



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni-Mellal



THESE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE SULTANE MOULAY
SLIMANE**

Discipline : BIOLOGIE

Présentée et soutenue publiquement par

Nabila OUASMI

**Approche de la toxicologie développementale et la toxicité générale du
cadmium et d'un mélange de métaux lourds en trace chez le rat.**

Soutenue le 25/12/2019 à 9h00 devant la commission d'examen composée de :

Président	:	Pr Abderaafia HAFID	FST. Béni Mellal
Rapporteur	:	Pr Souad ABOUDKHIL	FST. Mohammedia
Rapporteur	:	Pr Lahoucine BAHY	FST. Béni Mellal
Rapporteur	:	Pr Ahmed AIT CHAOUI	FST. Béni Mellal
Examineur	:	Pr Samira BOULBAROUD	FP. Béni Mellal
Co-encadrant	:	Pr Mohamed NAJIMI	FST. Béni Mellal
Encadrant	:	Pr Fatiha CHIGR	FST. Béni Mellal

REMERCIEMENT

Au terme de cette recherche, je suis heureuse de pouvoir remercier tous ceux et celles qui m'ont accompagnée et soutenu tout au long de cette aventure ou qui ont croisé ma route et grâce à qui j'ai pu avancer.

Je voudrais remercier les membres du comité de thèse de m'avoir fait l'honneur d'accepter et d'évaluer mon travail de mémoire

- ◆ Je tiens tout d'abord à remercier professeur Abderaafia HAFID de m'avoir fait l'honneur d'être président du jury de cette thèse
- ◆ Je voudrais également remercier professeur Souad ABOUDKHIL, pour avoir acceptée si gentiment d'expertiser le présent travail
- ◆ Un grand merci au professeur Lahoucine BAHY pour le travail qu'il a accompli pour rapporter cette thèse
- ◆ Merci aussi au professeur Ahmed AIT CHAOUI pour sa grande contribution en tant que rapporteur de thèse.
- ◆ Je voudrais également remercier professeur Samira BOULBAROUD pour sa contribution en tant qu'examinatrice de la présente thèse.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à mes directeurs, Professeurs Fatiha CHIGR et Mohamed NAJIMI, de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce travail au sein de leur laboratoire *Génie biologique, équipe : biologie fonctionnelle et pathologique*, pour la confiance et le soutien dont ils me gratifient depuis le début de cette thèse. Je vous remercie d'avoir cru en mes capacités, pour le temps et la patience que vous m'avez accordés tout au long de ces années en me fournissant d'excellentes conditions logistiques. Je garderai dans mon cœur votre générosité, votre compréhension et votre efficacité. Pour tout ce que vous m'avez donné, je vous remercie très sincèrement d'avoir bien assuré la direction et l'encadrement de mes travaux de thèse. Merci pour votre gentillesse, votre patience et vos précieux conseils. J'ai beaucoup apprécié travailler à vos côtés tant sur le plan scientifique que sur le plan humain. Je garde toujours beaucoup de plaisir à discuter avec vous et à bénéficier de vos conseils.

Je remercie tout le personnel du laboratoire avec lequel j'ai pris énormément de plaisir à travailler. Merci en particulier à Fatima zohra OUARDI, à Hafsa MALQUI, à Meriama EL OUAHLI, à Ghizlane ERRAOUI, à Nouhaila CHAOUI, à Rachid HNINI, à Benyamine MELLOUKI, et à Hammou ANARGHOU.

Enfin merci à ma famille qui a toujours fait bien plus que me soutenir et m'encourager. A mon Père ; Ibrahim pour tout ce qu'il m'a enseigné, pour la valeur du travail bien fait que j'ai tenté de concrétiser dans cette thèse. A ma Mère ; Fatima qui est presque toujours parvenue à me faire croire que le bonheur de me voir réaliser mes désirs l'emportait sur la peine de l'éloignement. A mon marie Younes qui a toujours été là pour me soutenir et qui m'a tant apporté et aidé, il a été un soutien sans faille et inconditionnel tout au long de cette aventure ; c'est pourquoi, je lui dédie cette thèse. Ainsi qu'un grand merci à ma deuxième famille qui m'a toujours poussée et soutenue. A ma très chère belle mère Fatima et à mon très cher beau père Lamfaddal qui n'ont cessé de me combler par leur amour et leur tendresse.

Merci aux personnes qui m'ont suivi ou que j'ai rencontré dans ce voyage et qui ont contribué à faire de cette aventure une expérience humaine enrichissante ; et qui, au mieux de leur talent, ont contribué à faire de cette thèse ce qu'elle est.

RÉSUMÉ

L'exposition aux polluants constitue un problème majeur de santé publique. Parmi ces polluants, les métaux lourds ou éléments traces métalliques, d'origine naturelle ou non, sont de plus en plus présents dans l'environnement aussi bien dans le sol, l'eau et l'air. Il faut noter à cet égard que certaines activités humaines et certains procédés industriels sont à l'origine de la présence de quantités notables dans l'environnement. Les métaux lourds ne posent pas seulement un problème pour la pollution de l'air, de l'eau, des sols et des écosystèmes, mais également pour la santé de l'homme. Parmi les manifestations les plus marquantes, nous citerons la cancérogenèse en premier lieu mais également une pathophysiologie plus large pouvant toucher les principaux systèmes vitaux. Ainsi, une neurotoxicité a été montrée dans le cas de plusieurs métaux au même titre qu'une hépatotoxicité et d'une néphrotoxicité pour ne citer que ces trois aspects les plus saillants dans le registre de toxicité générale. Dans tous les cas, et quel que soit le type de cytotoxicité, une génération de stress oxydatif voire, d'un état d'inflammation, est concomitante à cette toxicité. C'est le cas du cadmium, qui est un élément métallique en traces issu exclusivement des activités industrielles et largué donc de manière non contrôlé dans l'environnement.

L'objectif de notre travail a été d'étudier les effets de l'exposition au Cadmium seul ou mélange à deux autres métaux i.e. aluminium et plomb, administré(s) par voie orale pendant les stades gestationnel et lactationnel sur le système nerveux en développement et au stade adulte. Pour ce faire, nous avons examiné les effets de l'exposition aux métaux durant les périodes pré- et postnatale et au stade adulte sur le comportement et sur les paramètres physiologiques. L'analyse de l'aspect neuro-développemental a été réalisée au cours de la lactation jusqu'au sevrage. Les résultats obtenus ont montré que l'exposition pré et néonatale au cadmium seul ou au mélange de métaux altère le comportement maternel des rats mères exposées. Chez la descendance, l'intoxication métallique altère les réflexes innés et induit un retard de développement moteur. Au stade adulte, l'exposition aux métaux à long terme a montré une diminution de l'activité locomotrice de la sociabilité de l'apprentissage et de la mémoire. Un état anxieux et dépressif a également été mis en évidence. L'intoxication par les métaux a également induit un état de stress oxydatif aussi bien au niveau périphérique (foie et reins principalement) qu'au niveau du système nerveux central.

L'ensemble des résultats obtenus met bien en évidence un effet clair de l'intoxication par les métaux sur la physiologie générale. Effet qui est à la base d'anomalies comportementales et cognitives probablement associées à un stress oxydatif et neurochimique. De même, ces résultats ont également montré que la période gestationnelle et lactationnelle est une période de développement du système nerveux central qui reste critique et sensible et toute exposition durant cette période serait préjudiciable.

Mots clés : Métaux lourds, Neurodéveloppement, comportement, cognition, stress oxydatif, acétylcholinestérase.

ABSTRACT

The exposure of populations to pollutants could be a major public health problem. Among these pollutants, heavy metals or metallic trace elements, which come from natural origin or not, they're more and more within the environment, in soil, water, and air. The heavy use of this pollutants by human activities or in industrial process, are blame for increased the quantities of those elements within the environment. Heavy metals don't seem to be only a controversy for air, water, soil, and ecosystem pollution, but also for human health. Among the most pathological problems induced by exposure to heavy metals, we found carcinogenesis at the first, also a pathophysiology of vital systems. On the other hand the most pathologies that have been shown within the case of several metals are : neurotoxicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity. In all cases, and no matter the kind of cytotoxicity, a generation of oxidative stress or may be an inflammation level is expounded to the current toxicity. It's the case of cadmium, which is a trace metal element specially obtained from industrial activities and dumped into the environment with an uncontrolled way.

The aim of this work was to study the effects of exposure to Cadmium like alone metal or in mixture with two other metals (aluminum and lead), wich they are administered orally during gestation and lactation periods on the developement of nervous system, and in the adult age. During this study, we experimented the effects of exposure to metals during three stages ; prenatal, postnatal and adult age, on behavioral and physiological parameters. For this the neurodevelopmental evaluation has been maintained during lactation until weaning period. According to the results of maternal behavior we have noted an alteration of this behavior after pre and post-natal exposure to cadmium alone or with a mixture of metals in mother's rats. Metallic intoxication alter reflexes of new borns and induce motor development retardation. within the adult age, after a chronic exposure to metals a decrease in locomotor activity, sociability, learning and memory was obtained. Moreover an anxious and depressed behaviour was also observed. The metals intoxication has also induced an oxidative stress in peripheral organs (liver and kidneys) as well as in the central nervous system.

All the results obtained, indicate that metal intoxication has an adverse effects on general physiology. These effects causes firstly behavioral and cognitive abnormalities which probably associated with oxidative stress and neurochemical stress. Also that gestation and lactation are criticals and sensitives periods, and any exposure during these periods would be dangerous.

Key words: Heavy metals, Neurodevelopment, behavior, cognition, oxidative stress, acetylcholinesterase.

ملخص

يعتبر التعرض للملوثات البيئية من بين المشاكل الرئيسية للصحة العامة، نجد من بين هذه الملوثات المعادن الثقيلة أو العناصر المعدنية الدقيقة من أصل طبيعي أو غير طبيعي. تتزايد هذه الملوثات بشكل متواصل على مستوى البيئة و نجدها على الخصوص في التربة ، الماء والهواء.تعتبر بعض الأنشطة البشرية و الصناعية هي المسؤولة عن زيادة كميات هذه العناصر في البيئة و بالتالي فهي تشكل خطرا كبيرا على صحة الإنسان. حيث تتسبب في العديد من السرطانات و تؤثر على انظمة الاعضاء الرئيسية. في حالة التعرض للعديد من المعادن تعتبر السمية العصبية، السمية الكبدية و السمية الكلوية هي الاكثر بروزا في سجل السمية العامة و ترتبط هذه السميات بشكل مباشر بالإجهاد التأكسدي أو بحالة الالتهاب. هذه هي حالة الكاديوم، الذي هو عنصر فلزي جد ضئيل يتم الحصول عليه في الاساس من الأنشطة الصناعية ويتم صرفه في البيئة بطريقة غير منضبطة.

هدف هذا العمل هو دراسة آثار التعرض للكاديوم وحده أو في خليط مع اثنين من المعادن الأخرى (الألمنيوم والرصاص) على الجهاز العصبي في طور النمو، حيث يتم إعطاؤهما عن طريق الفم لفئران التجارب خلال مرحلتي الحمل والرضاعة وحتى بلوغ مرحلة الرشد. للقيام بهذا العمل، درسنا آثار التعرض للمعادن خلال مرحلة ما قبل وبعد الولادة وفي مرحلة الرشد، على السلوك و المعايير الفسيولوجية. تم تحليل جانب النمو العصبي أثناء مرحلة الرضاعة حتى الفطام و أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن التعرض قبل الولادة وبعد الولادة للكاديوم وحده أو لخليط المعادن يغير السلوك الأمومي للفأرة المعرضة. لدى الفئران حديثي الولادة، يغير التسمم المعدني ردود الفعل الفطرية وينجم عنه تأخر حركي. في مرحلة الرشد، أظهر التعرض الطويل المدى للمعادن انخفاضاً في النشاط الحركي، المؤانسة، التعلم و الذاكرة. كما تم أيضا تسجيل حالات من القلق والاكتئاب. من جهة أخرى، تسبب التسمم بالمعادن في حالة من الإجهاد التأكسدي على مستوى الكبد والكلى وعلى مستوى الجهاز العصبي المركزي.

أظهرت جميع النتائج التي تم الحصول عليها تأثير واضح لسمية المعادن على وظائف الأعضاء بشكل عام. حيث تجلت لدى فئران الدراسة تغيرات سلوكية ومعرفية ربما ارتبطت بالإجهاد التأكسدي والإجهاد العصبي الكيميائي. تبين أيضا من هذه النتائج أن فترة الحمل والرضاعة التي ينمو فيها الجهاز العصبي المركزي تظل فترة حرجة وحساسة، وأي تعرض للمعادن خلال هذه الفترة يكون خطيرا.

الكلمات المفتاحية : المعادن الثقيلة ، التطور العصبي ، السلوك ، الإدراك ، الإجهاد التأكسدي ، أستيل كولين استريز

SOMMAIRE

Introduction générale	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I-1 CADMIUM	5
I-1-1 Introduction.....	5
I-1-2 Historique.....	6
I-1-3 Propriété physico-chimique.....	6
I-1-4 Exposition au cadmium.....	7
I-1-5 Intoxication au cadmium.....	12
I-1-6 Conclusion du chapitre	21
I-2 ALUMINIUM	22
I-2-1 Introduction.....	22
I-2-2 Historique.....	23
I-2-3 Propriétés physico chimique	23
I-2-4 Exposition à l'aluminium.....	25
I-2-5 Intoxication à l'aluminium.....	36
I-2-6 Conclusion du chapitre.....	41
I-3 PLOMB	42
I-3-1 Introduction	42
I-3-2 Historique.....	43
I-3-3 Propriété physico-chimique.....	43
I-3-4 Exposition au plomb.....	44
I-3-5 Intoxication au Plomb.....	48
I-3-6 Conclusion du chapitre	53
I-4 LES SYSTEMES DE DEFENSES ANTIOXYDANTS	54
I-4-1 Introduction.....	54
I-4-2 Les systèmes antioxydants enzymatiques.....	54
I-4-3 Les systèmes antioxydants non enzymatiques.....	56
I-4-4 Les produits générer du stress oxydant.....	57
I-4-5 La peroxydation lipidique.....	58
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	59
II-1 / Produits	60
II-2 / Animaux et traitements.....	60
II-3 / Etude comportementale.....	62

<i>II-4/ Prélèvements</i>	70
<i>II-5/ Dosages biochimiques</i>	70
<i>II-6/ STATISTIQUES</i>	77
CHAPITRE III : RESULTATS	78
<i>III-1 RESULTATS DE LA PREMIERE PARTIE (cd)</i>	78
<i>III-2 RASULTATS DE LA DEUXIEME PARTIE (Mélange des 3 métaux : Cd+Al+Pb)</i>	123
CHAPITRE IV : DISCUSSION, CONCLUSION, ET PERSPECTIVES	162
<i>REFERENCES</i>	185

Liste des abréviations

ACH : Chlorhydrate D'aluminium Hydrosoluble

AchE :Acétylcholinestérase

ADME: Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Afssaps: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

Al : Aluminium

Al(OH)₃ : Hydroxyde d'aluminium

ALAD : Acide delta-amino-lévulinique

AMS : Accelerator mass spectrometry

ATP : Adénosine triphosphate

ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry

BAT: Biologischer ArbeitsstoffToleranz-Wert

BHE : Barrière hématoencéphalique

BHT: Hydroxytoluène butylé

BO : Bulbes olfactifs

BR : Bulbe rachidien

Ca : Calcium (ion Ca^{2+})

CAT : Catalase

Cd : Cadmium (ions Cd^{2+})

Cd(OH)₂ : Hydroxide de cadmium

CdCl₂: Chlorure de cadmium

CdCO₃: Carbonate de cadmium

Cd-MT : Complexe cadmium-métallothioneines

CDNB: 2,4-Dinitrochlorobenzene,

CdO : Oxide de cadmium

CdS : Sulfure de cadmium

CdSO₄ : Sulfate de cadmium

CL₅₀ : Concentration létale à 50%

CPSC : Commission de la sécurité des produits de consommation

Crb : Cerebellum (cervelet)

Cu : Cuivre

DFO : Déféroxamine

DHTP : Dose hebdomadaire tolérable provisoire

DJA : Dose journalière admissible

DL₅₀ : Dose létale à 50%

DO : Densité optique

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

ECFA : Evangelical Council for Financial Accountability

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique,

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

EPM : Elevated plus maze (labyrinthe en croix surélevé)

ERO : Espèces réactif d'oxygène

FAO : Food and agriculture organization

Fe : Fer

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion

GSSG : Disulfure de glutathion (la forme oxydée du glutathion)

GST : Glutathion S-transférase

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HC : Hémisphères cérébraux

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques

INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale

IP3 : Récepteurs 1,4,5-trisphosphate

IPCS : Institut Professionnel De Carrieres De Santé

JECFA : Comité international d'experts scientifiques

LCR : Liquide céphalo-rachidien

MDA : Malondialdéhyde

Mn : Manganèse

MP : Maladie de Parkinson

MT : Métallothionéine

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NBT: Nitro blue tetrazolium

NIOSH : National Institute for Occupational Safety and Health

NTP : National Toxicology Program

OEHHA : Agence de protection de l'environnement de Californie

OLG : Aligodendrocytes

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONAA : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

Pb : Plomb

Pb(CH₃COO)₂, 3H₂O : Acétate de plomb

Pb(OH)₂ : Carbonate basique ou céruse

PbCO₃ : Carbonate neutre ou cérusite

PBPM : Protéines de bas poids moléculaire

PBS : Tampon phosphate salin

PbSe : Séléniure de plomb

PbSO₄ : Sulfate de plomb

PEV : Potentiels évoqués visuels

PND : Post natal day

QI : *Quotient intellectuel*

RBP : *Protéine transporteuse du rétinol*

ROS : *Reactive oxygen species*

SCCNFP: *Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation*

Se : *Sélénium*

SH : *Sulphydryles*

SN : *Système nerveux*

SNC : *Système nerveux central*

SNP : *Système nerveux périphérique*

SOD : *Superoxydes dismutases*

TBA : *Acide thiobarbiturique*

TC : *Tronc cérébral*

TCA: *Acide trichloroacétique*

TfR-ME : *Transferrin receptor-mediated endocytosis*

VME : *Valeur limite de moyenne d'exposition*

WHO : *World Health Organization*

Zn : *Zinc*

Liste des figures

Figure 1 : mobilité de cadmium dans les différentes chaînes trophiques	9
Figure 2 : schéma résumant le transport et la distribution du Cd.....	11
Figure 3 : les dommages oxydatifs induits par le cadmium.....	20
Figure 4 : Répartition des concentrations urinaires d'aluminium des groupes d'exposés selon la nature de l'exposition professionnelle à l'aluminium.....	25
Figure 5 : Absorption quotidienne et distribution de l'aluminium.....	34
Figure 6 : voie d'exposition de l'homme au plomb.....	46
Figure 7 : modèle du métabolisme du plomb chez l'homme.....	48
Figure 8 : effet du plomb sur le glutathion.....	51
Figure 9 : effet du plomb sur le stress oxydatif.....	53
Figure 10 : les superoxydes dismutases.....	57
Figure 11 : Représentation schématique du déroulement des expérimentations.....	61
Figure 12 : image du dispositif utilisé « Open field ».....	65
Figure 13 : Image du dispositif du « labyrinthe en croix surélevé ».....	66
Figure 14 : image du dispositif utilisé dans « la reconnaissance des objets ».....	67
Figure 15 : image du dispositif utilisé dans « labyrinthe en Y ».....	68
Figure 16 : image du dispositif utilisé dans « l'enfouissement des billes ».....	69
Figure 17 : effets de l'administration de Cd sur le score d'allaitement dans le test d'observation.....	81

Figure 18 : effets de l'administration de Cd sur les latences du test de récupération.....	82
Figure 19 : effets de l'administration de cadmium sur la prise de poids pendant la période de gestation.....	83
Figure 20 : effets de l'administration de cadmium sur la consommation d'eau pendant la période de gestation.....	83
Figure 21 : développement du poids corporel chez la progéniture des rats exposés au chlorure de cadmium après la naissance.....	85
Figure 22 : développement de la longueur du corps (a) et de la longueur de la queue (b) chez la progéniture des rats exposés au chlorure de cadmium après la naissance.....	86
Figure 23 : effets de l'exposition au cadmium pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de surface righting reflexe.....	87
Figure 24 : effets du traitement prénatal avec du chlorure de cadmium pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de négative géotaxie.....	87
Figure 25 : effets du traitement prénatal avec du chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation sur les latences du test d'évitement de falaise	88
Figure 26 : effets du traitement prénatal avec le chlorure de cadmium sur la durée du test de Sautillement vers le bas	89
Figure 27 : développement de la nage chez les ratons avant sevrage des mères exposées au chlorure de cadmium.....	90
Figure 28 : effet du chlorure de cadmium sur les performances en alternance de la progéniture des rats exposés pendant la gestation et la lactation dans le labyrinthe en Y...90	90
Figure 29 : effet du chlorure de cadmium sur l'indice de reconnaissance chez les ratons traités au cadmium et leurs témoins.....	91
Figure 30 : comportement lié à l'anxiété de la progéniture du rat ayant reçu du chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation.....	92
Figure 31 : effet de l'exposition au CdCl ₂ à l'âge juvénile sur l'activité locomotrice et sur le comportement d'anxiété.....	94

Figure 32 : comportement d'enfouissement des billes.....	95
Figure 33 : effets du chlorure de cadmium sur les performances en alternance des rats adultes exposés pendant la gestation et la lactation dans le labyrinthe en Y.....	95
Figure 34 : effet du chlorure de cadmium sur l'indice de reconnaissance chez les rats adultes traités au cadmium et leurs témoins.....	96
Figure 35 : comportement lié à l'anxiété des rats adultes ayant reçu le chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation.....	97
Figure 36 : comportement en champ ouvert.....	99
Figure 37 : comportement d'enfouissement des billes.....	100
Figure 38 : effets de l'administration de chlorure de cadmium sur l'activité du CAT dans les cerveaux entiers (PN5, PN10), et au niveau des structures cérébrales (PN15, PN21).....	101
Figure 39 : effets de l'administration de chlorure de cadmium sur l'activité du CAT dans le foie (a) et les reins (b) des rats pendant la période post-natale.....	102
Figure 40 : activités de la glutathion peroxydase (GPx) dans les cerveaux entiers (PN5, PN10), et au niveau des structures cérébrales (PN15, PN21) chez les rats traités.....	103
Figure 41 : activités de la glutathion peroxydase (GPx) (a) au niveau du foie, (b) au niveau des reins, chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le chlorure de cadmium.....	104
Figure 42 : activités de la glutathion S-transférase (GST) chez les cerveaux des rats traités pendant la gestation et la lactation par le chlorure de cadmium.....	105

Figure 43 : activités de la glutathion S-transférase (GST), au niveau du foie (a), et au niveau des reins (b)106

Figure 44 : effet de l'administration de chlorure de cadmium sur la SOD des cerveaux des rats, pendant la gestation et les périodes de lactation.....107

