
- Djukić-Cosić D, Ninković M, Malicević Z, Matović V, Soldatović D (2007) Effect of magnesium pretreatment on reduced glutathione levels in tissues of mice exposed to acute and subacute cadmium intoxication: a time course study. *Magnes Res* 20:177-186.
- Dormer RL, Kerbey AL, McPherson M, Manley S, Ashcroft JH, Schofield JG, Randle PJ (1976) The effect of nickel on secretory systems: Studies on the release of amylase, insulin and growth hormone. *Biochemistry* 140:135-140.
- Drury RA, Wallington EA (1980) Carletons histological techniques. Oxford University Press, London, New York Toronto.
- El-Refaiy AI, Eissa FI (2012) Protective effects of ascorbic acid and zinc against cadmium-induced histopathological, histochemical, and cytogenetic changes in rats. *Comunicata Scientiae* 3:162-180.
- Erdogan Z, Erdogan S, Celik S, Unlu V (2005) Effects of ascorbic acid on cadmium-induced oxidative stress and performance of broilers. *Biol Trace Elem Res* 104:19-31.
- Finco DR, Kamekeo JJ, Harvey JW, Bruce ML (1997) Kidney functions in Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic press, San Diego, California. pp. 462-478.
- Fraia A, B Ali Rachedi, S Zouiche, S. Djemli and H. Frih (2015) Polyphenon E Could Improve Negative Disorders Changes Caused by Chronic Mild Stress in Male, Wistar Rats. *Global Veterinaria* 4:478-489.
- Golf SW, Bender S, Gruttner J (1998) The significance of magnesium in extreme physical stress. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 12:197-202.
- Gurer H, Ozunes H, Neal R, Spitz DR, Ercal N (1998) Antioxidants effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead exposed rats. *Toxicology* 120:181-189.

- Hossam El Din Omar, Ahmed Ibrahim, Marwa Magdy, Emad Ahmed (2016) The protective effects of zinc and vitamin E supplementation against kidney toxicity by lithium in rats. *European Journal of Biological Research* 6:21-27.
- Kaplan A (1984) Glucose. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp 1032-1036.
- Kaplan A (1984) Urea. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp 1257-1260.
- Kostic MM, Ognjanovic B, Dimitrijevic S, Zikic RV, Stajnosic GL, Zivkovic, RV (1993) Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: *in vivo* effects. *Eur. J. Haematol* 51:86-92.
- Kusal KD, Swastika ND, Shakuptala D (2001) The influence of ascorbic acid on nickel induced hepatic lipid peroxidation in rats. *Basic Clin Physiol Pharmacol* 12:187-195.
- M Kouadria, S Djemli, A Tahraoui (2019) The protective effect of Zinc and Magnesium against subchronic Cadmium toxicity in Wistar rats (Biochemical and neurobehavioral effects). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 12:217-225.
- Mahran AA, Osman HEH, El-Mawla AMAA, Attia AM (2011) Protective effect of zinc (Zn) on the histology and histochemistry of liver and kidney of albino rat treated with cadmium. *J Cytol Histol* 2:2-9.
- Massanyi P, Toman R, Valent M, Cupka P (1995) Evaluation of selected parameters of a metabolic profile and levels of cadmium in reproductive organs of rabbits after an experimental administration. *Acta Physiologica and Hung* 83:267–273.
- Matović V, Buha A, Bulat Z, Đukić-Ćosić D (2011) Cadmium toxicity revisited: focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium. *Arhiv za higijenu rada toksikologiju*. 1:65-75.
- Matović V, Buha A, Bulat Z, Đukić-Ćosić D (2011) Cadmium toxicity revisited: focus on oxidative stress induction and interactions with zinc and magnesium. *Arhiv za higijenu rada toksikologiju*. 1:65-75.
- Matovic V, Bulat ZP, Dukic-cosic D, Soldatovic D (2004) Zinc, copper, or magnesium supplementation against cadmium toxicity. *New York: Nova Science Pub Inc*.
- Merali Z, Singhal R (1976) Prevention by zinc of cadmium-induced alterations in pancreatic and hepatic functions. *British Journal of pharmacology* 57:573-579.
- Montgomery K C (1955) The relationship between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. *J. Comp Physiol Psychol* 48:254-260.
- Murry R (1984) Alanine aminotransferase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp. 1117-1121.
- Murry R (1984) Aspartate aminotransferase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton*. pp. 1112-1116.
- Murry RL (1984) Creatinine. *Clin. Chem. Toronto Princeton*. pp 1261-1266.
- Nemmiche, D, Chabane, S, Guiraud, P (2007) Role of alpha-tocopherol in cadmium induced oxidative stress in Wistar rat's blood, liver and brain. *Chem. Biol. Interact*. 170:221-30.
- Nepton Soltani, Mansoor Keshavarz, Hamid Sohanaki, Ahmed Reza Dehpour, Saleh Zahedi Asl (2005) Oral magnesium administration prevents vascular complications in STZ –diabetics rats. *Life Sciences* 76:1455-1464.
- Nic Dhonnchadha BA, Bourin M and Hascoët M (2003) Anxiolytic-like effects of 5-HT₂ ligands on three mouse models of anxiety. *Behav Brain Res* 140:203-214.