Figure 45 : Effet de l'administration de chlorure de cadmium sur l'activité de la SOD au niveau du foie (a), et au niveau des reins (b) chez des rats pendant la gestation et la période de lactation.....107

Figure 46 : les niveaux de MDA dans les cerveaux entiers (PN5, PN10) et dans les structures cérébrales (PN15, PN21) des rats traités par CdCl₂.....108

Figure 47 : les taux de MDA dans le foie (a), et dans les reins (b), des rats traités par le CdCl₂ pendant la gestation et après la naissance.....109

Figure 48 : activités de l'AChE chez les rats traités au CdCl₂ en pré et en postnatal.....110

Figure 49 : effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la catalase, chez les rats adultes.....111

Figure 50 : effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la catalase chez les rats adultes au niveau du foie (a) et des reins (b).....111

Figure 51 : effet du chlorure de cadmium sur l'activité de GPX, chez les rats adultes.....112

Figure 52 : effets du chlorure de cadmium sur l'activité de GPX au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins.....113

Figure 53 : effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la GST, chez les rats adultes.....	114
Figure 54 : effets du chlorure de cadmium sur l'activité de la GST, au niveau du foie(a), et au niveau des reins (b) chez les rats adultes.....	114
Figure 55 : effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la SOD, au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins.....	115
Figure 56 : effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la SOD chez les rats adultes.....	116
Figure 57 : les niveaux de MDA dans (a) le foie, et dans (b) les reins chez les rats adultes traités au chlorure de cadmium.....	117
Figure 58 : les niveaux de MDA dans le cerveau des rats adultes traités au chlorure de cadmium.....	118
Figure 59 : activité de l'AChE dans différentes structures cérébrales de rats adultes traités au chlorure de cadmium.....	118
Figure 60 : effet de cadmium sur les niveaux cérébraux de (a) Cd, (b) Fe, (c) Ca, (d) Cu et (e) Zn.....	120
Figure 61 : effet de l'administration de cadmium sur le poids corporel pendant la prise alimentaire.....	121
Figure 62 : effets de l'administration de cadmium sur la prise alimentaire durant les 21 jours de l'expérience.....	122

Figure 63 : effets de l'administration du mélange des métaux sur le score d'allaitement dans le test d'observation. (A) allaitement actif, (B) allaitement passif.....	125
Figure 64 : effets de l'administration du mélange des métaux sur les latences du test de récupération.....	126
Figure 65 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la prise de poids pendant la période de gestation.....	127
Figure 66 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la consommation d'eau pendant la période de gestation.....	128
Figure 67 : développement du poids corporel chez la progéniture des rats exposés au mélange des métaux pendant la gestation et la lactation.....	130
Figure 68 : développement de la longueur du corps (a) et la longueur de la queue (b), chez la progéniture des rats exposés au mélange des métaux.....	131
Figure 69 : effets de l'exposition au mélange des métaux pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de surface righting reflexe.....	132
Figure 70 : effets du traitement au mélange des métaux pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de la géotaxie négative.....	132
Figure 71 : effets du traitement au mélange des métaux pendant la période de gestation et de lactation sur les latences du test d'évitement de la falaise.....	133
Figure 72 : effets du traitement au mélange des métaux pendant la période de gestation et de lactation sur la durée du test de Sautillement vers le bas.....	134
Figure 73 : développement de la nage chez les ratons avant sevrage des mères exposées au mélange des métaux.....	135
Figure 74 : effet du mélange des métaux sur les performances en alternance de la progéniture des rats exposés pendant la gestation et la lactation dans le labyrinthe en Y.....	135
Figure 75 : effet du mélange des métaux sur l'indice de reconnaissance chez les ratons traités au mélange des métaux et leurs témoins.....	136

Figure 76 : comportement lié à l'anxiété de la progéniture des rats ayant reçu un mélange des métaux pendant la période de gestation et de lactation par le test d'EPM.....	137
Figure 77 : comportement en champ ouvert (Open field).....	138
Figure 78 : comportement d'enfouissement des billes.....	139
Figure 79 : effets du mélange des métaux sur les performances en alternance des rats adultes dans le labyrinthe en Y.....	140
Figure 80 : effet du mélange des métaux sur l'indice de reconnaissance chez les rats adultes traités et leurs témoins.....	140
Figure 81 : comportement lié à l'anxiété des rats adultes ayant reçu le mélange des 3 métaux pendant la période de gestation, de lactation et jusqu'à l'âge adulte par le test d'EPM.....	141
Figure 82 : comportement en champ ouvert (Open field).....	142
Figure 83 : comportement d'enfouissement des billes.....	143
Figure 84 : effet de l'administration du mélange des métaux sur l'activité de la CAT dans les cerveaux des rats pendant la période postnatale.....	144
Figure 85 : effet de l'administration du mélange des métaux sur l'activité de la catalase (CAT) dans le foie (a) et les reins (b) des rats pendant la période postnatale.....	145
Figure 86 : activités de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau du cerveau (PN5 et PN10) et au niveau des structures cérébrales (PN15 et PN21).....	146

Figure 87 : activités de la glutathion peroxydase (GPx) (a) au niveau du foie, (b) et au niveau des reins.....146

Figure 88 : activités de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du cerveau (PN5 et PN10) et dans les structures cérébrales (PN15, et PN21).....147

Figure 89 : activités de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du foie (a) et au niveau des reins (b).....148

Figure 90 : effet de l'administration du mélange des métaux sur la SOD dans le cerveau (PN5, et PN10), et dans les structures cérébrales (PN15, et PN21).....149

Figure 91 : effet de l'administration du mélange des métaux sur la SOD au niveau du foie (a), et au niveau des reins (b).....149

Figure 92 : les taux de MDA au niveau du cerveau (PN5, et PN10), et au niveau des différentes structures cérébrales (PN15, et PN21).....150

Figure 93 : les taux de MDA dans le foie (a), et dans les reins (b).....151

Figure 94 : activités de l'ACHé au niveau du cerveau (PN5, et PN10) et au niveau des différentes structures (PN15, et PN21)151

Figure 95 : effets du mélange des métaux sur l'activité de la catalase, chez les rats adultes.....152

Figure 96 : effets du mélange des métaux sur l'activité de la catalase chez les rats adultes au niveau du foie (a) et des reins (b).....153

Figure 97 : effets du mélange des métaux sur l'activité de la GPX chez les rats adultes.....154

Figure 98 : effets du mélange des métaux sur l'activité de la GPX au niveau (a) du foie et au niveau (b) des reins.....154

Figure 99 : effets du mélange des métaux sur l'activité de GST au niveau des structures cérébrales analysées chez les rats adultes.....	155
Figure 100 : effets du mélange des métaux sur l'activité de GST, au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins chez les rats adultes.....	155
Figure 101 : effets du mélange des métaux sur l'activité de la SOD au niveau des structures cérébrales analysées chez les rats adultes.....	156
Figure 102 : effets du mélange des métaux sur l'activité de la SOD, au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins.....	157
Figure 103 : les taux de MDA au niveau de différentes structures cérébrales analysées des rats adultes traités avec le mélange des métaux.....	158
Figure 104 : les taux de MDA chez les rats adultes traités avec le mélange des métaux au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins.....	158
Figure 105 : activités de l'AChE dans différentes structures cérébrales des rats adultes traités avec le mélange des métaux.....	159
Figure 106 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la prise de poids corporel.....	160
Figure 107 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la prise alimentaire durant les 21 jours de l'expérience.....	161

Liste des tableaux

Tableau 1 : Paramètres de l'aluminium	24
Tableau 2 : Détermination des composés de l'aluminium pouvant être utilisés dans les produits cosmétiques.....	28
Tableau 3 : Concentrations biologiques en aluminium chez la population générale, dialysée et professionnelle.....	35
Tableau 4 : Classification des maladies chroniques dont l'aluminium est mis en cause.....	38
Tableau 5 : effets de l'administration de Cd sur les activités non maternelles des rats.....	80
Tableau 6 : effets de l'administration de Cd sur les activités maternelles des rates.....	80
Tableau 7 : effets de l'administration de Cd sur la mortalité des ratons.....	84
Tableau 8 : effets du chlorure de cadmium sur la maturation physique de la progéniture de rats exposés avant la naissance.....	84
Tableau 9 : effets de l'administration de cadmium sur la consommation d'eau.	122
Tableau 10 : effets de l'administration de la mixture (cd, pb, al) sur les activités non maternelles des rats.....	124
Tableau 11 : effets de l'administration du mélange de métaux sur les activités maternelles des rats.....	124
Tableau 12 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la mortalité des ratons.....	128

Tableau 13 : effets du mélange des métaux sur la maturation physique de la progéniture de rats exposés pendant la gestation et après la naissance.....129

Tableau 14 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la consommation d'eau.....160

INTRODUCTION GENERALE

De plus en plus d'études montrent un impact croissant de la dégradation de l'environnement sur le développement de maladies chroniques (cancer, diabète, troubles de la reproduction, obésité, troubles du développement cérébral.....). Ainsi et à titre d'exemple, 20% des cancers sont d'origine environnementale selon l'organisation mondiale de la santé (OMS).

Si les sources de pollution ou d'exposition susceptibles de concourir à l'altération de la santé sont multiples, le grand défi de la toxicologie concerne l'évaluation de la co-exposition à une multitude de produits chimiques. En effet, la population est rarement exposée à un seul polluant à la fois et les recherches épidémiologiques consistent à examiner les polluants environnementaux un par un en ignorant la co-exposition à plusieurs polluants environnementaux. L'approche visant à considérer donc les mélanges en tant que tel et les synergies possibles entre facteurs environnementaux sera amplement justifiée. Ces mélanges sont constitués de différents groupes de produits chimiques allant des métaux traces aux pesticides en passant par les biphényles polychlorés aux produits pharmaceutiques et aux produits de soins personnels (Stackelberg et coll 2007). Récemment, une multitude de travaux a concerné l'effet d'un mélange de métaux lourds sur les paramètres physiologiques et biochimiques. Ces expositions du mélange peuvent parfois être préjudiciables à l'organisme, même à des concentrations très faible, et à effet toxique non observable mais dont l'effet cocktail est plutôt toxique (Beyer et coll 2013).

La prise en considération du cumul d'expositions et de leurs interactions est donc nécessaire pour mieux rendre compte de la réalité, notamment dans la durée, et l'on parle alors d'exposome. Cette notion, nécessite de tenir en compte de la « fenêtre d'exposition » et des périodes de la vie où l'individu est davantage vulnérable. Tel est le cas de l'impact des pollutions chimiques sur la santé avec une exposition au cours de la période *in utero* qui est aujourd'hui largement reconnu par la communauté scientifique.

De manière plus générale, protéger les périodes de la grossesse et de la petite enfance face aux expositions environnementales apparaît comme une priorité. Des études épidémiologiques ont rapporté que de plus en plus d'enfants souffriraient d'altérations neurodéveloppementales et comportementales liées à une exposition environnementale.

Il faut rappeler à ce sujet que la physiologie du SNC adulte diffère de celle du SNC en développement. En effet, les neurotransmetteurs qui modulent la transmission synaptique chez l'adulte pendant le développement cérébral, vont interagir avec leurs récepteurs pour influencer la formation de l'architecture des différentes régions et des différentes structures du cerveau. Il en va ainsi de la substance environnementale qui est neurotoxique via une action sur les systèmes de neurotransmission comme les métaux lourds qui pourrait donc impacter diversement le cerveau de l'adulte et celui du jeune. Chez les adultes, il est connu que la neurotoxicité touche plus facilement le système nerveux périphérique car le SNC est protégé d'une série d'agents chimiques par la barrière hémato-méningée (Costa et coll 2004). Cependant, certains métaux semblent être susceptibles de passer par cette barrière et d'atteindre le SNC (Costa et coll 2008) .

Notre travail s'inscrit dans cette optique en analysant l'effet d'un mélange de métaux lourds, en l'occurrence l'Aluminium (Al), le plomb (Pb) et le cadmium (Cd) sur la physiologie générale et cérébrale en particulier durant le développement. Cet aspect de toxicologie développementale concernera aussi bien l'exposition au mélange indiqué sus que l'exposition individuelle au cadmium pour comparaison. Il s'agira en plus de comprendre les mécanismes d'action cellulaires conduisant aux altérations fonctionnelles et neurochimiques au cours du développement d'un cerveau de rat par un métal individuel ou par un mélange de métaux lourds. Nous allons donc, dans un premier temps rappeler l'état des connaissances sur le cadmium, l'aluminium, le plomb, les systèmes de défense enzymatique et non enzymatique ; puis, dans la partie expérimentale, nous allons évaluer les changements comportementaux

biochimiques et physiologiques observés (après exposition à ces trois métaux) ; avant et après la naissance, et à l'âge adulte par le biais de différentes approches. En plus, nous allons nous intéresser aux mécanismes d'implication de ces trois métaux dans le stress oxydant, via l'évaluation des variations des activités des principales enzymes antioxydants au niveau du cerveau et des organes au cours du développement, et à l'âge adulte, chez le rat.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1 LE CADMIUM

I-1-1 Introduction

Les activités humaines agricoles, urbaines et industrielles, sans cesse croissantes, sont à l'origine d'une contamination de notre environnement par les métaux lourds. Alors que de nombreuses molécules organiques peuvent être dégradées, les métaux lourds ne sont pas ricochet, de ce fait leur niveau augmente régulièrement dans les sols, l'air et les eaux. Ceci expose les êtres humains à des concentrations croissantes de métaux lourds.

Le cadmium est le premier métal qui n'a pas été découvert directement à partir d'un minerai, mais dans le composé d'un autre métal (1817). Le cadmium est un métal relativement rare. Il n'y a pas de gisements assez riches pour permettre une extraction séparée suffisante du produit ; les principales sources sont en fait les minerais de Zinc et de Plomb, le Cadmium étant essentiellement un sous-produit de la métallurgie de ces deux derniers, ce qui fait que cadmium est un métal présent à l'état d'impuretés dans divers minerais. Les deux principales sources d'exposition au cadmium de la population générale sont l'alimentation et le tabagisme. Son exploitation industrielle a pris de l'ampleur au début du XX^{ème} siècle. Il est avec son utilisation dans les batteries, les accumulateurs ou encore dans les piles électriques alcalines (80 %) et dans des pigments de peintures ou de matières plastiques (10 %). Le cadmium reste substance toxique cumulative dont la demi-vie dans l'organisme est d'environ 20 à 40 ans et principalement stocké dans le foie et les reins. L'inhalation de fumées d'oxyde de cadmium est à l'origine de fièvres d'inhalation ou de pneumopathies chimiques (Andujar 2010). L'intoxication chronique au cadmium provoque principalement une tubulopathie rénale qui pourrait être à l'origine d'une ostéomalacie et d'une ostéoporose diffuse. Selon certains auteurs, aucun agent chélateur ne peut être encore proposé dans les intoxications humaines au cadmium.

I-1-2 Historique

Etant donné son intérêt industriel (aciers, traitement anticorrosion, piles au cadmium/nickel, etc), une attention toute particulière est aujourd'hui portée à ce métal qui est le Cadmium (Cd).

Le nom d'origine du cadmium est *cadmia* en latin et *kadmeia* en grec. Sa découverte a été en 1817 par le chimiste Allemand Friedrich Stromeyer en Grèce. Il est considéré comme le métal du XXI^e siècle car 65 % de son exploitation industrielle dans le monde a été réalisée lors de ces quelques dernières dizaines d'années. En 1900, la métallurgie mondiale extrayait 14 tonnes de cadmium par an. Au début des années 80, la production était passée à 20 000 tonnes (Brignon, 2017). Ce métal a connu un essor foudroyant, grâce à ses propriétés technologiques intéressantes (même si le cadmium est facilement attaqué par des acides) par contre cette production a diminué au cours des dernières années, et l'usage du cadmium et de ses composés est actuellement sévèrement réglementé du fait de leur effet nocif sur l'homme et l'environnement (Journal officiel de l'Union européenne 2013)

La toxicité du cadmium est connue depuis le XIX^{ème} siècle. Elle est restée un risque mineur jusqu'à l'exploitation du zinc (Zn) qui est co-extrait avec le cadmium.

I-1-3 Propriété physico-chimique

Le Cd appartient au groupe II B de la classification périodique des éléments. Il s'agit d'un élément relativement rare dans la croûte terrestre (0.2 mg/kg). L'état d'oxydation le plus fréquent est l'ion Cd^{2+} dans l'environnement. Facilement volatile, il peut réagir avec les gaz tels que l'oxygène, le dioxyde de carbone, la vapeur d'eau, le dioxyde et trioxyde de soufre et l'acide chlorhydrique pour former des oxydes de cadmium (CdO), des carbonates (CdCO₃), des hydroxydes (Cd(OH)₂), des sulfures (CdS) et des chlorures (CdCl₂) (très facilement assimilés par les plantes). Le cadmium est un métal blanc-bleuâtre, malléable, très ductile et très résistant à la corrosion. Les sels de Cadmium présentent en outre une grande stabilité thermique et chimique.

Son point de fusion se situe à 321 °C, et son point d'ébullition à 765 °C, mais il émet des vapeurs d'oxyde de cadmium bien au-dessous de celui-ci (jaunes-rougeâtres, d'odeur désagréable).

D'autre part, le cadmium métal est pyrophorique : sa température d'auto inflammation est de 250 °C. Ainsi la poussière de cadmium peut donc donner lieu à des incendies ou à des explosions sous l'action de la chaleur ou par contact avec d'autres produits. Lors de ces accidents, le cadmium émet des fumées toxiques.

I-1-4 Exposition au cadmium

A. Exposition de la population générale :

Les problèmes de pollution sont importants à considérer car de nombreux auteurs ont montré que les enfants sont particulièrement sensibles à l'action du cadmium.

Roels et coll (1979) à montrer que le taux de cadmium urinaire a été plus élevé chez ceux qui habitaient autour des fonderies de métaux non ferreux. Ces teneurs sont liés à une accumulation du métal dans les sols, à sa mise en suspension dans l'atmosphère, ainsi qu'à son passage dans les végétaux (John et coll 1982).

Hormis les risques professionnels, il existe des possibilités d'absorption du cadmium liées à l'environnement où il peut se déplacer entre l'air, l'eau et le sol avec une relative facilité (Veron, 1990) (figure 1) affectant ainsi l'homme le dernier maillon de la chaîne trophique.

❖ Le cadmium dans l'atmosphère

Celle-ci amène de 0 à 1.5 µg de cadmium par jour, la concentration normale dans l'air est de 0.001µg/m³. Elle est dépassée dans certains nombre de grandes villes américaines et japonaises jusqu'à 0.0083µg/m³. Au voisinage de l'industrie utilisant le cadmium, les concentrations sont encore plus élevées (0.166µg/m³).

Au japon le lichen et la mousse sont des végétaux qui accumulent les métaux lourds dont le cadmium. Leur concentration en cette substance permet d'apprécier l'importance de la pollution atmosphérique locale (Haghenoeer, 1981 ; IPCS, 1992 ; Lauwerys, 1986)

❖ Le cadmium dans l'eau

Dans l'eau, la concentration en cadmium est de 1µg/l. elle est en rapport avec la pollution industrielle et avec la concentration des sols en cadmium (Haghenoeer 1981).

Une fois dans l'eau la majorité de cadmium se trouvera dans les sédiments où les communautés benthiques peuvent être affectées.

❖ Le cadmium dans le sol

La concentration normale dans le sol est inférieure à 1µg/kg de sol, elle est approximativement de 0.3 à 0.4 µg/kg cependant la contamination du sol par certains produits

industriels peut augmenter cette concentration de 10 à 20% durant une année d'exposition (Gairola et coll, 1992)

❖ Le cadmium dans les engrais

Le cadmium existe dans les engrais en particulier les hyper-phosphatés qui contiennent du zinc. Les engrais phosphatés ont été identifiés comme une source importante de cadmium dans les terres arables, où il tend à s'accumuler au fil du temps. Les cultures ont tendance à absorber le cadmium du sol, et la teneur en cadmium des denrées alimentaires, principale source d'absorption de cadmium par l'homme, est devenue un sujet de préoccupation pour la santé humaine. Dans ce contexte, la Commission de la communauté européenne a d'abord rassemblé toutes les données et les informations disponibles sur la situation d'exposition de cadmium dans les engrais et après un examen attentif des risques, la commission a décidé en 2006 que la teneur en cadmium dans les engrais phosphatés ne dépasse pas 50mg/kg, présente un indice de risque entre 0.1 et 1.19 qui est une valeur réaliste qui ne présente aucun danger sur la santé humain (Journal officiel de l'Union européenne, 2006).

❖ Le cadmium dans les aliments

Les aliments notamment les produits de mer (les huitres, crustacées, poissons) peuvent concentrer le cadmium de 10 000 à 100 000 fois par rapport à l'eau de mer.

D'autres éléments apportent aussi des quantités importantes de cadmium tel que les céréales, les produits laitiers et les viandes surtout les rognons et le foie.

Une contamination secondaire à la préparation et aux conditionnements des aliments n'est pas à exclure (Noirfalise et coll 1981).

En Europe, la quantité de cadmium ingérée quotidiennement avec les aliments, s'élève en moyenne à 20µg (Lauxerys 1982), ainsi que le comité de mixte FAO – OMS a proposé comme DJA (dose journalière admissible) une valeur de 70µg/j.

❖ Le cadmium dans le tabac

Une cigarette contient de 1 à 2 µg de cadmium dont environ 10% peuvent être absorbés par inhalation. Chez les fumeurs, la quantité de cadmium pénétrant dans l'organisme par voie pulmonaire varie de 0.7µg de cadmium, chez un consommateur de 10 cigarettes par jour à 4.2 µg de cadmium pour un consommateur de 60 cigarettes par Jour (Lauwerys,1982) ; dont l'exposition se fait sous forme de fines particules d'oxyde de cadmium qui peuvent se déposer au niveau des alvéoles pulmonaires.

Le tabac est unique dans sa tendance à concentrer le cadmium, la concentration du cadmium dans des feuilles est significativement supérieure à celle des fruits, gains et légumes (Gairola et coll 1992, Lauxerys 1982).

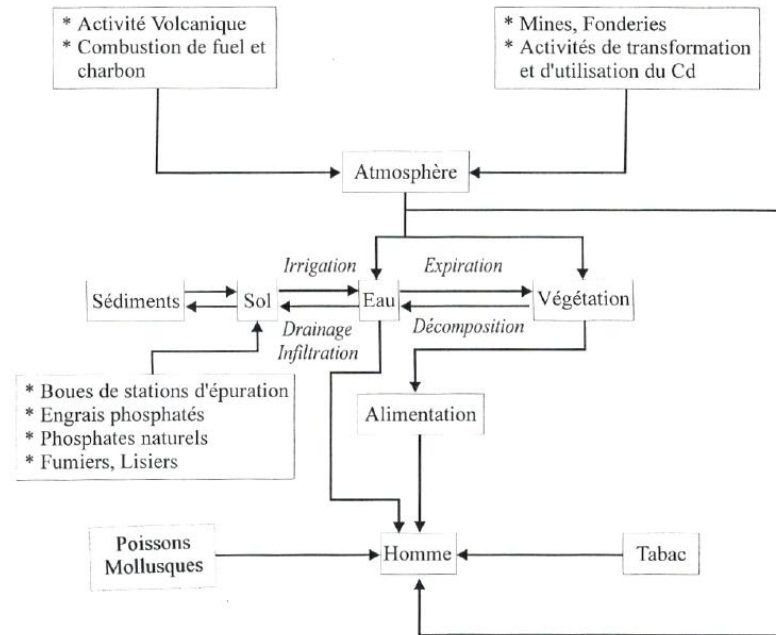


Figure 1 : mobilité de cadmium dans les différentes chaînes trophiques et les voies de contamination de l'Homme (Veron 1990)

B. Exposition professionnelle

La voie respiratoire est la principale voie d'exposition professionnelle au cadmium. En effet, les personnes travaillant dans les industries de la métallurgie du zinc, de la production de pigments, de la fabrication d'accumulateurs, du décapage de peintures..., sont susceptibles d'être exposées au cadmium par voie respiratoire par l'intermédiaires de fumées ou vapeurs et poussières de cadmium dégagées au cours de la production du cadmium et de ses sels, lors de la soudure et du découpage des métaux cadmiés ou des alliages au cadmium. Chez le soudeur, le cadmium représente un des principaux risques professionnels.

C. Cadmium dans l'organisme

Voies de pénétration (ADME)

Absorption

La pénétration de cadmium dans l'organisme peut se faire selon différentes modalités, à côté de la voie orale (dite souvent digestive), il peut emprunter la voie respiratoire.

Voie respiratoire : Le cadmium est principalement absorbé par voie respiratoire sous forme de fumées, vapeurs et poussières dégagées au cours de sa production, du cadmiage, de la soudure ou du découpage de métaux cadmiés et des alliages du cadmium.

Selon la taille des particules, 10 à 50 % du Cadmium inhalé se déposent dans les poumons (les poussières dont le diamètre est inférieur à 5 µg atteignent les alvéoles pulmonaires).

L'absorption de la fraction retenue dépend de sa forme chimique ; 10-30 % pour les poussières d'oxyde de Cadmium et 25-50 % pour les fumées d'oxyde de Cadmium.

Voie digestive : Le cadmium peut être absorbé par voie digestive :

- soit de façon accidentelle : après dissolution du Cadmium par des acides organiques contenus dans certains aliments (vins, sauces vinaigrées, ...) conservés dans des récipients cadmiés ou certaines poteries.
- soit par non-respect des règles d'hygiène (manger ou fumer avec les mains contaminées).

L'absorption intestinale est faible (5-10 %) mais peut être augmentée par divers facteurs : le sexe (plus importante chez la femme que chez l'homme), l'existence d'une carence en fer ou en calcium (Olsson et coll 2002) et diminuée par des régimes riches en fibres (Andersen et coll 2004)

Voie cutanée : Cette voie cutanée est négligeable, et considérée comme nulle (Wester et coll 1992)

Distribution - métabolisme

Après absorption, Le cadmium plasmatique est, lié à des protéines de haut poids moléculaire, essentiellement l'albumine (Nordberg et coll 1987). La demi-vie sanguine du cadmium, correspondant à la durée d'élimination de la moitié de la quantité de cadmium présent dans le sang, à été estimée à 75-128 jours (Jarup et coll 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 de protéine de MT est également stimulée par d'autres métaux comme le zinc et le mercure (Rodilla, et coll 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 (Nordberg et coll 1987). Ce complexe Cd-MT est enfin 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 proximales. Dans les cellules tubulaires, la MT est alors détruite par des enzymes lysosomiales, libérant ainsi des ions Cd^{2+} dans le cytoplasme. Le Cd^{2+} 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 zone médullaire rénale.

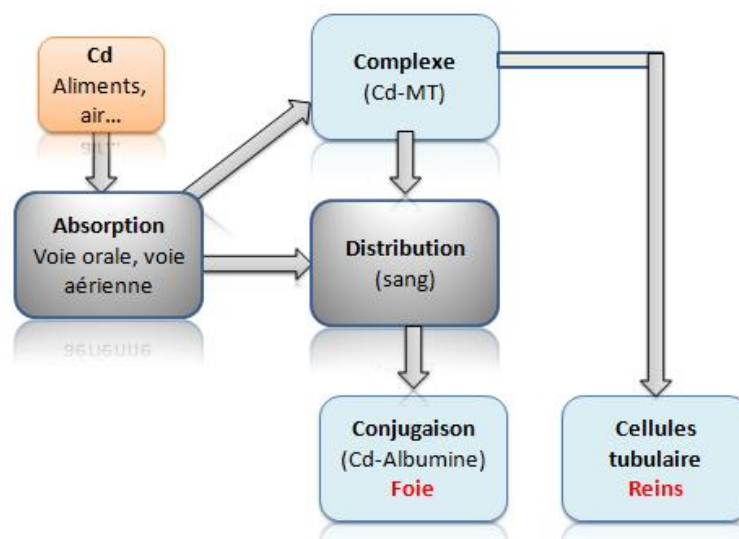


Figure 2 : schéma résumant le transport et la distribution du Cd dans l'organisme après son absorption

D'autre part le système nerveux (SN) en général et le système nerveux central (SNC) en particulier est sensible aussi aux effets de Cd, à l'instar des autres métaux lourds non essentiels. L'effet est encore plus prononcé au cours de la formation in utéro et ses différentes étapes de maturation fonctionnelles (pré et post natale) (Korpela et coll 1986, Lafuente et coll 1999)

Dans les conditions normales, le Cd atteint à peine le cerveau chez les adultes en raison de la présence de la barrière hématoencéphalique (BHE) ; cependant, cette structure n'est pas entièrement développée chez les jeunes animaux (Pal, 1993), des études ont montré que le Cd peut augmenter la perméabilité du BHE chez les rats (Shukla, 1987) pour pénétrer et s'accumuler dans le cerveau des rats au cours de développement et chez les rats adultes également (Gonc, 2010 ; Mendez-Armenta, 2007).

D'autre part les composantes anatomiques et physiologiques des plexus choroïde deviennent la cible des xénobiotiques, d'où le Cd tend à s'accumuler dans le plexus choroïde à des concentrations beaucoup plus grandes que ceux trouvés dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et ailleurs dans les tissus du cerveau. Une étude humaine a révélé que la concentration de Cd dans les plexus choroïdes était d'environ 2-3 fois supérieure à celle observée dans le cortex cérébral (Manton, 1984). Comme un toxique général des plexus choroïdes, le Cd peut endommager directement l'ultrastructure des plexus choroïdes. En raison des différences dans l'intégrité du BHE (Antonio, 2003) le Cd est donc plus toxique pour les nouveau-nés et les jeunes rats que chez les rats adultes.

Elimination

Le cadmium s'élimine principalement par voie urinaire, de façon très lente, la fraction de la charge corporelle éliminée par jour étant de 0,005 à 0,01 %, c'est-à-dire, une demi-vie de 20 à 40 ans.

En l'absence de lésion rénale et tant que les sites de stockage ne sont pas saturés, l'excrétion urinaire du Cd est proportionnelle à la charge corporelle totale (le Cadmium urinaire est alors un bon indicateur du degré d'imprégnation par le métal) (Nordberg et coll 2007). La survenue de lésions rénales induites par le Cd s'accompagne d'une excrétion urinaire accrue.

L'élimination se fait accessoirement par voie intestinale, par les glandes salivaires et les phanères.

I-1-5 Intoxication au cadmium

Le Cd pose un vrai problème de toxicité du fait que ce ne soit pas un élément indispensable à l'organisme mais qu'il soit électrophile, et qu'une fois absorbé, il ne subisse aucune dégradation métabolique et que par sa forte rétention dans l'organisme il soit très faiblement éliminé résultant en une longue demi-vie biologique chez l'humain (Carrière et coll 2001).

A. Doses tolérées et doses toxiques

Les experts de l'ONAA (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) et de l'OMS (Organisation mondiale de la santé), ont considéré le Cd comme un produit chimique qui n'est pas indispensable à l'organisme, et ils ont fixé des doses journalières admissibles qui n'exposent pas un risque sur la santé humain (FAO/WHO, 1988).

La première DJA a été fixée à une valeur de 400–500 µg par personne par semaine, depuis plusieurs années la DJA a été exprimé plus rationnellement en termes d'apport par kg de poids corporel, et la valeur a été constamment changée. En 2010, la Commission de la sécurité des

produits de consommation (CPSC) a publié un rapport recommandant de nouvelles orientations sur le Cd, dont l'apport quotidien acceptable étant 0,1 µg par Kg par poids corporel par jour pour une exposition chronique (Mead 2010).

B. Intoxication aigue

Intoxication aigue par inhalation

Lors des intoxications aiguës sévères par les 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 sévère accompagnée de dyspnée, de cyanose et de toux (Lauwerys, 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 µg/g (Patwardhan et coll 1976) (Lucas et coll, 1980) (Seidal et coll 1993). Les sujets qui survivent à ce type d'intoxication aigue ne gardent généralement pas de séquelle.

Cependant, certains auteurs rapportent des atteintes pulmonaires différées (Barnhart et coll 1984) (Townshend, 1982). Sur une base des données obtenues lors d'expositions professionnelles, il a été estimé qu'une exposition de 8 heures à 5 mg/m³ pourrait être mortelle et qu'une exposition de 8 heures à 1 mg/m³ pourrait être dangereuse pour la santé humaine.

Intoxication aigue par voie orale

Par voie orale, les symptômes observés sont une gastro-entérite avec crampes épigastriques, des vomissements, des diarrhées et des myalgies. Une intoxication mortelle a été observée lors de l'ingestion volontaire de 5 g d'iodure de cadmium (Wisniewska-Knypl et coll 1971). Un autre cas en 1986 a été décrit suite à l'ingestion de 150 g de chlorure de cadmium (Buckler et coll 1986). 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.

❖ *Etudes chez l'animal*

Intoxication aigue par inhalation

Une CL₅₀ de 30 mg Cd/m³ a été déterminée pour 15 minutes d'exposition à de l'oxyde de cadmium chez le rat (Barrett et coll 1947) et une CL₅₀ chez le lapin est de 28,4 mg Cd/m³ pour 4 heures d'exposition aux poussières de cadmium métallique (Friberg 1950).

En effet, des expositions à l'oxyde de cadmium à des concentrations supérieures à 5 mg/kg induisent une destruction des cellules de l'épithélium pulmonaire, une trachéo-bronchite et une pneumonie. Une étude a été menée chez les rats et les souris pour des concentrations de 0,1 à 10 mg/m³ d'oxyde de cadmium sous forme d'aérosol de 6 heures par jour, 5 jours par semaine, pendant 2 semaines (NTP 1995). Les animaux exposés à la plus forte concentration, qui meurent au bout de 6 jours et présentent une inflammation, une nécrose et une fibrose pulmonaires. Une inflammation au niveau de la cavité nasale et des ganglions lymphatiques trachéo-bronchiques est également observée à 10 mg/m³. À toutes les autres concentrations, une diminution du poids corporel a été rapportée.

Intoxication aiguë par voie orale

Les DL₅₀ des différentes formes solubles de cadmium sont comprises entre 50 et 400 mg/kg de poids corporel chez les rongeurs (Baer et coll 1987) ; (Basinger et coll 1988) ; (Kostial et coll 1978) ; (Kotsonis et coll 1978) ; (Shimizu et coll 1990) ; (ATSDR 2008). Lors de l'exposition par la voie orale, les souris sont plus sensibles que les rats. La toxicité aiguë varie en fonction de la forme chimique des composés du cadmium étudié. Les composés peuvent être classés par ordre croissant de toxicité : CdS, Cd élémentaire, CdO, CdSO₄ et CdCl₂.

Des souris exposées à des doses de 0 – 0,6 – 3,9 – 7,9 – 15,9 – 30,7 – 60,2 – 89,9 mg Cd/kg sous la forme de chlorure de cadmium à des doses différentes par gavage ont présenté des atteintes digestives (Andersen et coll 1988).

C. Intoxication chronique

Le cadmium est un toxique cumulatif de demi-vie très longue, ce qui explique l'évolution progressive des manifestations pathologiques même après arrêt de l'exposition.

L'intoxication chronique a pour origine, soit une inhalation répétée de petites doses de vapeurs ou poussières de Cadmium, soit une ingestion prolongée d'aliments ou de boissons contaminés.

Elle se caractérise par l'association d'atteinte de plusieurs systèmes ou organes :

➤ **Atteintes dentaire**

Signe clinique très caractéristique d'imprégnation précoce, mais inconstant, devant être systématiquement recherché. Il s'agit d'une pigmentation jaune de l'émail due à la présence de sulfure de cadmium éliminé par voie salivaire. Cette pigmentation débute en bague au niveau du collet de la dent, puis s'étend sur toute la moitié proximale en respectant toujours le

bord libre de celle-ci, intéressant surtout les incisives et les canines. La gencive sera toujours épargnée.

➤ **Atteintes rénale lors d'une intoxication chronique**

La néphropathie cadmique est une tubulopathie proximale. Les troubles rénaux sont en général plus précoces que les troubles respiratoires. C'est une tubulopathie proximale et irréversible, toutefois, d'après certaines études, une protéinurie tubulaire débutante peut être réversible en cas de diminution ou d'arrêt d'exposition. Les lésions rénales ne sont que très lentement progressives. Cette tubulopathie s'exprimera sous la forme d'une protéinurie caractérisée par une excrétion accrue de protéines de faible poids moléculaires souvent irréversible (α 1- et β 2-microglobulines ou protéine transporteuse du rétinol RBP)(Järup et coll 1993).

D'autres signes d'altérations tubulaires peuvent s'associer pour former un syndrome de Fanconi : aminoacidurie, glycosurie, hyperphosphaturie et hypercalciurie avec risque de lithiase rénale.

A un stade avancé, il y a une atteinte du tube distal avec insuffisance rénale progressive. Une participation glomérulaire avec albuminurie est rare et discrète.

➤ **Atteinte respiratoire lors d'une intoxication chronique**

L'inhalation d'aérosols particulaires de cadmium peut être à l'origine d'une irritation importante des voies respiratoires. Il a été décrit dans la littérature des cas de rhinite chronique, d'hyposmie, voire d'anosmie (Rose et coll 1998). Des cas de bronchopneumopathie chronique obstructive et d'emphysème pulmonaire ont été également rapportés selon Davison et coll en 1988.

De même, une altération de la fonction respiratoire est suggérée ; celle-ci pourrait évoluer d'après l'arrêt de l'exposition (Davison et coll 1988).

➤ **Atteintes osseuse : ostéomalacie d'origine rénale**

Dans le cas d'une intoxication chronique très avancée (après 15-20 ans), peut apparaître une ostéomalacie d'origine rénale par perte exagérée de phosphate calcique due aux lésions rénales et au fait que le cadmium inhibe l'activation de la vitamine D dans le rein, cette ostéomalacie se manifestera par : de violentes douleurs au niveau du bassin et du col du fémur (os de la cuisse) avec des fissurations osseuses, et des fractures spontanées. Une étude de

cohorte belge chez 294 femmes âgées d'environ 49 ans en moyenne a montré récemment qu'en absence de dysfonction tubulaire rénale, la résorption osseuse en fonction de l'exposition environnementale au cadmium, augmentation de la calciurie et la modification de la sécrétion de certaines hormones calciotropes. Dans ces cas d'autres auteurs suggèrent qu'un effet ostéo-toxique direct du cadmium (Schutte et coll 2008).

➤ **Neurotoxicité**

En effet, un grand nombre des études *in vivo/in vitro* ont montré que l'exposition au Cd affecte de manière significative la fonction du système nerveux périphérique (Miura et coll 2013) et du système nerveux central (SNC) (Marchetti 2014) avec un large spectre de symptômes cliniques, y compris une dysfonction olfactive, une neuropathie périphérique, troubles neurologiques, troubles et retards mentaux, et des difficultés d'apprentissage, ainsi que l'altération des activités moteurs et des changements de comportement à la fois chez les adultes et chez les enfants (Wang et coll 2013). De plus, la neurotoxicité dépendante du Cd a également été associée aux maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson (MP) (Chin- Chan et coll 2015), ainsi que la sclérose latérale amyotrophique et la sclérose en plaques (Sheykhsari et coll 2018) et l'encéphalomyélite myalgique (Pacini et coll 2012).

Dans ce contexte, il a été montré que le Cd est responsable de la production des radicaux libres au niveau du cerveau, ce peut potentiellement endommager les neurones et les oligodendrocytes (OLG), cellules gliales qui myélinisent les axones du SNC. Expérimentalement des études ont montré que le Cd peut être un neurotoxique puissant pour le système nerveux chez des rats fœtaux à 19 jours de la gestation, le Cd a modifié en ce sein la morphologie neuronale après un traitement de 6 h dans un milieu sans sérum avec 10 μM de Cd, alors qu'à 24 h il a été montré une grande perte d'intégrité neuronale principalement mis en évidence par la disparition presque complète des axones. Des concentrations plus faibles de Cd de 1 μM pourraient induire une apoptose cellulaire ainsi qu'à des concentrations plus élevées de Cd, en outre pourrait induire la mort cellulaire nécrotique (L'opez et coll 2003).

Les changements morphologiques étaient principalement situés dans les extensions neuronales (axones et dendrites), qui disparaissent presque après 24 h de traitement avec 1 μM de Cd (L'opez et coll 2003, Yoshida 2001).

A/ La Neurotoxicité développementale

Il existe une autre forme de neurotoxicité, c'est-à-dire une autre manière de perturber le fonctionnement et l'intégrité du SNC. Il s'agit de la neurotoxicité développementale (Rodier, 1995). En effet au cours du développement le cerveau est particulièrement sensible à une série de perturbateurs, qui peuvent mener à toute une série d'altérations structurales et fonctionnelles persistantes.

Le développement du cerveau peut être perturbé par certains médicaments antiépileptiques, par l'éthanol provenant des boissons alcoolisées (Costa et coll 2004), par la nicotine (Slotkin 2004, Slotkin 2008) et par les fluorures (contaminant naturel de l'eau) ainsi que par une série de substances industrielles telles que les métaux lourds à savoir le méthylmercure, l'arsenic, **le cadmium, l'aluminium, ou encore plomb.**

La liste des produits et substances capables d'altérer le développement du cerveau pourrait s'allonger avec les études les concernant.

✓ Sensibilité particulière du cerveau en développement.

Une raison pour laquelle le SNC en développement est plus sensible aux substances neurotoxiques que lorsqu'il atteint sa maturité provient du fait qu'il est plus susceptible d'être exposé à des toxiques. En effet, premièrement la barrière hémato-méningée n'achève sa formation que tardivement : elle ne se termine chez l'Homme que 6 mois après la naissance, laissant la porte ouverte aux toxiques (Adinolfi 1985, Rodier 1995).

Deuxièmement, le rôle de la barrière placentaire s'avère également insuffisant pour empêcher l'entrée de nombreuses substances chimiques dans le corps et le cerveau (Andersen et coll 2000).

Troisièmement, les capacités métaboliques et donc les mécanismes de détoxification atteignent leur maturité seulement après la naissance : fin de la 2^{ème} à la 3^{ème} semaine après la naissance chez le rat et du 2^{ème} au 3^{ème} mois après la naissance chez l'Homme (Ginsberg et coll 2004).

Quatrièmement, un autre phénomène lié à la détoxification génère une plus grande susceptibilité du cerveau en développement d'être atteint par des neurotoxiques. En effet, le Cd peut interagir avec une série de protéines du sérum (albumine) qui permettent par cette interaction de diminuer sa capacité à atteindre le cerveau (Kousba et coll 2004). Cependant, la concentration de ces protéines du sérum est faible durant le développement et augmente avec

l'âge pour jouer un rôle plus efficace chez l'adulte. Par exemple, chez le rat, leur concentration passe de 7 à 12 % du jour postnatal 4 à 90 jours postnatals (Mortensen et coll 1998).

Une autre raison de la sensibilité particulière du cerveau en développement aux toxiques relève de la complexité du développement et des très faibles capacités de réparation possible de cet organe. En effet, durant la vie fœtale, quelques cellules ectodermiques dorsales embryonnaires doivent constituer rapidement des milliards de cellules spécialisées, fortement interconnectées. De plus, pour obtenir un développement optimal, les neurones doivent migrer selon des processus précis, depuis leur point d'origine vers un emplacement précis, assigne, pour y établir des connections nerveuses. Chacun de ces processus du développement du cerveau doit prendre place à la fois à un moment et dans un ordre précis (Rodier 1995, Rice et coll 2000, Bjorling et coll 2008). Toute perturbation de chacun des processus au cours du développement du cerveau peut mener à des troubles de son fonctionnement chez l'adulte, des troubles qui pourront s'avérer irréversibles et donc persistants car il existe peu de capacité de réparation dans le cerveau adulte (Grandjean et coll 2006).

B/ Mécanisme d'action du Cd au niveau le système nerveux central

De l'extérieur des cellules, le Cd peut altérer le système intracellulaire à savoir la concentration de calcium qui est universelle et messenger de signal intracellulaire polyvalent (Berridge et coll 2000). À l'intérieur des cellules, le Cd régule la signalisation du Ca^{2+} en exerçant des effets opposés sur les pools internes de Ca^{2+} . Il bloque la libération de Ca^{2+} stocké en inhibant l'activité des récepteurs 1,4,5-trisphosphate (IP3) et les récepteurs des canaux calcique (figure 2). Le résultat d'augmenter la concentration intracellulaire de Ca^{2+} favorisant l'efflux de calcium du réticulum sarcoplasmique (Choong et coll 2014), de même Cd peut pénétrer dans les neurones via les canaux de calcium voltage-dépendants (Usai et coll 1999).

D'autre part, la cytotoxicité du Cd dépend aussi de l'induction de facteurs de protection parmi lesquels l'activation de la métallothionéine, la stimulation de la synthèse du glutathion, et la présence d'antioxydants. Cette dernière, en particulier, indique l'implication d'espèces d'oxygène réactif (ROS) dans la réponse toxique. En effet, de nombreux rapports indiquent que les mécanismes toxiques du Cd agissent intra-cellulairement principalement par le biais

de la production induite par les radicaux libres, en particulier les espèces réactives de l'oxygène (ROS), aboutissent finalement au stress oxydatif (Jomova et coll 2011).

Cependant, les dommages causés par de faibles niveaux de stress oxydatif peut être neutralisé par des enzymes anti-oxydantes. Après exposition au Cd à faible dose (1-10 μM), l'expression et l'activité des enzymes antioxydants, y compris la métallothionéine (MT), la catalase, la glutathion S-transférase, la glutathion peroxydase, et la quinone oxydoréductase ont considérablement augmenté ainsi que les niveaux cellulaires du glutathion (GSH) (Sandbichler et coll 2016).