- Noël L, Huynh-Delerme C, Guérin T, Huet H, Frémy J-M, Kolf-Clauw M (2006) Cadmium accumulation and interactions with zinc, copper, and manganese, analysed by ICP-MS in a longterm Caco-2 TC7 cell model. *Biomaterials*. 19:473-81.
- Obaiah Jamakala A, Usha Rani (2014) Mitigating role of Zinc and Iron against Cadmium induced toxicity liver and kidney of male albino Wistar: a study with reference to Metallothioneine quantification. *Int J Pharm Pharm Sci* 6:411-417.
- Pari L, Murugavel P (2005) Role of diallyl tetrasulfide in ameliorating the cadmium induced biochemical changes in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol* 20:493-500.
- Rana SV, Rekha S, Seema V (1996) Protective effects of few antioxidants on liver function in rats treated with cadmium and mercury. *Indian Journal of Experimental Biology* 34:177–179.
- Rogalska J, Brzóska MM, Roszczenko A, Moniuszko-Jakoniuk J (2009) Enhanced zinc consumption prevents cadmium-induced alterations in lipid metabolism in male rats. *Chemico-biological interactions* 177:142-52.
- Sameeh A, Mansour Abdel-Tawab, Mossa H (2009) Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 93:34-39.
- Santon A, Irato P, Medici V, D’Inca R, Albergoni LV, Sturniolo GC (2003) Effect and possible role of Zn treatment in LEC rats, an animal model of Wilson’s disease. *Biochim Biophys Acta* 1637:91-97.
- Sidhu P, Singh N, Shahi JS, Garg ML, Dhawan DK (2003) Hepatotoxic effects of differential doses of nickel—a biochemical and elemental profile study. *Vinbull* 8:589-593.
- Sidhu P, Singh N, Shahi J S, Garg ML, Dhawan DK (2006) Zinc protects rat liver histo-architecture from determined effects of nickel. *Bio.Metals* 19:301-313.
- Silvina Alvarez, Nidia Gomez, Luis Scardapane, Fanny Zirulnik, Dante Martinez, Maria Sofia Gménez (2004) Morphological changes and oxidative stress in rat prostate exposed to a non carcinogenic dose of cadmium. *Toxicology letters*. 153:365-376.
- Simons JE, Yang RSH, Berman E (1995) Evaluation of the mixtures containing organic metals advantages and disadvantages of the use of red world complex mixtures. *Environ Health Perspect* 103:67-71.
- Slotkin TA, Mac Killop EA, Ryde IT, Tate CA, Seidler FJ (2007) Screening for developmental neurotoxicity using PC12 cells: comparisons of organophosphates with a carbamate, anorganochlorine, and divalent nickel. *Environ Health Perspect* 115:93-101.
- Smialowicz RJ, Rogers RR, Riddle MM, Leubke Fogelson LD, Rowe DG (1987) Effects of manganese, calcium, magnesium, and zinc on nickel induced suppression of murine natural killer cell activity. *Toxicol Environ Health* 20:67-80.
- Soldatovic D, Vujanovic D, Matovic V, Plamenac Z (1997) Compared effects of high oral Mg supplements and of EDTA chelating agent on chronic lead intoxication in rabbits. *Magnesium research: official organ of the International Society for the Development of Research on Magnesium* 10:127-33.
- Solomons NW, Viteri F, Shuler TR, Nielsen FH (1982) Bioavailability of nickel in man effects of foods and chemically

- defined dietary constituents on the absorption of inorganic nickel. *Nutr* 112:39-50.
- Soubrié D (1971) Open-Field chez le rat: inter-relations entre locomotion exploration et emotivité. *Journal of Pharmacology* 2:457-472.
- Sugiwara N (1977) Inhibitory effect of cadmium on calcium absorption from the rat duodenum. *Arch. Environ. Contam Toxicol* 5:167-175.
- Sunderman Jr, Kasprzak KS, Horak E, Giltz P, Onkelinx C (1976) Effect of triethylenetetramine upon the metabolism and toxicity of $^{63}\text{NiCl}_2$ in rats. *Toxicology Applied Pharmacology* 38:177-188.
- Tandon A, Nagpaul JP, Bandhu H, Singh N, Dhawan D (1999) Effect of lithium on hepatic and serum elemental status under different dietary protein regimens. *Biol Trace Elem Res* 68:51-62.
- Tandon SK, Singh S, Prasad S, Mathur N (2001) Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice. *Food Chem Toxicol* 39:571-577.
- Treit D M, Menard J, Royan C (1993) Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 44:463-469.
- Uyanik F, Eren M, Atasever A, Tuncoku G, Kolsuz AH (2001) Changes in some biochemical parameters and organs of broilers exposed to cadmium and effect of Zinc on cadmium induced alteration. *Israel Veterinary Medicine* 56:128-134.
- Waalkes MP, Kasprzak KS, Oshima M, Poirier LA (1985) Protective effects of zinc acetate towards the toxicity of nickelous acetate in rats. *Toxicology* 39:29-41.
- Washko PW, Cousins RJ (1977) Metabolism of Cd^{109} in rats fed normal and low-calcium diets. *Toxicol Environ Health* 1056-1066.
- WHO (World Health Organisation) (1992) Environmental Health Criteria, 134Cadmium. IPCS: Geneva.