Possédant des propriétés chimiques et physiques similaires le Cd, et le zinc (Zn) entre en compétition pour les sites de liaison de protéines enzymatiques et induit la synthèse de la métallothionéine III spécifique du SNC qui, à son tour, se lie au Cd causant sa désintoxication. En plus du Zn, il existe le sélénium (Se) qui est avéré être efficace contre la neurotoxicité du Cd, sachant que le cofacteur important du sélénium est l'enzyme de glutathion peroxydase (GPx), ainsi de réduire le stress oxydatif, et d'améliorer la capacité cellulaire antioxydante (Nemmiche 2017), cependant malgré ses effets protecteurs prouvés du Sélénium contre la neurotoxicité du Cd, il est important de souligner que l'efficacité du Se dépend strictement du sous-type neuronal car récemment, il a été démontré que, même si le Se est efficace sur les neurones catécholaminergiques, il est inefficace sur les neurones cholinergiques (Branca et coll 2018) ce qui explique l'expression de faibles niveaux de GPx au niveau du cerveau (Trépanier et coll 1996).

La fait que les effets du Cd sur le cerveau soient spécifiques à une région (Kumar et coll 1996) apporterait un soutien à cette hypothèse.

D'autre part, il serait important de traiter le rôle des plexus choroïdiens comme première ligne de défense contre les effets néfastes du cadmium sur le système nerveux central. Le plexus choroïdien, contenant une liaison métallique abondante ainsi qu'une concentration élevée de cystine et une activités plus élevées de la superoxyde dismutase et de la catalase, peut isoler efficacement le Cd et empêcher l'entrée de Cd dans le SNC (Zheng 2001). Ainsi, le besoin se pose pour une compréhension plus complète des mécanismes moléculaires qui agissent également dans les cellules choroïde.

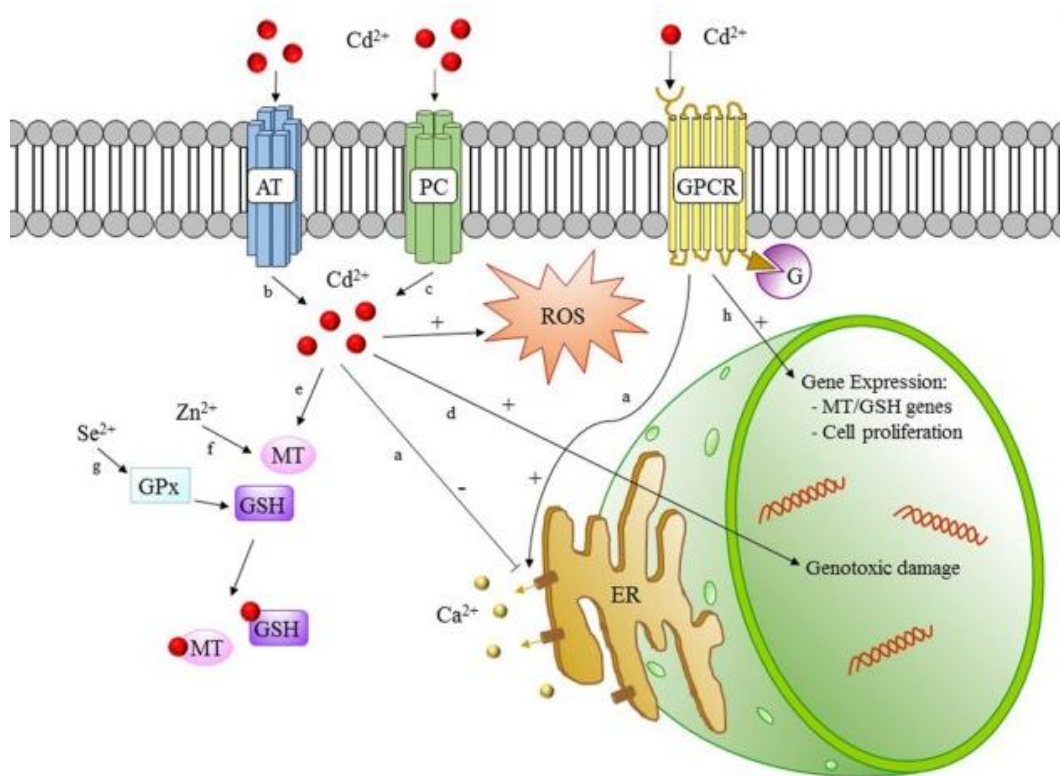


Figure 3 : les dommages oxydatifs induits par le cadmium (Jaccopo et coll 2019)

C/ Les changements d'activité neuronale centrale en réponse au Cd.

Le Cd peut modifier les propriétés de stimulation de la morphine chez le rat l'adulte (Nation et coll 2000), l'exposition périnatale de Cd a été incriminée dans la modification des comportements et dans la réduction des capacités d'apprentissage, en outre des niveaux élevés de Cd et de plomb dans les cheveux des enfants ont été associés à des troubles d'apprentissage.

Les Capacités motrices des enfants exposés au Cd in utero étaient significativement affectés (Bonithon-Koppet coll 1986) ainsi que des défauts de comportement, changements neurochimiques, et des lésions cérébrales ont été signalés dans des animaux expérimentaux chez l'homme, ainsi que des symptômes parkinsoniens produits (Okuda et coll 1997).

Le Cd induit la mort neuronale dans les neurones corticaux à travers un mécanisme combiné de l'apoptose et de la nécrose impliquant la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la peroxydation lipidique (L'opez et coll 2006). En ce qui concerne l'évaluation des troubles du comportement, l'étude transversale de Bao et coll (2009), en Chine, a révélé une fréquence plus élevée, des problèmes sociaux et problèmes d'attention associés à des niveaux plus élevés de cadmium dans les cheveux des enfants âgés de 7-16 ans (Bao et coll 2009),

bien qu'une autre étude n'ait trouvé aucune association significative entre l'exposition de cadmium et ces troubles (Yousef et coll 2011).

➤ **Génotoxicité**

L'effet de génotoxicité du Cd est connu à affecter la prolifération et la différenciation cellulaires, le cycle de progression cellulaire, la synthèse de l'ADN et l'apoptose. Récemment, un effet génomique important du Cd à savoir l'inhibition de la réparation d'ADN a été rapporté (Giaginis et coll 2006) pouvant représenté une cause d'instabilité génomique (Hartwig et coll 2002) conduisant au stress oxydatif et à la cancérogenèse.

Les données résumées dans ce chapitre indiquent que l'exposition au cd pendant le développement (avant et après la naissance) peut provoquer de profondes perturbations dans la morphologie du SNC. Dans la plupart des cas, la preuve de tels effets délétères est fournie par données expérimentales des résultats chez l'homme.

I-2 L'ALUMINIUM

I-2-1 Introduction

Les métaux sont des matériaux omniprésents dans notre environnement. Certains métaux sont des oligo-éléments indispensables à la vie, constituants des métallo-enzymes impliqués dans de multiple processus métaboliques.

De point de vue toxicologique les métaux possèdent une large gamme de toxicité, certains sont biologiquement inertes et biologiquement atoxiques, d'autre ont des effets essentiellement locaux (peaux et voies respiratoire) en raison d'une faible absorption et/ou d'une faible pénétration intracellulaire. D'autres, enfin, possèdent une importante toxicité systémique, par le biais de la pollution de l'environnement et de la contamination de l'eau ou des aliments. (François, 1997)

Parmi les métaux lourds toxiques l'aluminium figure en bonne place. Il est présent dans tous les milieux environnementaux, et ses propriétés physico-chimiques en font également un métal très utilisé pour des applications diverses : bâtiment, transports, emballage, agroalimentaire, ustensiles de cuisine, pharmacie, chirurgie, cosmétologie, traitement des eaux d'alimentation...etc. (Gourier et coll 2004), Son abondance dans l'environnement le rend pratiquement inévitable, c'est pour cette raison que des études ont été effectuées depuis longtemps sur les effets de l'aluminium sur l'environnement, le corps humain, et l'alimentations. La toxicité de l'aluminium vise principalement le système immunitaire, le système hématopoïétique, le système nerveux central, le foie, les poumons, et l'os.

I-2-2 Historique

L'aluminium (du latin alumen, qui signifie « léger ») est l'élément métallique le plus abondant et le troisième constituant de l'écorce terrestre (8 % de son poids) après l'oxygène (47 %) et le silicium (28 %). Il n'a été isolé qu'au milieu du XIX^{ème} siècle. D'abord utilisé à fabriquer des bijoux, il s'est peu à peu imposé dans de nombreux domaines et a participé aux grandes mutations contemporaines : transports, habitat, alimentation, modes de vie, esthétique.... Aujourd'hui, l'aluminium représente un important secteur industriel ; avec plus de 30 millions de tonnes annuelles, il est le métal le plus consommé après le fer. À l'état naturel, l'aluminium n'est jamais retrouvé sous forme de métal : très réactif il est toujours combiné à d'autres éléments. (Gourier et coll 2004).

I-2-3 Propriétés physico chimique

La masse atomique de l'aluminium est de 26,98, son nombre atomique est de 13 et sa densité est de 2,7. Son point de fusion est de 660 °C et son point d'ébullition est de 2467 °C. C'est un métal amphotère qui réagit avec les acides (chlorhydrique, perchlorique, et sulfurique) et les bases fortes (Schaller et coll,1994).

L'aluminium est un métal gris argenté, brillant, qui présente des propriétés physico-chimiques particulièrement intéressantes : basse densité, grande malléabilité, grande ductilité, bonne conductivité électrique et chimique, résistance à la corrosion, et à la traction. Il est trois fois plus léger que l'acier (tableau 1). Il ne s'altère pas au contact de l'air en raison de la formation d'une couche protectrice d'alumine en surface, ce qui le rend très résistant à la corrosion de l'air mais aussi de l'eau. Il est de plus totalement recyclable (Gourier et coll 2004).

Tableau 1 : *Paramètres de l'aluminium (INERIS 2005)*

Information générales	
Nom, symbole, numéro	Aluminium, Al, 13
Série chimique	Métal pauvre
Groupe, période, bloc	13 (IIIA), 3, p
Masse volumique	2,6989 g·cm ⁻³
Dureté	1,5
Couleur	Blanc lustre métallique
Masse atomique	26,981
Rayon atomique	125 pm (118 pm)
Structure cristalline	Cubique à faces centrées

A. Utilisation de l'aluminium

A une époque où l'on parle beaucoup de recyclage des déchets industriels et domestiques, l'aluminium semble être un bon exemple de matériau recyclable, c'est à cette raison qu'il est utilisé dans l'industrie automobile, aéronautique, et même dans les emballages.

Il est également employé pour la fabrication d'ustensiles de cuisine, de boîtes pour le conditionnement des boissons (plus de 95 % des bières et boissons gazeuses).

En feuille, il est utilisé en cuisine pour les plats préparés et pour la conservation des aliments. L'aluminium se cache dans de très nombreux produits partout dans notre alimentation moderne comme les additifs alimentaire (E541, E173, E520, E559...), les emballages de conserves (boîtes-boissons, conditionnements alimentaires), et parfois en quantités significatives ; le cas de certaines crèmes cosmétiques.

Les sels d'aluminium sont utilisés par l'industrie pharmaceutique comme ingrédients importants pour antiacides, les vaccins (adjuvant d'activation), les anti diarrhéiques, certains dentifrices, déodorants (anti transpirants), ou encore de l'eau du robinet (comme adjuvant de floculation : sulfate d'aluminium pour éliminer les micro-organismes et les matières organiques de l'eau).

D'autres sels d'aluminium sont utilisés pour amender des engrais que sont : le lisier bovin, le lisier porcin (Lefcourt et coll 2001) et la fiente de volailles. L'aluminium est utilisé aussi comme additif pour le blanchiment, alors que le sulfate d'alumine est utilisé comme

agent de transformation de réaction pour des substances comme les amidons modifiés, c'est aussi un conservateur générique (charcuterie, plats préparés), et un antiagglomérant (présent même dans le sel de table) (Jean et coll 2004).

I-2-4 Expositions à l'Aluminium

A. Expositions professionnelles

Les quantités d'aluminium absorbées par l'organisme sont en fonction des teneurs en aluminium dans les milieux de contact (figure 4), et des habitudes de consommation individuelle. Parmi les milieux de contact, il y a premièrement le secteur d'activité comprenant la fabrication du métal d'aluminium est la première transformation (affinage, filage, laminage). La deuxième transformation et la fabrication de produits finis constituent le secteur d'emploi le plus vaste : fonderies, travaux mécaniques des métaux (lessivage, découpe, rectification, assemblage, soudage, vissage, etc.), travaux chimiques des métaux (traitement de surface, anodisation, etc.), fabrication de produits finis (emballage, transports, aéronautique, bâtiment et travaux publics, peintures, pharmacie, etc)

Un travailleur exposé 8 heures par jour à des concentrations comprises entre 0,2 et 30 mg/m³ peut donc inhaler quotidiennement 5 jours par semaine de 2 à 300 mg d'Al (pour un débit ventilatoire de 10 m³/8 h).

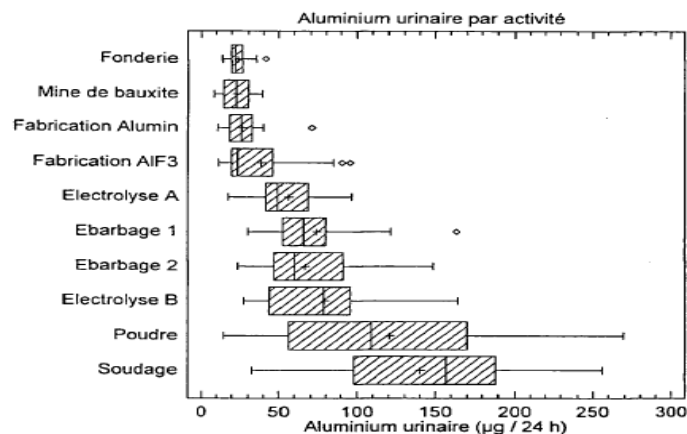


Figure 4 : Répartition des concentrations urinaires d'aluminium des groupes d'exposés selon la nature de l'exposition professionnelle à l'aluminium

En plus des différents types d'expositions professionnelles, des expositions non professionnelles existent aussi

B. Expositions de la population générale

- **L'air**

La concentration atmosphérique de l'aluminium dépend des sources géologiques et industrielles. Elle est habituellement inférieure à $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ et presque toujours inférieure à $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Une revue des données disponibles dans les pays européens, en Amérique du Nord et en Asie (Lee et coll 1994), relève des concentrations habituelles comprises entre $0,008 \mu\text{g}/\text{m}^3$ et $7 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

- **Aliments**

En général les apports alimentaires en aluminium ont trois origines : celui contenu naturellement dans les aliments, les additifs alimentaires et les matériaux au contact des denrées alimentaires. Plusieurs denrées alimentaires non transformées contiennent habituellement moins de $5\text{mg}/\text{kg}$. Des concentrations plus élevées ont souvent été observées dans les pains (les taux les plus élevés se rencontrant dans les biscuits), certains légumes (les champignons, les épinards..), les fruits glacés, les aliments riches en sucre, les préparations à cuire au four et une majorité de produits farineux et de farines. Les denrées alimentaires à très fortes concentrations moyennes en aluminium comprennent les feuilles de thé, les herbes, le cacao, ainsi que les épices (EFSA, 2008).

D'autre part une migration de l'aluminium à partir des emballages, des ustensiles et des conditionnements de boissons existe et dépend de la qualité du matériau, de l'existence d'un revêtement (plastique ou vernis), de la durée du contact auxquelles s'ajoutent le pH et la salinité de l'aliment (à pH compris entre 4 et 8, la migration est négligeable ; à pH inférieur à 2, l'aluminium est extrait du matériau).

Le JECFA (Joint Expert FAO/WHO Comité on Food Additives) a établi en 1988 une dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de $7 \text{mg}/\text{kg}$ de poids corporel. Cette valeur-guide est celle encore actuellement considérée par l'OMS.

- **Eaux**

L'apport d'aluminium par l'intermédiaire des eaux de distribution publique a trois origines.

- 1- Sa présence naturelle dans les eaux de sources, dans ce cas il se trouve sous trois formes : insoluble, colloïdale et soluble correspondant à des formes libres complexes minérales ou organiques.
- 2- Traitement des eaux : les réactifs chimiques utilisés pour la coagulation des eaux sont des sels de fer ou d'aluminium qui, par hydrolyse, conduisent à des formes cationiques plus ou moins chargées électriquement. Pour les sels d'aluminium, ce sont principalement le sulfate d'aluminium et les sels d'aluminium pré polymérisés.
- 3- Traitement de l'eau de certains réseaux d'immeubles dans un procédé de lutte anticorrosion avec un effet secondaire antitartre. Il s'applique aux installations de production et de distribution en acier galvanisé à circuit bouclé et à circulation continue. Il est très employé pour la production d'eau chaude sanitaire en milieu hospitalier.

La législation en vigueur en France du Code de la Santé Publique fixe une référence de qualité de 0,2 mg/l en Al total dans les eaux destinées à la consommation humaine.

- **Produits cosmétiques**

L'aluminium entre dans la composition d'un grand nombre de produits cosmétiques sous forme de sels et dérivés solubles (catégorie directe) ou insolubles (catégorie indirecte) susceptibles de libérer l'aluminium par réaction chimique ou relargage.

Les principaux sont les déodorants/antiperspirants, qui peuvent contenir réglementairement (directive 76/768/CEE relative aux produits cosmétiques) 20 % de sels solubles d'Al. Les produits pour soins du visage et soins du corps représentent les plus grands chiffres de vente, mais leur teneur en sels d'aluminium solubles (2 % et 1 %) est bien inférieure à celles des antiperspirants. Sur la base d'une application de 0,5 g/j de produit antiperspirant (Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation-SCCNFP 10/2000), les experts de l'Afssaps ont estimé qu'une utilisation journalière d'antiperspirants pouvait correspondre à une application de 100 mg d'Al sur la peau (tableau 2).

Tableau 2 : Détermination des composés de l'aluminium pouvant être utilisés dans les produits cosmétiques, d'après CosIng (Base de données européenne de la Commission européenne sur les ingrédients et les substances cosmétiques (Cosmetic ingredients database))

Ingrédients non restreints	Ingrédients restreints (Annexe III de la directive)
Aluminium Bromohydrate	Aluminium Zirconium Octachlorohydrate
Aluminium Chloride	Aluminium Zirconium Octachlorohydrate Gly
Aluminium Chlorohydrate	Aluminium Zirconium Pentachlorohydrate
Aluminium Chlorohydrate Gly	Aluminium Zirconium Pentachlorohydrate Gly
Aluminium Chlorohydrate Peg	Aluminium Zirconium Tetrachlorohydrate
Aluminium Chlorohydrate Pg	Aluminium Zirconium Tetrachlorohydrate Gly
Aluminium Citrate	Aluminium Zirconium Trichlorohydrate
Aluminium Dichlorohydrate	Aluminium Zirconium Trichlorohydrate Gly
Aluminium Dichlorohydrate Peg	
Aluminium Dichlorohydrate Pg	
Aluminium Sesquichlorohydrate	
Aluminium Sesquichlorohydrate Peg	
Aluminium Sesquichlorohydrate Pg	
Aluminium Sulfate	
Ammonium Alum	
Sodium Alum	
Sodium Aluminium Chlorohydroxy Lactate	

- **Produits de santé**

L'aluminium est utilisé dans les médicaments antiacides et les pansements gastro-intestinaux comme principe actif mais également comme excipient. Selon l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 20 principes actifs à base d'Al sont enregistrés en France à travers de nombreuses spécialités (58 noms commerciaux). Il s'agit le plus souvent d'hydroxyde ou de phosphate d'Al, de carbonate basique ou de silicates d'Al.

Selon les médicaments utilisés et la posologie retenue, l'apport quotidien peut être compris entre 500 et 5000 mg. Il est à noter que les préparations à base d'aluminium peuvent modifier l'absorption digestive d'autres médicaments tels que la phénytoïne et la digoxine, et entraîner une déplétion en phosphate par fixation des phosphates dans le tube digestif.

- **Dialyse**

La dialyse chez les personnes en insuffisance rénale terminale réalise une situation quasi expérimentale d'exposition à l'aluminium. Les apports en aluminium sont essentiellement liés à la présence d'aluminium dans l'eau utilisée pour la préparation du dialysat (à savoir l'eau du réseau de distribution, qui doit être traitée, le plus souvent par osmose inverse, pour devenir l'eau utilisée pour diluer les solutions concentrées pour

hémodialyse) et à l'aluminium contenu dans la poudre de bicarbonate. Une partie beaucoup plus faible est apportée par les concentrés acides eux-mêmes.

Donc comme il est documenté dans la littérature, la dialyse a constitué une des premières situations d'exposition à l'aluminium. L'eau pour dilution ainsi que l'acide doivent répondre aux exigences de la pharmacopée européenne, en matière de valeurs limites en aluminium, fixées respectivement à 10 µg/l (norme 1167 - 2e édition de la pharmacopée européenne - 1992). De façon moins systématique, la prise d'hydroxyde d'aluminium (Al(OH)₃) prescrit par voie orale pour fixer les phosphates contribue à l'apport global en aluminium.

- **Nutrition parentérale**

Pour les solutés de nutrition parentérale, la pharmacopée européenne impose, en ce qui concerne le « contenant » (flacon de verre ou conditionnement à base de polyoléfines, polypropylène ou polytéréphtalate), une valeur limite d'aluminium extractible de 1 ppm. Dans les solutés, la source principale d'aluminium était l'hydrolysate de caséine, qui n'est plus utilisé de nos jours. D'après les revues réalisées par Klein (Klein et coll 1995) et Alwood (Allwood et coll 1999), les additifs utilisés encore récemment dans les solutés d'alimentation parentérale contenaient entre 8 et 7700 µg/l d'aluminium.

- **Vaccins**

L'aluminium fait partie de nombreux vaccins en tant qu'adjuvant, cet aluminium est d'autant plus redoutable que pénétrant dans le corps par injection, il court-circuite la barrière intestinale, une partie reste dans le lieu d'injection et une autre partie passe rapidement dans le sang et se dissémine dans l'organisme, en pénétrant dans tous les tissus et tous les organes, y compris le cerveau. Comme l'aluminium est utilisé dans les vaccins pour sa fonction adjuvante c'est-à-dire pour le renforcement de la situation du système immunitaire, malheureusement il oriente préférentiellement la réponse immunitaire vers une production importante d'anticorps, ce qui peut conduire au développement des maladies (la myofasciite à macrophage), d'allergies, voire dans certains cas de maladies auto-immunes.

Malgré ces dangers les firmes pharmaceutiques continuent à utiliser l'aluminium comme adjuvant des vaccins, c'est ainsi que paradoxalement les nouveaux vaccins, présentés comme préventifs du cancer du col de l'utérus contiennent de l'aluminium.

I.2.5. Aluminium dans l'organisme (toxicocinétique)

Certains facteurs jouent un rôle dans la manifestation des effets toxiques : l'espèce, l'âge, le sexe, l'appartenance ethnique, les variations individuelles, des facteurs physiologiques (grossesse, nutriments, hyperventilation, hypersudation,...), des états pathologiques (hépatites, asthme,...), des facteurs environnementaux.

I.2.5.1. L'absorption

A. L'absorption digestive

L'absorption digestive de l'aluminium est faible chez le sujet sain et est influencée par la présence d'aliments dans le tractus digestif (inférieure à 1 % chez le sujet à jeun, elle est d'environ 0,5 % peu de temps après une prise alimentaire) (Lauwerys et coll 2001). Selon Kaehny (Kaehny et coll 1977), les phosphates présents dans les aliments en quantités importantes, rendent l'aluminium moins disponible pour l'absorption en formant des complexes, même à un pH faible. Les auteurs ont avancé que la présence de phosphates dans l'alimentation était probablement le principal mécanisme naturel qui empêchait l'aluminium de passer dans la circulation sanguine.

Les principaux facteurs qui influencent l'absorption sont la solubilité, le pH et la forme chimique. Cependant, même si les coefficients d'absorption pourraient différer selon que l'aluminium provienne de l'eau, d'aliments ou de produits de santé (pansements gastriques et de médicaments antiacides à base d'aluminium), l'absorption digestive reste dans toutes les études réalisées dans une fourchette de 0,01 à 1 %. Ainsi, l'absorption serait de 0,5-1 % pour le citrate d'aluminium, forme la plus soluble alors qu'elle serait de l'ordre de 0,01 % pour l'hydroxyde, presque insoluble (Dinman et coll 2001) La présence de silice tend à limiter l'absorption digestive de l'aluminium. L'étude de Stauber (Stauber et coll 1998) visant à comparer la biodisponibilité de l'aluminium naturellement présent dans les aliments et de l'aluminium présent dans les eaux de boisson traitées par sulfate d'aluminium, conclue à l'absence de différence entre eau et aliments (biodisponibilité de 0,37 % de l'aluminium total et de 0,56 % de la fraction chimiquement labile de l'aluminium pour les eaux de boisson traitées par sulfate ; biodisponibilité comprise entre 0,28 et 0,64 % pour l'aluminium contenu naturellement dans les aliments et notamment le thé). Par ailleurs, sur la base des études de Chedid (Chedid et coll 1991) et de Priest (Priest et coll 1998), l'Agence de protection de l'environnement de Californie (OEHHA 2001) ne considère que l'absorption par voie digestive de l'aluminium contenu dans les antiacides est d'environ 0,2 %.

B. L'absorption respiratoire

La voie respiratoire est systématiquement décrite comme une voie mineure d'exposition à l'aluminium chez les sujets non exposés professionnellement. Néanmoins, en situation normale, les poumons reçoivent en continu de l'aluminium, majoritairement sous forme de particules, de silicates et autres composés faiblement solubles élevées (Alfrey et coll 1980) (Teraoka et coll 1981).

Une partie des particules contenant de l'aluminium qui se déposent au niveau du tractus respiratoire est repoussée par action mucociliaire. Ces particules sont alors mélangées à la salive, dégluties, et rejoignent alors le tractus digestif. Une partie de l'aluminium inhalé est donc absorbée par voie digestive. Il a été suggéré qu'une partie de l'aluminium inhalé pouvait également être absorbée à travers le système olfactif et atteindre par transport axonal le cerveau (Roberts et coll 1986).

La quantité d'aluminium qui se dépose dans les poumons est fonction de la durée et du niveau d'exposition, du volume d'air inhalé, de la taille des particules. Selon Van Oostdam (Van et coll 1990), la fraction de particules d'aluminium effectivement retenue dans les poumons serait de 35 % de la quantité totale inhalée.

L'étude de Priest (Priest et coll 1998) réalisée en utilisant l'oxyde d'aluminium marqué tend à montrer que 45 % environ de la fraction inhalée qui s'est déposée est éliminée rapidement par des mécanismes de clairance dans la première journée qui suit l'inhalation. La plus grande partie de l'oxyde d'aluminium restant est éliminée par des mécanismes similaires mais plus lents, avec une demi-vie de rétention totale de 72 jours. Une petite fraction, environ 4,5 % du dépôt dans le poumon, serait dissoute et pénétrerait le flux sanguin.

La revue de Nayak (Nayak et coll 2002) cite une fraction d'aluminium absorbée à partir des poumons de 3 %. Cependant, on ne retrouve pas dans la littérature de valeur consensuelle sur la fraction déposée dans le poumon et celle qui est finalement absorbée par l'organisme.

Au total, les données disponibles ne permettent pas de retenir de valeurs précises d'absorption de l'aluminium à partir de la voie pulmonaire. Cependant, les coefficients d'absorption par voie pulmonaire ne semblent pas au vu des chiffres avancés beaucoup plus faibles que ceux proposés pour les sels d'aluminium par voie digestive.

C. Absorption cutanée

L'absorption cutanée de l'aluminium a été peu étudiée. Une seule étude (Flarend et coll 2001) réalisée chez deux sujets : un homme et une femme ont exploré à l'aide de l'isotope ^{26}Al , par la technique AMS (Accelerator mass spectrometry), l'absorption cutanée d'aluminium après une application unique de 84 mg de chlorhydrate d'aluminium (ACH) sous les aisselles. L'ACH est un complexe d'aluminium hydrosoluble utilisé comme principe actif dans de nombreux antiperspirants. L'étude a montré que l'aluminium a été absorbé et éliminé dès le premier jour suivant l'application et durant au moins 44 jours. La fraction absorbée, estimée à partir des concentrations urinaires, était de 0,012 % de la dose d'aluminium appliquée.

I.2.5.2. Distribution, métabolisme et élimination

A. Distribution et métabolisme

Chez l'homme, le transport de l'aluminium au niveau sanguin a été tout particulièrement étudié par Day, (Day et coll 1994) en utilisant l'isotope radioactif ^{26}Al . Vingt-quatre heures après l'injection, 99 % de l'aluminium sanguin se retrouve dans la fraction plasmatique ; plus tardivement, la concentration intra-érythrocytaire augmente pour atteindre 14 %. Dans le plasma, l'aluminium est lié de façon préférentielle à la transferrine (80 %), mais également à l'albumine à hauteur de 10 %, la fraction restante (10%) étant véhiculée par des protéines de bas poids moléculaire (PBPM). Le couple Al-transferrine se dépose préférentiellement dans la rate et le foie, riches en récepteurs-transferrine, alors que le couple Al-PBPM se dépose dans l'os où les récepteurs-transferrine sont absents.

La charge naturelle en aluminium chez le sujet sain varie de 30 à 50 mg (ATSDR, 1999), et se répartit essentiellement dans l'os (de l'ordre de 50 %), le poumon (environ 25 %) et le foie (20 à 25 %), le pourcentage restant se répartit dans les autres organes, notamment le système nerveux central et la rate, les concentrations dans les tissus et notamment dans le poumon et le cerveau (et plus précisément au niveau de la matière grise) augmentent avec l'âge (ATSDR, 1999) (figure 5) ; Cette accumulation dans le SNC serait liée à une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE) qui a été démontré chez le rat en 1983 par William et coll. De plus, chez les personnes âgées, la perte osseuse (qui entraîne un relargage de l'aluminium stocké) et la diminution de la fonction rénale seraient à l'origine de l'augmentation de l'aluminémie observé chez cette population (Institut de veille sanitaire, 2003)

Le passage de l'aluminium au travers de la BHE se fait par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes. Mais ils ne sont pas tous encore bien connus pour le moment. Le premier mécanisme fait appel à une endocytose médiée par le récepteur à la transferrine (Transferrin receptor-mediated endocytosis, TfR-ME), ce mécanisme été mis en évidence in vivo/in vitro avec de l'aluminium marqué administré chez des rats.

Le second mécanisme fait quant à lui intervenir un transport actif du citrate d'aluminium (ATP-dépendant et sodium-indépendant) par un transporteur inconnu à ce jour, mais qui serait l'un des transporteurs des monocarboxylates, ou l'un des transporteurs d'anions organiques présents sur la BHE (haute conseil de la santé publique, 2013).

Bien que la grande majorité de l'aluminium absorbé dans le sang forme un complexe avec la transferrine, le mécanisme intervenant au niveau de la BHE serait quantitativement bien moins important que celui mettant en jeu le citrate (qui représente seulement 7 à 8 % des couples formés à partir de l'aluminium absorbé). Ceci a été mis en évidence par des études montrant l'augmentation rapide de la quantité d'aluminium retrouvée dans le cerveau après une injection de citrate d'aluminium ou encore par le passage important d'aluminium chez des souris hypotransferrinémiques, cela a été expliqué par le fait que l'aluminium peut former des liaisons de coordination avec les groupements carboxylates et le groupe hydroxyle du citrate, ce qui laisse un groupement hydroxylate terminal libre à pH physiologique. La vitesse d'action de ce mécanisme serait suffisante pour expliquer la vitesse d'apparition de l'aluminium dans le cerveau après injection de citrate d'aluminium en IV (Institue de veille sanitaire 2003).

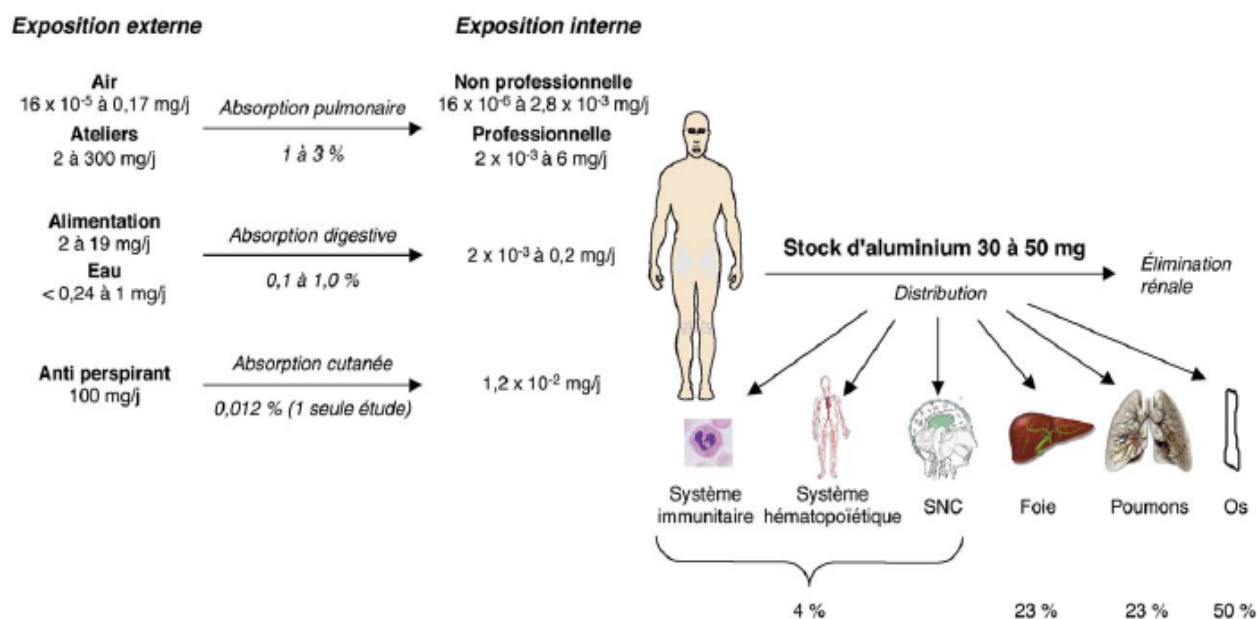


Figure 5 : Absorption quotidienne et distribution de l'aluminium dans l'organisme humain

(Ref : Institut de Veille Sanitaire, département santé-environnement)

B. Elimination

Chez l'homme, la voie urinaire est la principale voie d'excrétion de l'aluminium absorbé (83 %). L'élimination urinaire chez les individus à fonction rénale normale est comprise entre 3 et 20 μg (Kaehny et coll 1977) (Valkonen et coll 1997) (Lauwerys et coll, 2001), les chélateurs, tels que l'EDTA et la déféroxamine, peuvent augmenter l'élimination urinaire de l'aluminium par effet complexant. La demi-vie d'élimination dépend de la durée d'exposition et de la redistribution de l'aluminium à partir des sites de stockage et peut aller jusqu'à quelques années. Elle est tri-phasique : la demi-vie d'élimination initiale est de quelques heures, celle de la phase suivante de quelques semaines, et la dernière généralement supérieure à 1 an (Bismuth 2000).

I.2.6. Les Niveaux des concentrations d'aluminium dans l'organisme

Chez la plupart des individus, la concentration sérique ou plasmatique du métal est inférieure à 10 $\mu\text{g/l}$. (Lauwerys et coll 2001) (Valkonen et coll 1997).

Chez les personnes exposées, les concentrations sériques mesurées sont du même ordre et généralement inférieures à 20 $\mu\text{g/l}$, de sorte que cet indicateur peut difficilement être employé pour évaluer l'exposition professionnelle au métal.

L'excrétion urinaire d'aluminium est habituellement inférieure à 20 µg/l et en moyenne inférieure à 10 µg/l. (Lauwerys et coll 2001) (Valkonen et coll 1997)

En milieu de travail, l'aluminium urinaire est l'indicateur biologique d'exposition de référence. Les hygiénistes allemands proposent une valeur limite (BAT, Biologischer ArbeitsstoffToleranz-Wert) de 200 µg/l, qui correspondrait à une exposition moyenne à une concentration atmosphérique de 6 mg/m³ de poudre d'aluminium (BAT, Biologischer ArbeitsstoffToleranz-Wert) (Letzel et coll 1996).

Les concentrations osseuses varient de 0 à 20 µg/g de poids sec chez les individus relativement jeunes et peuvent excéder 20 µg/g chez certaines personnes âgées. (O'Mahony et coll 1995), dans les tissus mous, les concentrations sont d'environ 1 à 4 µg/g de poids sec.

Tableau 3 : Concentrations biologiques en aluminium chez la population générale, dialysée et professionnelle

	Sujets sains	Patients dialysés	Professionnels de l'aluminium
Aluminium sérique	5 à 10 µg/L	< 50 µg/L	< 20 µg/L
Aluminium urinaire	< 20 µg/L	-	50 à 100 µg/L (poste soudure) 12 à 135 µg/L (postes affinage et production poudre)
Aluminium osseux	< 20 µg/g (sujets jeunes) > 20 µg/g (sujets âgés)	30 à 100 µg/g	-
Aluminium intracérébral	1 à 3 µg/g	5 à 7 µg/g (sans encéphalopathie) 20 à 25µg/g (avec encéphalopathie)	-
Aluminium dans le LCR	0 à 3 µg/L	-	-

❖ Toxicodynamique de l'Aluminium

Le rayon de l'ion Al^{3+} , est très polarisant, ce qui explique qu'il interagisse avec les molécules d'eau et les anions hydroxyle, sulfate, phosphate et fluorure. Au contact d'un acide fort, des ions Al^{3+} peuvent se détacher pour être libérés en solution. La demi-vie dépend de la durée d'exposition mais aussi de la distribution de l'aluminium à partir des sites de stockage ; elle serait triphasique : une demi-vie urinaire d'environ 7 heures, une de quelques semaines et une de plusieurs mois voire années selon l'ancienneté de l'exposition (Gourier et coll 2004). Concernant l'interaction dans l'organisme, l'ion aluminium présente des analogies avec l'ion ferrique avec lequel il pourrait entrer en compétition au niveau de certains enzymes ou sites de fixation.

Comme c'est le cas du fer, l'aluminium interfère aussi avec le métabolisme du fluor, du phosphore, du cuivre, du vanadium, du zinc, du silicium, ce qui peut donner lieu à de multiples désordres. Au niveau du foie, il perturbe le métabolisme des graisses et favorise ainsi l'obésité (Jean 2004). Le manque de fer, de calcium et magnésium augmente également l'absorption de l'aluminium

I.2.7. Intoxication à l'aluminium

C'est en 1921 que des signes de toxicité liés à l'aluminium chez l'homme sont décrits pour la première fois dans la littérature : un métallurgiste qui trempait des pièces métalliques chauffées au rouge dans un bain d'acide nitrique en utilisant un support en aluminium développe une encéphalopathie (Spofforth 1921).

➤ Doses tolérées et doses toxiques

Les valeurs usuelles pour une population normale sont inférieures à 10 $\mu g/l$ et pour les hémodialysés inférieures à 20 $\mu g/l$. Il y a lieu de considérer qu'il y a une augmentation excessive de la charge corporelle en aluminium si le taux de 60 $\mu g/l$ est dépassé. Une surveillance sanitaire renforcée est requise si le taux plasmatique dépasse 100 $\mu g/l$.

I.2.7.1. Signes cliniques

A. Intoxication aigue

Aucune valeur de CL_{50} par inhalation n'est disponible (OMS IPCS, 1997) (ATSDR, 1999). La toxicité aigue de l'aluminium est influencée par sa solubilité et la biodisponibilité des composés administrés (OMS IPCS, 1997). Les cas d'intoxications

aigues par voie orale sont rares et généralement dus à des ingestions accidentelles ou volontaires (suicide) de phosphore d'aluminium. Ils peuvent provoquer des œdèmes pulmonaires, tachycardie, hypotension, dysfonction hépatique, protéinurie, anurie (Khosla et coll 1988). Cependant la toxicité observée est probablement due à la formation d'hydrogène phosphore gazeux plutôt qu'à l'exposition à l'aluminium.

Les composés de l'aluminium sont largement utilisés dans les produits anti transpirants sans effets nocifs pour la peau ou pour d'autres organes. Cependant les personnes particulièrement sensibles à certains anti transpirants contenant de l'aluminium développent des éruptions cutanées liées à la présence d'aluminium (Brusewitz 1984).

L'immunisation des enfants avec des vaccins contenant des dérivés de l'aluminium peut entraîner le développement d'une hypersensibilité retardée (OMS IPCS, 1997).

B. Intoxication chronique

De nombreuses recherches ont été menées afin d'établir des liens entre l'aluminium et certaines maladies dues à l'exposition chronique. L'une de ces recherches a évalué la probabilité de 1 à 10 pour que l'aluminium joue un rôle dans l'apparition de nombreuses maladies (tableau I-3). La note 10 signifie que l'implication de l'aluminium dans la pathologie a été démontrée mais pas qu'il est le seul responsable. De plus il faut tenir compte des doses et du fait que chaque personne réagit différemment à la présence d'aluminium dans son organisme.

Tableau 4 : *Classification des maladies chroniques dont l'aluminium est mis en cause*

Maladies ou pathologies	Probabilité de 1 (basse) à 10 (élevée)
Anémie	10
Ostéomalacie (décalcification osseuse)	10
Encéphalopathie de dialyse	10
Aluminose (maladie pulmonaire due à l'inhalation de la poussière d'aluminium)	10
Hyperplasie lymphoïde cutanée (affection de la peau)	8 – 10
Myofasciite à macrophage (lié aux vaccins)	8 – 10
Maladie de Crohn	7 – 9
Sarcoïdose (inflammation entraînant des désordres immunologiques)	7 – 9
Asthme	7 – 9
Epilepsie	7 – 8
Maladie d'Alzheimer	7 – 8
Syndrome de la fatigue chronique	5 – 7
Obésité	5 – 7
Diabète	5 – 7
Arthrite	5 – 7
Cancer	4 – 8
Sclérose de plaques	4 – 6
Autisme	4 – 6

C. *Quelques maladies développées chez les personnes hémodialysées*

La quasi-totalité des effets observés chez l'homme relèvent du domaine de la toxicité chronique. Les premiers signes de toxicité liés à une exposition chronique à l'aluminium ont été révélés en milieu professionnel et chez les patients [hémodialysés](#). Par la suite, des études menées en population générale principalement axées sur le risque neurologique ont été mises en œuvre. Pour autant, si certains effets liés à une exposition chronique à l'aluminium peuvent être actuellement considérés comme avérés (encéphalopathie, troubles psychomoteurs, atteinte du tissu osseux sous forme d'ostéomalacie et atteinte du système hématopoïétique sous la forme d'une anémie hypochrome), il apparaît que pour d'autres effets initialement suspectés (c'est le cas de la maladie d'Alzheimer), et à l'état actuel des connaissances, une relation causale ne peut être raisonnablement envisagée.

C.1/ Effets neurologique

L'omniprésence de ce métal dans l'environnement et l'utilisation répandue dans la transformation des aliments, le stockage et dans l'industrie pharmaceutique, ainsi que de son développement clinique important, a un intérêt considérable pour étudier les mécanismes de ses effets neurotoxiques variés. Ainsi les niveaux élevés de cet élément dans l'environnement ont été associés aux changements pathologiques du SNC sous la forme d'enchevêtrement neuro-brillaires dans le cortex cérébral et de la substance grise sous corticale (Perl et coll 1982) et de plaques amyloïde (Abramov et coll 2004). Des études récentes ont également montré que l'exposition chronique à l'aluminium entraîne des troubles neurologiques d'hyperphosphorylation et perturbation des microtubules chez les rats Wistar pouvant être impliqués comme un mécanisme possible de neurotoxicité chronique de l'aluminium (Kaur et coll 2006). Cette faible teneur en aluminium, c'est-à-dire toxicité chronique semble être le coupable de ces maladies neurodégénératives en relation avec la cholinestérase tissulaires (Dave et coll 2002, Buchta et coll 2003).

➤ Encéphalopathies chez les patients insuffisants rénaux

L'encéphalopathie est la pathologie qui a révélé le potentiel toxique de l'aluminium. La découverte de cette pathologie chez plusieurs patients dialysés dans les années 1970 a permis aux chercheurs de s'interroger plus largement sur la toxicité de l'aluminium. A ce titre, l'encéphalopathie à l'aluminium a été nommée dans un premier temps " la démence des dialysés".

En 1978, une étude anatomo-pathologique (Mcdermott et coll 1978) compare les dosages d'aluminium dans le cerveau de 7 patients dialysés décédés d'une encéphalopathie à 11 patients dialysés sans encéphalopathie. Elle vient renforcer les résultats de l'étude d'Alfrey (Alfrey et coll 1980) en montrant une relation positive entre la durée de la dialyse réalisée avec une eau non traitée ou adoucie (teneurs en aluminium dans l'eau pouvant atteindre 1,2 mg/Litre) et les concentrations en aluminium dans la matière grise du cerveau. Cependant, à l'opposé de l'étude d'Alfrey (Alfrey et coll 1980), elle ne montre pas de relation entre les teneurs en aluminium de la matière grise cérébrale et la prise orale d'hydroxyde d'aluminium. Cependant les auteurs font le constat que l'absence de connaissance de l'observance du traitement par hydroxyde d'aluminium réduit la portée de ce constat

A la même époque est publiée une étude cas-témoins (Elliott et coll 1978) portant sur 13 cas d'encéphalopathie survenus chez des patients dialysés et 40 témoins dialysés sans

encéphalopathie. Les teneurs sériques en aluminium sont bien plus élevées chez les personnes dialysées présentant une encéphalopathie (616 µg/L) que chez celles dialysées à domicile (215 µg/L) ou dialysées à l'hôpital sans encéphalopathie (87 µg/L). Il convient de signaler que la réglementation issue de la pharmacopée européenne a réduit le niveau guide d'aluminium dans l'eau déminéralisée pour dilution des bains de dialyse. Celui-ci est passé de 30 µg/L à 10 µg/L en 1992 (deuxième édition de la pharmacopée européenne). De plus, les patients dialysés sont de mieux en mieux contrôlés. Même s'il n'existe pas de valeur guide établie pour les teneurs biologiques en aluminium, il est couramment conseillé que les concentrations sériques ne dépassent pas 40 à 50 µg/L (les concentrations considérées comme normales chez un sujet sain étant rappelons-le inférieures à 10 µg/L). Si les concentrations deviennent plus importantes, les patients sont traités par déféroxamine (DFO), qui mobilise l'aluminium accumulé dans les tissus et permet l'élimination de cet aluminium circulant par la dialyse. Ces dispositions semblent selon les spécialistes suffisantes pour prévenir la survenue d'encéphalopathie aluminique qui n'est plus décrite à l'heure actuelle que dans de rares cas de contamination de l'eau du dialysat.

➤ **Perturbations des fonctions psychomotrices**

Une étude souvent citée a été réalisée par Altman (Altmann et coll 1989) qui comparait des sujets dialysés à des sujets non dialysés. Elle portait sur les fonctions psychomotrices mesurées par le digit symbole test, des tests visuels (visual spatial ability test, visual perceptual analysis, verbal recognition memory, visual spatial recognition memory). Le digit symbole test mesure l'attention, la coordination motrice, certaines dimensions de la mémoire immédiate et serait un test sensible lorsqu'existe une lésion cérébrale organique. Enfin ont été pratiqués des potentiels évoqués visuels (PEV) avec stimulation au flash qui mesurent la vitesse de conduction nerveuse (ce test est notamment perturbé dans la maladie d'Alzheimer). Les sujets dialysés étudiés (27 personnes) avaient des temps de réponse aux tests plus longs que les personnes non dialysées, mais sans que cette réponse soit corrélée à l'apport cumulé en aluminium ou aux concentrations sériques (de base ou après utilisation de déféroxamine, chélateur de l'aluminium). Ils avaient cependant un temps de réponse à l'épreuve des PEV stimulés par flash augmenté, et cette augmentation était cette fois corrélée à l'apport cumulé en aluminium.

C.2/ effets cancérigènes

Les effets cancérigènes de l'aluminium ont principalement été rapportés chez les professionnels. Dans la population générale, des études se sont intéressées aux effets cancérigènes de l'aluminium par voie cutanée. L'impact des autres voies d'exposition n'a pour l'instant pas été étudié pour la population générale.

Chez les professionnels de l'aluminium, les études réalisées depuis les années 1970 mettent en évidence plusieurs zones cancéreuses. Les plus fréquemment observées se situent au niveau du poumon et de la vessie. Chez les travailleurs du secteur de la production primaire, les études de cohorte montrent une augmentation du risque de cancer de la vessie de 1,7 et du risque de cancer du poumon de 2. Il faut noter que ces études ont été menées chez des travailleurs exposés à un procédé électrolytique utilisant des anodes constituées de brai de houille. Ce procédé peut entraîner l'évaporation du brai de houille et donc produire un dégagement d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui sont aussi cancérigènes (Gourier et coll 2004).

Chez la population générale, l'aluminium est on soupçonné également d'être un facteur favorisant l'apparition de cancer du sein.

I-3 LE PLOMB

I-3-1 Introduction

Le plomb est un métal utilisé par l'homme depuis des millénaires. La production et l'utilisation du plomb ont augmenté de façon spectaculaire durant la Révolution Industrielle entraînant une libération intense de ce métal indestructible et son accumulation massive dans l'environnement. L'accumulation massive dans les sols de ce métal indestructible et peu mobile, demeurant dans les couches superficielles où il reste très accessible au contact de l'homme, surtout des enfants, représente une menace permanente pour la santé des populations.

C'est d'abord l'existence d'intoxications massives chez les travailleurs professionnellement exposés au plomb qui a attiré l'attention sur les effets délétères de ce toxique sur l'organisme humain et sur les conséquences organiques graves, en particulier neuropsychiques.

Les niveaux de plombémie chez les enfants pendant les premières années de vie sont dépendants de la source de plomb présente dans leur environnement. Là où les peintures et les poussières sont les sources principales de plomb, la plombémie des enfants à la naissance est probablement basse, mais va augmenter rapidement pendant les premières années de vie et décliner ensuite après l'âge de 4 ans. C'est en effet pendant la petite enfance que les activités normales de portage main-bouche conduisent à l'ingestion de quantités importantes de poussières et de particules de plomb. Ces expositions précoces sont néanmoins préoccupantes car l'imprégnation par le plomb des jeunes enfants peut se traduire par une baisse du quotient intellectuel (QI). Selon les études épidémiologiques, 1 à 3 points de QI sont perdus pour une augmentation de la plombémie de 100 à 200 µg/l. Ceci constitue un problème de santé publique réel à l'échelle d'une population, ce qui est expliqué par les résultats des différentes études sur les effets nocifs du plomb qui peuvent justifier les efforts des pouvoirs publics pour prévenir les dysfonctionnements neurocognitifs.

I-3-2 Historique

Le plomb est l'un des métaux qui a été le plus anciennement et le plus largement utilisé par l'homme, probablement en relation avec sa grande malléabilité, sa ductilité et son faible point de fusion, entre 328 et 347°C (Lessler et coll 1988).

Les Grecs et les Romains l'ont employé pour produire des céramiques. C'était le métal utilisé dans toutes les cités romaines pour l'adduction d'eau. Les Romains se servaient aussi de l'acétate de plomb comme édulcorant et conservateur du vin (Nriagu 1983).

La connaissance de la toxicité du plomb est également très ancienne. Elle est citée par les médecins de l'Antiquité. Nicandre de Colophon, poète et médecin grec du II^{ème} siècle avant Jésus-Christ (JC), citait la céruse de plomb parmi les poisons. Dans Alexipharmques, il détaille les symptômes relatifs à la colique et à la paralysie saturnine, occasionnés par l'ingestion de plomb (Needleman et coll 2004)

La plupart des constatations relevées dans les textes anciens concernent des expositions par voie digestive. Dioscoride, médecin grec du I^{er} siècle après JC, a soupçonné les effets néfastes des émanations saturnines pour les ouvriers exposés au plomb. Les troubles neurologiques sont également évoqués dans la littérature antique. Dioscoride est le premier à faire mention de l'épilepsie induite par les préparations de plomb. Pour Arrêtée, médecin grec du I^{er} siècle après JC, les signes neurologiques sont une évolution naturelle de la colique de plomb.

I-3-3 Propriétés physico-chimiques

Le plomb, de numéro atomique $Z = 82$, est un métal gris bleuté qui se ternit à l'air. Il existe 20 isotopes de plomb dont 16 radioactifs et 4 naturels : Pb^{204} , Pb^{206} , Pb^{207} et Pb^{208} avec des abondances relatives de 1,5%, 23,6%, 22,6% et 52,3% respectivement. Ce métal mou, malléable et flexible est lentement dissout par l'acide chlorhydrique et beaucoup plus rapidement par l'acide nitrique. Les solutions de bases fortes, comme la soude et la potasse, sont également capables de former des composés solubles de plomb. Le plomb n'est pas attaqué par l'eau en absence d'air. Sa solubilité dans ces conditions est très faible, principalement à pH 7. Le pouvoir de dissolution du plomb par l'eau est fortement diminué par la présence de faibles quantités de carbonate ou silicates.

Les cations du plomb peuvent être divalents, les plus stables, ou tétravalents. Les divalents prédominent dans la chimie inorganique et les tétravalents dans les dérivés organiques. On trouve le plomb sous forme de composés minéraux tels que :

Le monoxyde de plomb ou litharge, Le sulfure de plomb, Le sélénure de plomb (PbSe), Le sulfate de plomb (PbSO₄), Le carbonate basique ou céruse (Pb(OH)₂), Le carbonate neutre ou cérusite (PbCO₃), L'acétate de plomb (Pb(CH₃COO)₂, 3H₂O), seul l'acétate de plomb présente une grande solubilité dans l'eau.

Les propriétés physico-chimiques du plomb sont très importantes dans la compréhension des mécanismes de biodisponibilité et d'action de ce métal. Par exemple, les variations de pH au niveau des sols comme au niveau des liquides biologiques peuvent expliquer les différences de biodisponibilité. Ainsi, il y aura solubilisation des principaux composés de plomb dans l'estomac (pH acide) et précipitation au-delà de l'estomac.

I-3-4 Exposition au plomb

A. Exposition professionnelle

De nombreux documents démontrent que les membres des familles des travailleurs exposés au plomb dans leur milieu de travail pourraient être exposés au plomb transporté du milieu de travail à la maison. C'est particulièrement vrai pour les enfants et la conjointe du travailleur, surtout lorsque cette dernière est enceinte. En effet, les poussières de plomb transportées sur les vêtements, les souliers ou des objets contaminés, ou sur la peau et dans les cheveux de travailleurs peuvent contaminer significativement l'automobile et le domicile (NIOSH 1995).

Le lavage à domicile de vêtements contaminés avec les vêtements familiaux peut être une source de contamination. Lorsque c'est nécessaire, la décontamination du milieu familial doit être effectuée à l'aide d'appareils spéciaux (NIOSH 1995). Elle n'est pas efficace si l'on a recours uniquement à l'entretien ménager ordinaire.

La production minière mondiale annuelle de plomb est comprise entre 3 et 3,5 millions de tonnes. Les principaux pays producteurs sont les États-Unis, le Canada, l'Australie, le Pérou, la Russie et le Mexique (IPCS, 1995)

Les principales activités entraînant des expositions professionnelles au plomb, sont la métallurgie du plomb et zinc, la fabrication et la récupération de batteries d'accumulateurs, le découpage au chalumeau de ferrailles peintes, le décapage thermique ou mécanique de peintures anciennes, la production de cristal, l'usinage de bronzes au plomb, l'étamage de radiateurs automobiles (Bismuth et coll 2000, Testud et coll 1998, Garnier 2005). La valeur limite de moyenne d'exposition (VME) au plomb réglementairement applicable aux concentrations atmosphériques mesurables en milieu de travail en France est de 100 µg/m³ (Garnier 2005).

B. Exposition de la population générale

Pour les adultes et les enfants les plus âgés, les apports en plomb sont principalement fournis par l'eau et les aliments, alors que pour le jeune enfant, les poussières et les sols pollués sont aussi sources importantes de contamination. L'apport relatif de chacune de ces sources diffère selon que le sujet demeure au voisinage d'un site industriel ou dans un environnement urbain ou rural soumis ou non à une source d'exposition.

B-1/ Aliments

Les aliments n'apportent, habituellement, qu'une faible quantité de plomb, à condition qu'ils ne proviennent pas de végétaux cultivés (ou d'animaux élevés) dans une zone contaminée, qu'ils n'aient pas été préparés avec des ustensiles ou encore conservés dans des récipients contenant du plomb (étains décoratifs, céramiques artisanales, cristal). Une étude française en 2000-2001 a estimé à 15 µg par repas l'apport de plomb par les aliments (Miquel et coll 2000-2001).

B-2/ L'atmosphère

Les antidétonants des carburants automobiles ont été la première source d'émission de plomb dans l'atmosphère, pendant la période 1960-1980. Le plomb représentait alors le tiers du poids des particules émises par les gaz d'échappement. Les autres sources notables d'émission atmosphérique de plomb sont les industries, les incinérateurs d'ordures et les volcans (Garnier 2005)

La poussière est une importante source d'exposition au plomb de la population générale. Sa teneur en plomb dépend de l'activité industrielle actuelle ou passée du voisinage (INSERM, 1999). Elle est peu influencée par la circulation automobile de proximité. Elle dépend surtout de la nature de l'habitat ; les peintures anciennes et mal entretenues s'écaillent, rendant le plomb accessible. Elles entraînent alors des contaminations des locaux et des occupants, souvent massives chez les enfants atteints de pica (Bismuth 2000).

B-3/ Eau

La concentration de plomb dans les eaux naturelles souterraines et de surface est généralement faible, inférieure à 10 µg/l et souvent à 1 µg/l (Garnier 2005). Cependant, les eaux acides ou faiblement minéralisées peuvent s'enrichir en plomb, lors de leur distribution, si le système d'adduction contient des éléments en plomb (tuyaux, soudures, robinetterie,...) (Thiriart-Delon et coll 1994). En France, le plomb est interdit à la pose dans les canalisations depuis 1995 et dans les soudures depuis 1998. Dans l'Union Européenne, la valeur limite pour

la concentration du plomb dans l'eau destinée à la consommation humaine est de 25 µg/l. Elle à été réduite à 10 µg/l en 2013(Garnier 2005).

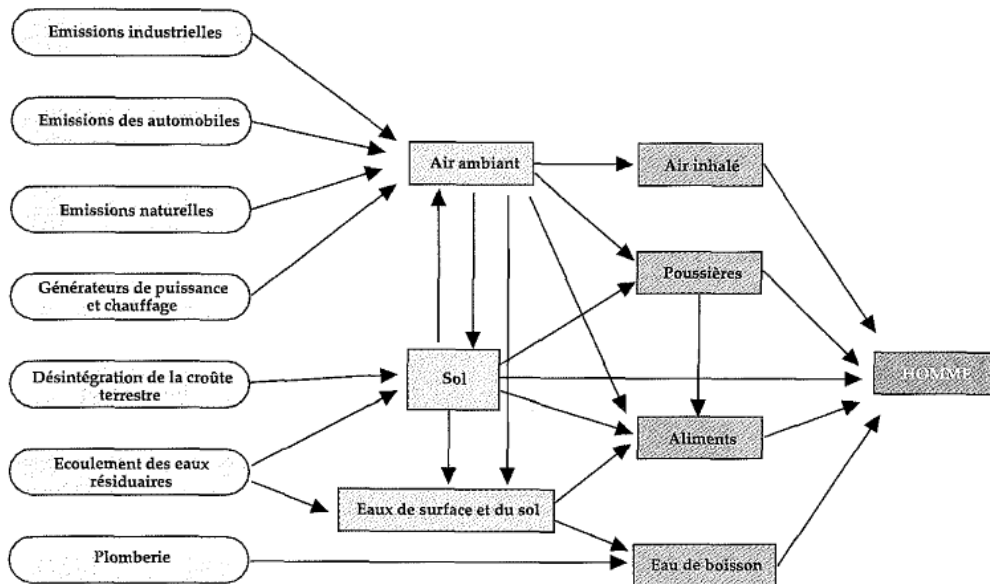


Figure 6 : voie d'exposition de l'homme au plomb

C. Plomb dans l'organisme (Toxicocinétique)

Le métabolisme du plomb est important à connaître pour comprendre certains aspects de l'intoxication et plus particulièrement les différences existant entre enfants et adultes, ou encore chez la femme enceinte et le fœtus. Il importe d'évaluer les différentes phases de ce métabolisme de l'absorption à l'élimination en passant par les mécanismes de transfert dans les différents tissus et le stockage dans certains organes, pour en tirer des réponses quant à l'évaluation des risques et la surveillance biologique des personnes exposées

C-1/ Doses limites

Concernant le plomb, le ECFA (FAO/OMS) a proposé une série de limites maximales de résidus pour un certain nombre de denrées alimentaires, ainsi qu'une dose admissible. Cette dose, appelée dose hebdomadaire théorique provisoire (DHTP), est de 25 µg/kg de poids corporel, soit 1 500 µg/semaine pour une personne de 60 kg.

C-2/ Absorption

L'absorption de plomb se fait par inhalation, ingestion ou contact cutané.

➤ *L'absorption respiratoire.*

Celle des poussières inhalées est respiratoire et digestive: la rétention respiratoire des particules est comprise entre 30 et 50 %, selon leur granulométrie et la ventilation des personnes exposées (Garnier 2005 ; IPCS 1995)

➤ *L'absorption digestive*

En pratique, la principale voie d'absorption du plomb est digestive. Chez l'adulte, en moyenne, 5 à 10 % de la dose ingérée est absorbée. Le passage systémique est beaucoup plus important chez le jeune enfant (40-50 %). Il est fortement augmenté par le jeûne (Heard et coll 1983), la carence martiale (Marcus et coll 1987), les régimes pauvres en calcium (Mahaffey et coll 1986) et par des vitamines (Fullmer 1990).

➤ *L'absorption cutanée*

Le passage transcutané des dérivés inorganiques du plomb est très faible (< 0,5 %) si la peau est intacte (Moore et coll, 1980). La pénétration des poussières déposées sur la peau des mains est digestive, elle résulte de l'activité main-bouche et de la contamination d'aliments ou d'objets portés à la bouche (Garnier 2005).

C-3/ Métabolisme et distribution

Après absorption pulmonaire ou digestive, le plomb se distribue de façon non homogène pour arriver à 3 compartiments ; le sang, les tissus mous, et l'os (figure 7), dont les demi-vies respectives de chacun sont de 36 jours, 40 jours et 27 ans (IPCS, 1995).

Le plomb passe dans le sang où il se répartit dans les hématies, sous une forme non diffusible, et dans le plasma (en partie sous forme diffusible), avant d'aller se fixer dans les tissus ou d'être éliminé dans les urines. Le sang est donc le « carrefour » de tous les trajets du plomb dans l'organisme, ce qui complique l'interprétation des taux sanguins.

Le plomb sanguin représente environ 2 % du pool total de l'organisme, cela peut-être développer par l'existence ou non d'une anémie ce qui influence le rapport érythroplasmatique : ainsi, en cas de diminution du taux des globules rouges, le taux plasmatique du plomb augmente (cas de grossesse).

Dans le plasma, les molécules responsables du transport du plomb sont l'albumine (88,2 %) et les gammaglobulines (11,8 %) (Ong et coll 1980). Une partie du plomb plasmatique est libre et diffusible.

Chez l'adulte les tissus mous contiennent 5 à 10 % de la dose interne du plomb, alors que près de 95 % du plomb présent dans l'organisme est dans l'os.

Le plomb fixé sur l'os trabéculaire est, comme celui des tissus mous, biologiquement actif et facilement mobilisable. Le plomb lié à l'os compact constitue l'essentiel du plomb osseux, il

ne produit pas d'effet toxique et ses mouvements sont très lents, couplés à ceux du calcium. Il est redistribué en cas de déplétion des autres compartiments et par tous les phénomènes entraînant une déminéralisation tels que la grossesse, l'allaitement, l'ostéoporose, l'immobilisation prolongée, les tumeurs osseuses (IPCS, 1995).

Le plomb traverse facilement la barrière placentaire chez les femmes enceintes, cela est expliquer à la naissance où les plombémies de la mère et de l'enfant sont très voisines (IPCS, 1995).

C-4/ Elimination

L'excrétion du plomb est principalement urinaire (> 75 %) et fécale (15-20 %). Le reste est éliminé dans les phanères, la sueur et les sécrétions bronchiques. La demi-vie d'élimination est très augmentée en cas d'insuffisance rénale. Il existe aussi une excrétion lactée. La concentration de plomb dans le lait est généralement comprise entre 10 et 30 % de la plombémie (IPCS, 1995).

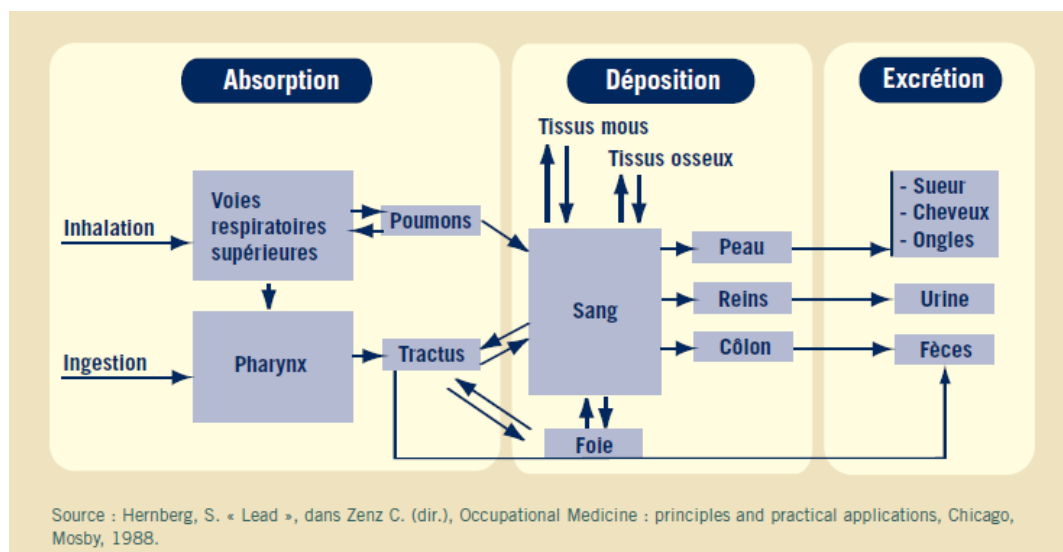


Figure 7 : modèle du métabolisme du plomb chez l'homme

I-3-5 Intoxication au plomb

A. Intoxication aiguë

L'intoxication aiguë par le plomb est généralement rare, car il ne peut résulter que d'une ingestion massive ou d'une administration parentérale

L'intoxication aiguë évolue à 48h après la prise, surviennent des douleurs abdominales, des vomissements et parfois une diarrhée, ces troubles digestifs sont toujours de grande intensité

mais de brève durée. Ils s'accompagnent d'une hémolyse, d'une cytolyse hépatique et d'une atteinte tubulaire rénale dépendante de la dose.

Le plus rarement c'est des arthralgies et des signes d'atteinte neurologique centrale (céphalées, agitation, délire, hallucinations) (Garnier 2005) ont été rapportés.

B. Intoxication chronique

L'exposition répétée au plomb produit des effets nocifs dans de nombreux organes et tissus, après la pénétration du plomb dans l'organisme soit par le nez (poussières, fumées) ou la bouche (mains sales, aliments souillés). Il provoque des maladies graves en s'accumulant dans l'organisme, où il s'élimine très lentement.

➤ Effet sur le système nerveux

Comparé à d'autres systèmes organiques, le système nerveux semble être la cible la plus sensible pour la toxicité du plomb (Cory-Slechta 1996). Tant le SNC et le SNP deviennent affectés par l'exposition au plomb, les effets sur le SNP apparaissent plus chez les adultes alors que le SNC est plus fortement affecté chez les enfants (Brent 2006; Bellinger 2004).

L'encéphalopathie (dégénérescence progressive de certaines parties du cerveau) : est une conséquence directe de l'exposition au plomb, ces principaux symptômes sont la matité, l'irritabilité, une mauvaise attention, des maux de tête, des tremblements musculaires, une perte de mémoire, des hallucinations, le manque de coordination et ataxie, des convulsions, une paralysie et coma (Flora et coll 2006). Les fœtus et les jeunes enfants sont particulièrement vulnérables aux effets neurologiques du plomb car en développement le système nerveux absorbe une fraction plus élevée de plomb (Needleman et coll 2004). Les enfants peuvent paraître inattentif, hyperactif et irritable même à faible exposition au plomb. Les enfants avec des niveaux de plomb plus élevés peuvent être affectés par un retard de croissance, une diminution de l'intelligence, une perte de la mémoire à court terme et perte auditive. À des niveaux plus élevés, le plomb peut causer des dommages permanents au niveau du cerveau et même la mort (Cleveland et coll 2008).

➤ Effets rénaux

Le dysfonctionnement rénal survient principalement à des niveaux élevés de plomb, mais des dommages à des niveaux inférieurs ont également été rapportés (Grant 2008). Rénal fonctionnel Les anomalies résultant du dysfonctionnement rénal peuvent être de deux types: néphropathie aiguë et néphropathie chronique. **Néphropathie aiguë** est caractérisée fonctionnellement par un mécanisme de transport tubulaire endommagé et morphologiquement par l'apparition des changements dans l'épithélium tubulaire ce qui peut

entraîner une excrétion anormale de glucose, phosphates et acides aminés, une combinaison appelée Syndrome de Fanconi. D'autre part **la néphropathie chronique** est beaucoup plus grave et peut conduire à irréversible changements fonctionnels et morphologiques. Il est caractérisé par des modifications glomérulaires et tubulo-interstitielles, résultant dans l'insuffisance rénale, l'hypertension et l'hyperuricémie (Rastogi 2008).

➤ **Effets cardiovasculaires**

L'intoxication chronique au plomb, provoque des lésions vasculaires aux conséquences potentiellement mortelles y compris l'hypertension et les maladies cardiovasculaires (Navas-Acien et coll 2007). Une faible exposition au plomb peut contribuer à l'hypertension chez les animaux et les humains (ATSDR 2005). Les autres troubles majeurs incluent l'ischémie maladie coronarienne, accidents vasculaires cérébraux et une maladie vasculaire périphérique.

➤ **Effets sur la santé reproductive**

Le plomb provoque un certain nombre d'effets indésirables sur le système reproducteur aussi bien chez les hommes que les femmes. Chez les hommes induit une libido réduite, une spermatogenèse anormale (nombre réduits) une infertilité, une fonction prostatique anormale et changements dans la testostérone sérique. Les femmes, plus susceptibles à l'infertilité, sont sujettes aux fausses couches, aux accouchement prématuré (Flora et coll 2011).

➤ **Effets sur le système sanguin**

Le plomb intervient à plusieurs points du métabolisme de l'hémoglobine, protéine essentielle au transport de l'oxygène dans le sang. Certains de ses effets s'observent à des niveaux très bas de plombémie (100 mg/L ou 0,48 mmol/L). Toutefois, la signification clinique de ces perturbations biochimiques n'est pas encore bien connue (Vyskocil 1992), même si l'on sait que globalement ces différents blocages enzymatiques provoqués par le plomb peuvent conduire à l'anémie, où il entre dans l'inhibition de la synthèse de l'hème principalement en inhibant la déshydratase de l'acide delta-amino-lévulinique (ALAD) qui catalyse la transformation de l'acide delta-amino-lévulinique (ALAD) en prothobilinogène et ferrochélatase (ou hème-synthétase) qui contrôle la dernière étape de la synthèse de l'hème (Garnier 2005)

➤ **Effets hépatique**

Le plomb inhibe la synthèse des hémoprotéines et en particulier celle de cytochrome P450, ce qui peut être à l'origine d'une interaction médicamenteuse, et d'effets toxique d'autres substances, en cas de co-exposition, ce sont des effets potentialisant du plomb mais qui n'ont été que très peu étudiés (Alvito et coll 1995).

➤ Effet du plomb sur le Stress oxydatif

Le stress oxydatif représente un déséquilibre entre la production de radicaux libres et de la capacité à détoxifier facilement les systèmes biologiques et /ou réparer les dommages qui en résultent (Flora 2011). Sous l'influence du plomb, apparition de stress oxydatif se produit en raison de deux voies différentes ; en premier lieu la génération de ROS, comme hydroperoxydes (HO_2), et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et en second lieu, l'épuisement des réserves d'antioxydants (Flora et coll 2002) (Figure 8).

Les défenses antioxydantes du corps entrent en jeu pour annuler les ROS générées. Le plus important antioxydant trouvé dans les cellules est le glutathion (GSH) ce dernier existe à la fois sous forme réduite (GSH) et sous forme oxydée (GSSG), l'état réduit de glutathion fait un don équivalents réducteurs de ses groupes thiol présents dans les résidus de cystéine de ROS et les rend stable. Après avoir donné l'électron, il combine facilement avec une autre molécule de glutathion et forme le glutathion disulfure (GSSG) en présence de l'enzyme glutathion peroxydase (GPX), le GSH peut être régénéré à partir de GSSG par l'enzyme glutathion réductase (GR) (Figure 8). Dans des conditions normales, 90% du total du contenu en glutathion existe sous forme réduite (GSH) et environ 10% est sous forme oxydée (GSSG). Sous conditions du stress oxydatif, la concentration de GSSG est beaucoup plus élevée que celle du GSH. Le plomb montre la capacité de partage d'électrons qui en résulte dans la formation de pièces jointes covalentes. Ces pièces jointes sont formés entre le fragment de plomb et le les groupes sulfhydryle présents dans les enzymes antioxydantes, qui sont les cibles les plus sensibles au plomb et qui finissent par être inactivées.

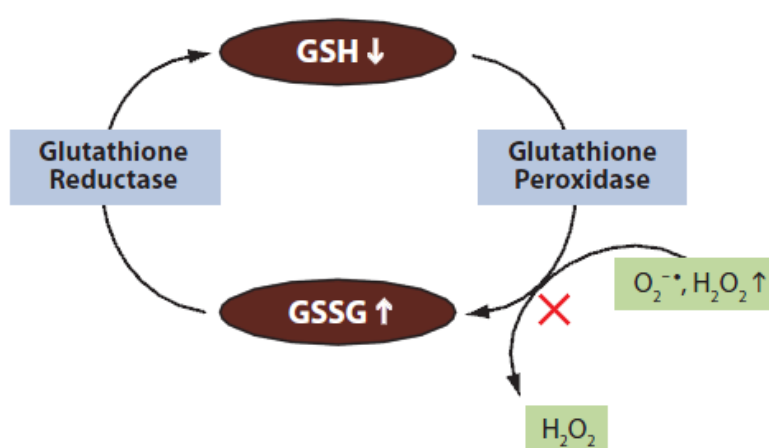


Figure 8 : effet du plomb sur le glutathion

Le plomb inactive le glutathion en se liant aux groupes sulfhydryle présents dans celui-ci, ce qui se traduit par synthèse du GSH à partir de la cystéine, qui n'est généralement pas efficace pour reconstituer l'offre de GSH (Hultberg et coll 2004).

De même, le plomb inactive des enzymes comme l'acide delta-amino-lévilinique (ALAD), la glutathion réductase (GR), glutathion peroxydase (GPX) et la glutathion-S-transférase, qui déprime encore plus les niveaux de glutathion (Ahamed et coll 2007).

Quelques autres enzymes antioxydantes notables peuvent être rendu inactives par le plomb, notamment la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT). La diminution de la concentration de SOD réduit l'élimination du radical superoxyde, alors que la réduction de la CAT entrave l'élimination du superoxyde radical.

En plus de cibler les groupes sulfhydryles, le plomb peut également remplacer les ions zinc qui jouent un rôle important comme cofacteurs pour ces enzymes antioxydantes (Flora et coll 2007).

La peroxydation lipidique est un autre bio marqueur de l'oxydation ROS (figure 9), l'une des conséquences les plus étudiées de stress sur les membranes lipidiques. Le radical libre généré, capture les électrons des lipides présents à l'intérieur des membranes cellulaires et endommage la cellule. En outre de la peroxydation lipidique, le plomb provoque également une oxydation de l'hémoglobine, qui provoque directement une hémolyse des globules rouges, dû à l'inhibition l'acide aminolévilinique déshydratase (ALAD), entraînant ainsi une augmentation de la concentration du substrat ALA dans le sang et l'urine. Ces niveaux élevé d'ALA génèrent du peroxyde d'hydrogène et du superoxyde radical et interagissent également avec l'oxyhémoglobine, résultant dans la génération de radicaux hydroxyles (Patrick 2006). Progression de tous les mécanismes mentionnés ci-dessus rend la cellule extrêmement vulnérable au stress oxydatif et peut conduire à la mort cellulaire (apoptose).

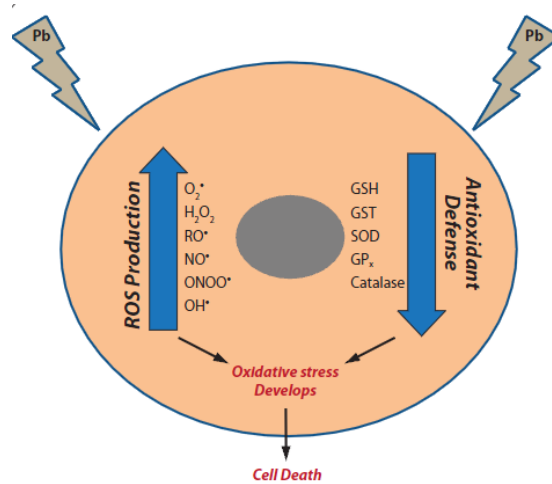


Figure 9 : effet du plomb sur le stress oxydatif

I-3-6 CONCLUSION

L'intoxication au plomb est insidieuse voir cliniquement inapparente qui ne révélant que secondairement ses effets délétères, en particulier sur les fonctions cognitives. Ces observations ont ensuite conduit à étudier les effets du plomb in vitro ou chez l'animal, afin de préciser les mécanismes d'action de ce polluant. Ce n'est que plus récemment que l'existence d'effets toxiques des faibles doses de plomb sur le système nerveux en développement des jeunes enfants a été démontrée par la mise en évidence de déficits cognitifs et de troubles du comportement. Il apparait donc clairement que le plomb pénètre dans l'organisme et modifie la biologie de la cellule en perturbant de nombreuses voies métaboliques et différents processus physiologiques. Il inhibe les enzymes de la biosynthèse de l'hème, catalyse des réactions de peroxydation des lipides et interfère avec les processus médiés par le calcium au niveau membranaire et cytosolique. Le plomb peut ainsi altérer certains mécanismes neurobiologiques jouant un rôle essentiel dans le développement cérébral. Ces éléments peuvent être mis au regard des effets du plomb sur le développement cognitif de l'enfant et des déficits d'apprentissage observés lors d'intoxications systémiques expérimentales. Les études de comportement chez l'animal ont permis d'affirmer le lien de cause à effet entre l'imprégnation par de faibles doses de plomb pendant la période de maturation cérébrale et les troubles neuropsychologiques ultérieurs.

I-4/ Les systèmes de défenses antioxydants

I-4-1/ introduction

Les antioxydants au sens large représentent l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou d'annihiler les ERO.

Ces antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable. Une fois les taux des ERO ont fortement baissés, les systèmes enzymatiques interviennent et permettent la réparation.

Il existe 3 types de défenses :

- Les enzymes qui existent à l'état endogène, défendent les cellules contre les radicaux libres. Les principaux systèmes enzymatiques comprennent les superoxydes dismutases (SODs), la catalase (CAT), les peroxydases oxydases GPX et réductases GR.
- Les protéines chélatrices du fer comme la transferrine et l'hémossidérine ou de cuivre comme l'albumine (ce système bloque les ions métalliques impliqués dans la réaction de Fenton).
- Les molécules antioxydantes ou piégeuses de radicaux libres comme la vitamine E connue pour son activité antiradicalaire très puissante, interviennent au niveau des membranes lipidiques. Comme d'autres molécules piégeuses on peut citer la vitamine C, les caroténoïdes, l'acide urique, le glutathion, les thiols et les métallothionéines. Vu leurs rôles importants, le glutathion et les métallothionéines vont être abordés en détail.

I-4-2/ Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les enzymes existent à l'état endogène et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal. Les principaux systèmes enzymatiques comprennent les superoxydes dismutases, la catalase et plusieurs formes de peroxydases à glutathion (Garrel et coll 2007; Harris et coll 1992; Harris 1992; Jacob et coll 2006; Menon et coll 2007; Michiels et coll 1994; Schuckelt et coll. 1991)

A. Les superoxydes dismutases (SODs)

Ce sont des métalloenzymes retrouvées dans toutes les cellules animales ou végétales.

Il existe trois types de SOD chez l'homme notamment:

- une SOD cytoplasmique (Crapo et coll 1992) a été isolée pour la première fois en 1938 à partir du sang de bœuf. La présence de cuivre et de zinc dans sa structure lui

confère une couleur bleu-vert et fut considérée comme ayant un rôle dans le stockage des métaux. Cette enzyme est formée de deux sous unités contenant chacune un atome de cuivre et un atome de zinc. Les ions cuivre sont nécessaires à son activité catalytique alors que les ions zinc stabilisent la molécule. Elle est sensible à l'inhibition par le cyanure et semble protéger le cytosol.

- une SOD située au niveau mitochondrial. Elle est la première SOD à avoir été isolée d'*Escherichia coli*. La superoxyde dismutase humaine est de couleur rose en raison de la présence de manganèse au niveau du site actif de l'enzyme. Celle-ci comporte quatre sous unités contenant chacune un atome de manganèse (Mates et coll 1999) et 196 acides aminés. Elle résiste assez bien à l'inhibition par le cyanure contrairement à la Cu/Zn-SOD (le premier type de SOD). Elle correspond à la superoxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD) et c'est l'une des enzymes ayant une activité antioxydante et anti-tumorale la plus efficace (Behrend et coll. 2003).
- une SOD extracellulaire ou Cu/Zn-SOD extracellulaire qui est immunologiquement différente de l'enzyme cytosolique, et qui est exclusivement synthétisée par les cellules endothéliales et les fibroblastes (Stralin et coll 1994). Elle comporte un atome de cuivre et un atome de zinc.

Les différentes SODs catalysent la même réaction avec une efficacité comparable. Elles accélèrent la vitesse de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Desideri et coll 2003)

B. La catalase

Le peroxyde d'hydrogène produit par les SODs doit être rapidement métabolisé par la catalase et le glutathion peroxydase pour que la protection apportée par les SODs soit effective (Michiels et coll 1994; Rahman et coll 2006), sinon, l'accumulation de H₂O₂ peut être nocive. La catalase est une enzyme héminique présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. Son nom a été donné par Loew en 1901 à cause de la capacité de cette protéine à décomposer le peroxyde d'hydrogène. Elle est formée de quatre sous-unités, chacune comportant un groupement ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe³⁺ (Ko et coll 2000). Elle catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, la catalase et la GPx appartiennent au mécanisme de défense secondaire contre les ERO en catalysant la conversion du H₂O₂ en H₂O (Chance et coll 1979). L'augmentation de tumeur peut être liée à la décroissance du taux de catalase (Mates et coll 1999)

C. Les peroxydases séléno-dépendantes

La glutathion peroxydase séléno-dépendante (GPx) est formée par quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium sous sa forme sélénocystéine qui constitue le site actif de l'enzyme. L'activité GPx fut découverte par Mills en 1957.

Cette enzyme qui se localise dans la mitochondrie et dans le cytosol (Zachara 1992), décompose les hydroperoxydes organiques et peroxyde d'hydrogène. Elle réduit un grand nombre de ces peroxydes avec des vitesses comparables. L'enzyme possède une grande spécificité pour le glutathion réduit (GSH) qui est utilisé comme donneur d'hydrogène au cours des réactions de décomposition ; il s'en suit la formation du glutathion oxydé (GSSG). La GPx est donc en compétition avec la catalase pour le substrat H_2O_2 et est la source majeure de protection contre les faibles niveaux de stress oxydant (Valko et coll. 2007; Valko et coll. 2006).

Elle réduit, en présence de glutathion réduit (GSH), H_2O_2 en H_2O et les hydroperoxydes (ROOH) en alcools (ROH) (Maiorino et coll 1991; Oberley et coll 1997). L'efficacité de la GPx est liée à un flux constant de GSH et elle est couplée à l'oxydation du glucose-6 phosphate en 6-phospho gluconate source de NADPH qui est utilisé comme cofacteur par la glutathion réductase (GRase) pour régénérer le glutathion réduit (GSH).

I-4-3/ Les systèmes antioxydants non enzymatiques

Les principaux antioxydants non-enzymatiques sont le glutathion, la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et l'acide urique. Ces molécules vont interrompre la chaîne de réaction radicalaire (Cadenas 1989).

A. Le glutathion

Le glutathion, première ligne de défense antiradicalaire, existe en équilibre entre deux formes, l'une réduite (GSH) en abondance dans le milieu intracellulaire, et l'autre oxydée (GSSG).

La liaison et la fonction thiol du GSH lui confèrent un grand nombre de fonctions : le transport des acides aminés, la synthèse de nucléotides de l'ADN par le biais de la ribonucléotide réductase, la synthèse des œstrogènes, des prostaglandines et des leucotriènes, la détoxification des métaux lourds et autres xénobiotiques par action directe ou indirecte. La forme réduite joue un rôle dans la détoxification en réagissant avec H_2O_2 ou ROOH.

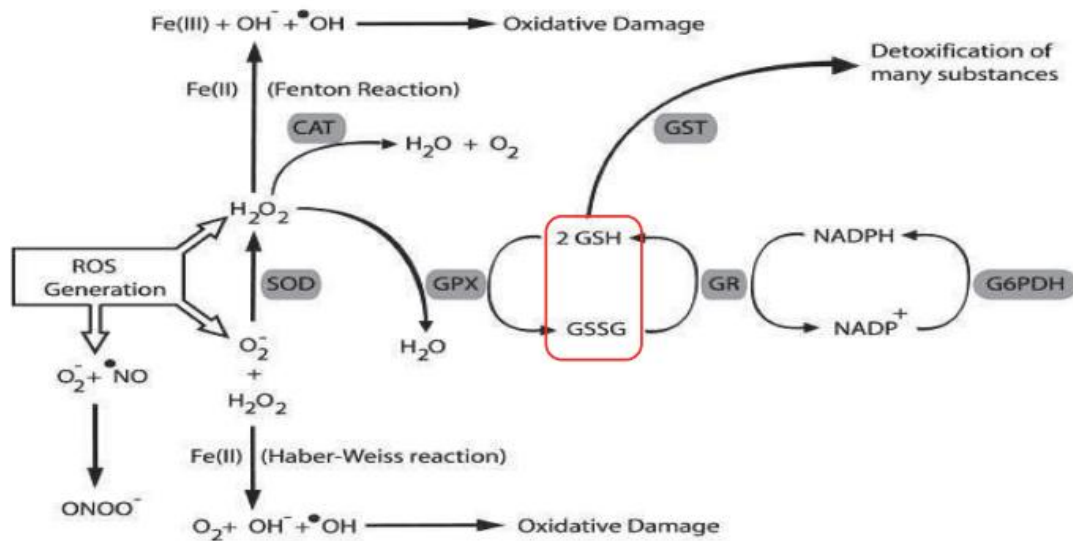


Figure 10 : les principales enzymes antioxydantes

La superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et la glutathion S-transférase (GST). En rouge est entouré le glutathion, sous sa forme réduite GSH et oxydée GSSG (Hermes-Lima 2005).

I-4-4/ Les produits générer du stress oxydant

Le stress oxydant est un état caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les capacités antioxydantes de l'organisme (enzymes antioxydantes et systèmes antioxydants non enzymatiques) (Delattre et coll 2005). Cet état est observé physiologiquement au cours du vieillissement et il accompagne également de nombreuses pathologies (athérosclérose, diabète, maladies neurodégénératives...). Il se traduit par l'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules (lipides, protéines, acides nucléiques) au niveau plasmatique et au niveau cellulaire, ce qui permet d'évaluer ce stress oxydant par la détermination de ces produits d'oxydation.

I-4-5/ La peroxydation lipidique

L'oxydation, enzymatique ou non enzymatique, des lipides polyinsaturés des membranes ou des lipoprotéines conduit à la formation de nombreux composés impliqués dans le développement des maladies cardiovasculaires comme l'athérosclérose et les accidents vasculaires cérébraux. L'oxydation non enzymatique des lipides (via les ERO), appelée «

peroxydation lipidique », est un processus complexe allant de la formation des produits primaires (hydroperoxydes) jusqu'à celle des produits terminaux (aldéhydes, isoprostanes). Une présentation générale des produits formés soulignera la très grande complexité de ces mécanismes et la difficulté de choisir un marqueur répondant à la fois à des critères analytiques et pronostiques. Compte tenu de ces critères, nous développerons plus spécifiquement trois marqueurs : les hydroperoxydes, le malondialdéhyde et les isoprostanes.

Le MDA est un produit de décomposition oxydative de lipides insaturés, comme produit secondaire du métabolisme de l'acide arachidonique. L'excès de MDA produit dans un tissu peut se combiner aux groupements aminés libres des protéines (essentiellement les résidus lysines), conduisant à la formation de produits d'addition susceptibles d'altérer les propriétés biologiques des protéines concernées. En outre, les protéines modifiées par le MDA sont immunogènes et peuvent conduire à la formation d'anticorps dirigés en particulier contre les résidus lysines modifiés par le MDA, comme il en a déjà été détecté chez l'homme, notamment en association avec les maladies cardiovasculaires (Stocker et coll 2004).

MATERIELS ET METHODES

II/ Matériels et méthodes

Les étapes de formation du SNC de la prolifération jusqu'à la myélinisation, commence pendant la gestation et se poursuit après la naissance, alors qu'une exposition aux métaux lourds aux cours de ces deux périodes peut avoir des problèmes sur le SNC, ceci nous a inciter à entreprendre cette étude qui consiste à évaluer les effets de l'exposition aux métaux lourds aux cours de ces deux périodes critiques. Dans ce contexte nous voulons étudier les effets de l'exposition prénatale et postnatale, d'un mélange de 3 métaux et d'une mono exposition au Cd, sur les aspects de développement physique et fonctionnel des nouveaux nés, sur le comportement, sur le statut oxydatif, et la persistance de ces effets à l'âge adulte.

II-1 / Produits

Les produits que nous avons utilisé pour le premier groupe traité par le cadmium, c'est le Chlorure de cadmium, pour le deuxième groupe du mélange nous avons mélangé les trois métaux c.à.d le Chlorure de cadmium, avec l'acétate de plomb et le Nitrate d'aluminium.

II-2 / Animaux et traitements

- Animaux

Dans le but d'évaluer l'effet de l'exposition aux métaux lourds à différents stades de développement et de maturation du SNC, des rats mâles et femelles (wistar) provenant de l'élevage de l'animalerie de la faculté des sciences et techniques de Béni Mellal ont été utilisés afin de mener à bien cette étude.

Ces animaux ont été placé dans des cages (30cm x15cm x 12cm de hauteur) et maintenus dans des conditions standards de température (22±2 °C) sous une photopériode de 12h/12h, avec l'alimentation et l'eau *ad libitum*.

- Traitement

les femelles ont été mises en reproduction avec les mâles. Le lendemain, elles ont été examinées pour la détermination du succès de fécondation. Le jour où un bouchon copulatoire est observé et considéré jour gestationnel 0.

Les rates gestantes ont été réparties au hasard en trois groupes :

- Le premier groupe traité reçoit le chlorure de cadmium (5 mg / L)
- Le deuxième groupe reçoit le mélange de trois métaux (5 mg Cd + 50mg Pb + 120mg Al / L) dans l'eau potable durant la période de la gestation, de la lactation et jusqu'au stade adulte.
- Le groupe témoin n'a reçu que de l'eau.

Le poids corporel maternel a été mesuré chaque jour au cours de la gestation. Les rats femelles ont été vérifiés au moins deux fois par jour, du 20^{ème} au 23^{ème} jours de la gestation pour déterminer le moment de la mise bas. L'allaitement des ratons s'est fait jusqu'à PND 21 (le jour du sevrage).

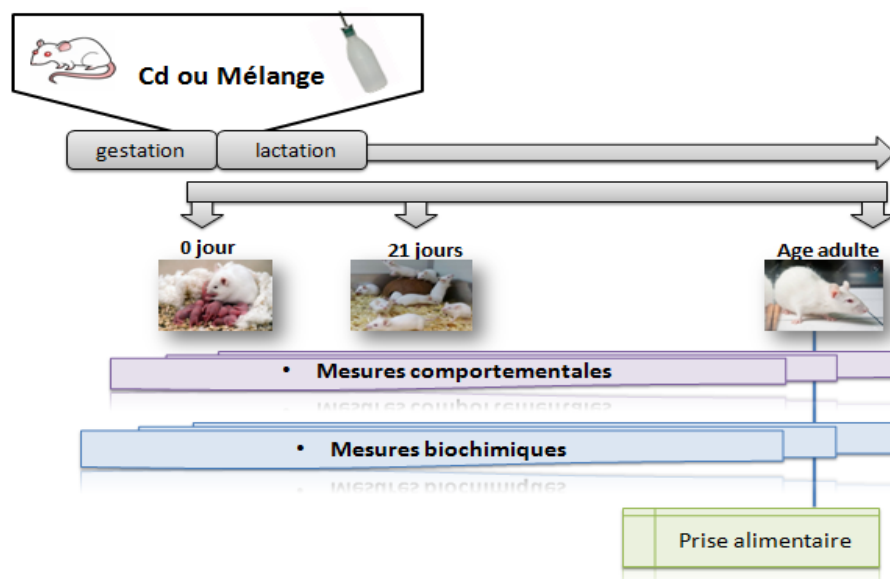


Figure 11 : Représentation schématique du déroulement des expérimentations.

II-3 / Etude comportementale

II-3-1/ comportement avant sevrage

A/ comportement maternel

➤ Test d'observation

Le comportement maternel commence par le test d'observation qui se fait quotidiennement pour chaque mère et sa portée, ce test se fait entre le jour PN 1 et le jour PN 22 (Anna et coll 2012).

Le test d'observation se fait au cours de la phase de lumière (09h00-10h00 h). Chaque cage (mère et portée) a été observée 10 fois pendant 5 secondes à intervalle de 5 min entre deux observations. Chaque observation consiste à noter le type d'allaitement (A- allaitement actif et B- allaitement passif) et l'activité de la mère.

Pour l'allaitement il existe 3 postures :

(A1) quand la mère était au-dessus de ses ratons avec les jambes écartées; (A2) allaitement de couverture - lorsque la mère était au-dessus de sa portée et il n'y avait aucune extension évidente de ses jambes, et (B) quand la mère était couchée sur le côté et allaite. Les deux premières postures ont été désignées comme « active nursing » (A) et la troisième comme « passive nursing » (B).

Les autres activités exposées par la mère ont été enregistrées selon (Romana et coll 2005) chaque observation: (1) la mère dans ou hors du nid, (2) la mère en contact avec l'un de ses ratons, (3) la mère soignant l'un de ses ratons, (4) la mère porte un de ses ratons, (5) la mère manipule le nid, (6) la mère se repose avec les yeux fermés, (7) la mère mange, (8) la mère boit, (9) la mère se toilette soi-même, (10) la mère renifle avec la tête levée, et (11) la mère se redresse.

➤ Test de récupération (ramassage des jeunes)

Le deuxième test du comportement maternel c'est le test de récupération, qui suit le test d'observation, ce test a été mené quotidiennement entre le jour PN 1 et le jour PN12 (10h00-11h00) (Romana et coll 2005).

Les ratons de chaque portée ont été séparés de leur mère dans une nouvelle cage pendant 5 min. Après cette brève séparation, l'ensemble des ratons a été retourné à leurs mères dans la cage initiale et les ratons étaient répartis tout autour de la cage. La mère a ensuite été observée pendant 10 min pour mesurer : (1) temps de latence pour porter le premier raton, (2) temps de latence pour retourner le premier raton dans le nid, et (3) temps de latence pour ramener tous les ratons dans le nid.

B/ tests de neurodéveloppement

Les ratons de chaque portée ont été pesés individuellement, aussi la taille du corps et de la queue étaient mesurée lors des jours postnataux précis.

L'observation des paramètres physiques des ratons est faite quotidiennement selon le tableau suivant :

Parametres	Observations
Datachement des oreilles	Entre JPN2 à 6
L'éruption des incisives	A partir du JPN4
L'ouverture des yeux	Apartie du JPN10

Après la mise bas, la mesure comportementale commence par l'évaluation de la maturation neuromotrice pendant la période pré-sevrage (à partir de JPN5) par les tests suivants :

B-1/ Test de retournement « Surface righting reflex » (PN : 5, 7, et 13)

Le raton est placé sur son dos le temps pour retourner et placer les quatre pattes sur le substrat à été enregistré. Une limite supérieure de 2 minutes a été fixée pour ce test (Abu-Taweel et coll 2012).

B-2/ Test d'évitement de la falaise « Cliff avoidance » (PN ; 6)

Le raton a été placé sur le bord d'une falaise avec les pattes avant et le visage sur le bord. Le temps pris par chaque raton pour reculer et tourner du bord a été enregistré. Une limite supérieure de 2 minutes a été fixé pour ce test (Abu-Taweel et coll 2012).

B-3/ « Negative geotaxie » (PN : 7, 9, 13, et 17)

La surface utilisée pour ce test est inclinée d'un angle de 30°, chaque raton a été placés sur cette surface avec sa tête pointue vers le bas. Le temps pour que le raton tourne son corps à 180°, a été enregistré. La limite supérieure de ce test a également été fixée à 2 minutes (Abu-Taweel et coll 2012).

B-4/ Développement de la nage « Swiming developpement » (PN : 10, 12, et 21)

Chaque raton était placé individuellement dans un réservoir d'eau (28° C) pendant 5 à 10 s, le score de trois paramètres a été enregistré selon le tableau suivant (Kihara, 1991 ; Schapiro et coll 1970 ; Vorhees et coll 1979 a, b) :

Parametre	Observation	Score
La direction dans l'eau	Raton coule dans l'eau	0
	Raton flotte	1
	Raton nage en faisant un cercle	2
	Raton nage droit ou presque droit	3
L'angle	Raton nage en tête immergée	0
	Raton nage avec le nez sur la surface	1
	nez est dessus de la tête ou dessus de la surface mais oreilles toujours sous la surface	2
	les oreilles apparaissent à moitié de la surface	3
	Les oreilles complètement au-dessus de la surface	4
L'utilisation des membres	Absence de mouvement	0
	mouvements des quatre membres	1
	Utilisation des membres postérieurs uniquement et les membres antérieurs immobiles	2

B-5/ Test de saut vers le bas « Jumping down with choice » (PN : 15 et 17)

Le raton est placé sur une plateforme élevée de 25 cm, chaque bord de la plateforme est déposé à l'intérieur d'une cage, une contient le reste de la portée et l'autre vide. Le temps pour sauter dans l'une des deux cages est enregistré, le temps maximal de ce test étant de 120 secondes (Hana 2000).

II-3-2/ comportement après sevrage

II-3-2-1/ test comportementaux

A/ Open field (champ ouvert)

Ce test a été entrepris pour déterminer les fonctions motrices exploratrices par rapport au comportement lié à l'anxiété chez les rongeurs (Kihara et coll 2000). Le champ ouvert utilisé, était une arène carrée (100 cm x 100 cm x 25 cm), construit en verre noir, qui empêche l'absorption des fluides (urine de rat). Le dispositif a été divisé par des lignes blanches en 25 petits carrés (20x20 cm). Les rats ont été placés doucement dans le centre de l'arène pour exploration pendant 10 minutes.

Les mesures comportementales enregistrées pendant cette période sont : le nombre des carreaux périphériques et centraux courus, le nombre total des carreaux courus, le pourcentage des carreaux centraux, le temps de redressement, et le temps de toilettage.

Le dispositif a été nettoyé avec 10% d'alcool avant chaque test de comportement pour éliminer les résidus laissés par des rats précédemment testés.



Figure 12 : image du dispositif utilisé « Open field »

Ref : laboratoire « Génie Biologique »

B/ Labyrinthe en croix surélevé

Le labyrinthe en croix surélevé consiste en quatre bras horizontaux, de taille identique reliée à une extrémité par une plateforme centrale. Les deux bras opposés possédant un petit rebord forment les bras ouverts ou « open arms » et sont placés perpendiculairement aux deux autres bras à haut rebords, nommés bras fermés ou « closed arms ». Les bras ouverts sont en plastique acrylique opaque noire, au même titre que les bras fermés mais possédant les hautes parois. Le labyrinthe est surélevé par un axe central à une hauteur du sol de 80 cm.

La salle de comportement est isolée afin d'éviter toute perturbation du test. Les sessions sont enregistrées via un système de caméra reliée à un ordinateur pour analyses ultérieures.

Une session se déroule toujours de la même manière : chaque rat s'acclimate au préalable durant 5 minutes à la pièce de test, puis est placé dans le centre face au bras fermé (toujours le même). Il peut dès ce moment explorer librement le labyrinthe pendant 5 minutes. Les bras ouverts fournissent des conditions spatiales aversives aux rats à l'opposé des bras fermés.

Dans ce labyrinthe, les rats partagent leur volonté d'explorer le labyrinthe, qui dépend de la force de leur comportement exploratoire (fortement développé chez les rongeurs) et la crainte des lieux ouverts (bras ouverts). L'équilibre entre ces deux forces est perturbé chez les animaux anxieux.

Plusieurs mesures permettent d'évaluer le niveau d'anxiété dans ce labyrinthe. Premièrement, le temps passé dans les bras ouverts fournit une évaluation du niveau d'anxiété des rats dans laquelle plus les animaux ont un niveau d'anxiété élevé, moins ils passeront de temps dans les bras ouverts (Shepherd et coll 1994, Carobrez et coll 2005). Il en est de même pour le nombre des entrées dans chaque bras (ouverts ou fermé). Plus, le nombre de passages au centre du labyrinthe peut donner une évaluation de l'activité des rats (Shepherd et coll 1994, Carobrez et coll 2005).



Figure 13 : Image du dispositif du « labyrinthe en croix surélevé »

Ref : laboratoire « Génie Biologique »

C/ Reconnaissance des objets

Le test de reconnaissance d'objet est particulièrement utile pour étudier la mémoire déclarative chez les rongeurs car il fait appel à leur préférence naturelle pour un nouvel objet par rapport à un objet familier.

Cette tâche évalue la capacité de l'animal à connaître un nouvel objet par rapport à un objet familier dans un environnement connu. Les animaux contrôles passent classiquement plus de temps à explorer le nouvel objet, ce qui reflète ainsi l'utilisation de processus de mémoire et d'apprentissage.

L'absence de différence dans l'exploration des objets peut être interprétée comme un déficit de mémoire. Le dispositif expérimental pour ce test consiste en une enceinte carrée (40 x 40 cm) en verre noire pour éliminer tout indice du champ visuel du rongeur. Le protocole du test se décline en 3 phases : une phase de familiarisation (l'animal est libre d'explorer l'espace sans la présence des objets), une phase d'entraînement (l'animal est en présence de deux objets similaires pendant 5min) et une phase de test (l'expérimentateur introduit un nouvel objet à la place de l'objet familier pendant 5min).

Dans cette expérience, les animaux seront soumis à 2 sessions d'apprentissage de 5 minutes chacune, entrecoupées par des intersessions de 3 minutes pendant lesquelles les souris sont replacées dans leur cage habituelle. L'indice de reconnaissance entre l'animal et l'objet est calculé selon la formule suivante : $IR = A/(A+C)$

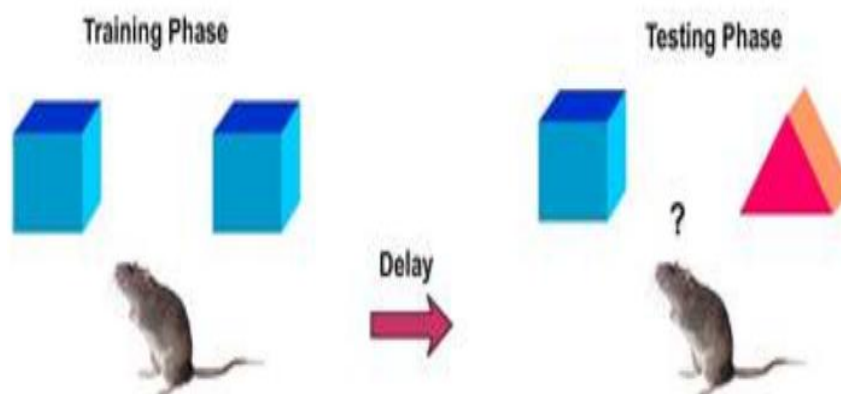


Figure 14 : les deux phases du test de « reconnaissance des objets »

Ref : Sahay et coll, 2010

D/ Étude de la mémoire spatiale à court terme : le labyrinthe en Y

Les rats ont été testés selon un protocole décrit précédemment en 2004 par Nakagawa et coll, avec les ajustements suivants

Le labyrinthe en Y avait trois bras (notés A, B et C) en plexiglas noir opaque, de 50 cm de longueur, de 16 cm de largeur, et de 31cm de hauteur orientés à 120° les uns par rapport aux autres. Chacun des trois bras avait un repère visuel unique à la fin. Dans ce test, les rats étaient exposés aux trois bras pendant 5 min.

Pendant les 5 minutes de test, l'animal explore librement le dispositif et la séquence des bras visités est enregistrée à l'aide d'une camera vidéo pour l'analyse ultérieure.

Ce test possède un niveau de hasard de 50%. La performance de mémoire à court terme est déterminée par le calcul du pourcentage d'alternance spontanée (Youssef et coll 2008). Une alternance est définie comme la visite successive de trois bras différents constituant un triplet.

Le pourcentage d'alternance est calculé selon le rapport :

% d'alternance = [nombre d'alternances réussites/nombre totale des alternances]*100

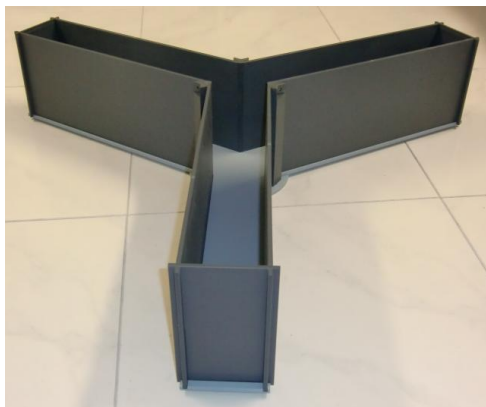


Figure 15 : Image du dispositif utilisé dans « labyrinthe en Y »

Ref : laboratoire « Génie Biologique »

E/ Test d'enfouissement « Marble Burying »

L'inhibition sélective du comportement d'enfouissement des objets chez les rongeurs a été proposé comme test pour évaluer le niveau d'anxiété (Alexia et coll 2009). Dans ce test une cage a été remplie d'environ 5 cm de profondeur avec une litière de bois, légèrement tassée pour obtenir une surface plane et uniforme, les motifs réguliers de billes de verre sont placés à la surface et régulièrement espacés, chacune d'environ 4 cm, de façon à avoir 20 billes au total dans la cage. L'animal est placé dans la cage pendant 20 min.

A la fin de chaque test, il faut compter le nombre de billes enfouies avec de la litière ainsi que le temps de latence à creuser durant les 10 premières minutes.

Il faut noter que deux cages de test peuvent être exécutées simultanément, à côté dans le même temps et de la même manière.

Il faut éviter ce test les jours du nettoyage des cages, car les rongeurs deviennent très actifs, et le fait de ré-explore une nouvelle cage peut être par la suite plutôt reposante et les rats deviennent moins sensibles à la stimulation de la nouvelle litière.

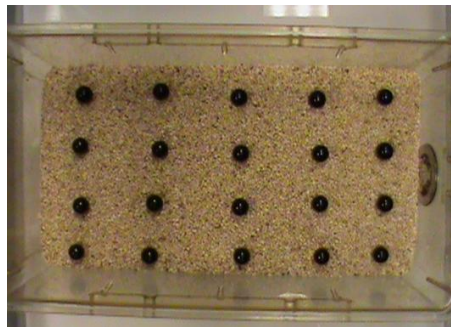


Figure 16 : Image du dispositif utilisé dans « l'enfouissement des billes »

Ref : laboratoire « Génie Biologique »

II-3-2-1/ Prise alimentaire

A. Animaux et régimes

Des rats Wistar mâles traités et témoins, sont installés en cages individuelles semblables dans la même pièce d'hébergement à température ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) et l'humidité régulées ($55 \pm 3\%$). La mise en cage individuelle permet de mesurer de manière précise la prise alimentaire de chaque rat.

Le poids des animaux est noté, le cycle lumineux est maintenu normal puisque la prise alimentaire est mesurée sur 24 h pendant 15 jours. Les animaux sont nourris avec un régime standard (ALF SAHEL).

B. Mesure de la prise alimentaire :

La quantité initiale (Q_i) de nourriture mise dans les cages est pesée. Au bout de chaque 24 heures, les cages sont vidées et leur contenu est trié en termes des excréments, nourriture intacte (N_{int}), et de gâches. Ces derniers sont pesés afin de déterminer la prise alimentaire de chaque animal.

La prise alimentaire est calculée comme suit :

$$\text{Prise alimentaire} = Qi - (Nint + G\grave{a}che)$$

Les rats avaient accès libre aux biberons qui contiennent soit de l'eau (pour les témoins) ou traitement (pour les traités), L'emplacement des biberons est inversé chaque 24 heures. Au bout de chaque 24 heures la quantité d'eau consommée est enregistrée.

Les trois premiers jours de la prise alimentaire des rats étaient considérés comme phase d'habituation afin d'éviter l'effet de l'exploration à la nouveauté (cage individuelle, biberon,...).

II-4/ Prélèvements

Au jours PND 5,10,15,21 et à l'âge adulte, et après avoir terminé les tests de comportement programmés, dix ratons ou six rats adulte/groupe, ont été choisis au hasard parmi les rats testés afin de servir pour les dosages biochimiques. Ils ont été sacrifiés, et quatre régions du cerveau frais bulbes olfactifs (BO), hémisphères cérébraux, cervelet et tronc cérébral (TC) ont été séparées chez les nouveau nés, alors que chez l'adulte les régions disséquées ont été ; les BO, le cervelet, le bulbe rachidien (BR), le Pont, l'hypothalamus, le mésencéphale, l'hippocampe, et le cortex cérébral, toutes ces structures ont été pesées, rincées et puis homogénéisées dans 1 volume (1:1, w/v) du tampon phosphate salin PBS , aliquotées et conservées à -20°C jusqu' aux jours de l'analyse.

II-5/ Dosages biochimiques

II-5-1/ Objectifs

Plusieurs dosages biochimiques ont été réalisés lors de cette étude. Ils ont permis de mesurer:

- L'activité de certaines enzymes antioxydantes comme la supeoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxidase (GPx),
- Le taux des malondialdéhydes (MDA),
- L'activité de l'acétylcholinestérase

Ces dosages ont eu pour but d'évaluer le statut oxydatif dans différentes régions cérébrales sur des rats exposés aux métaux lourds durant les périodes de gestation, d'allaitement et au stade chez l'adulte.

II-5-2/ Dosage des protéines totales

Le dosage de la concentration de protéines totales a été réalisé dans les homogénats de chacune des régions cérébrales. Ils ont eu pour but de normaliser les résultats des dosages de malondialdéhyde (MDA) et de l'activité des enzymes antioxydants (SOD, CAT, et GPx), réalisés dans ces mêmes fractions et qui seront exprimés par milligramme de protéines.

A. Principe

Ce dosage a été fait selon la méthode de Lowry (1951). Il s'agit d'une méthode colorimétrique qui permet la détection et la quantification des protéines totales. Elle dépend de la formation d'un complexe entre le bleu et les protéines en solution. Le colorant existe sous quatre formes ioniques. La concentration de protéines peut être évaluée en quantifiant la forme bleue ionique du colorant et en mesurant l'absorbance de la solution à 740 nm par spectrophotométrie

B. Mode opératoire

	Gamme étalon					Echantillon	
Tubes	0	1	2	3	4	5	6
SAB (0.1mg/ml) en ml	0	0.2	0.4	0.6	0.8		
Homogénat (ml)						1	1
Eau distillée (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2		
Solution D (ml)	5	5	5	5	5	5	5
Incubation	10 min						
Solution E (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Incubation (ml)	30 min						

II-5-3/ Dosage du taux du malondialdéhyde (MDA)

Dans cette étude nous nous sommes intéressés au dosage du taux de malondialdéhyde (MDA), l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médiée par les radicaux libres comme étant l'un des marqueurs du stress oxydant.

A. Principe

Le taux de la peroxydation des lipides a été, indirectement, déterminé par la mesure du taux de malondialdéhyde (MDA) dans les homogénats des régions cérébrales par la méthode de

Ohkawa et coll. (1979). Le principe du dosage consiste à faire réagir l'acide thiobarbiturique avec l'un des produits finaux de la peroxydation lipidique: le malondialdhehyde (MDA) pour former un pigment rose possédant une absorbance maximale entre 530 et 535 nm. La densité optique du complexe TBA-MDA est proportionnelle à la concentration du MDA.

B. Mode opératoire

Dans des tubes coniques contenant 500 µl de l'homogénat (surnageant) , nous avons ajouter une solution tampon PBS , puis la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) , nous avons Vortexer et Centrifuger les tubes à 1000 tours/min pendant 10 min à 4°C.

Dans des nouveaux tubes a essai nous avons mis 800 µl du surnageant de la premiere solution, puis nous avons ajouté du HCl (0.6 M), puis 640 µl de la solution Tris-TBA, nous avons mélangé et incuber les tubes au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min.

La lecture se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 530 nm. La concentration de MDA est exprimée en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$C = \frac{DO \cdot 10^6}{\varepsilon \cdot \chi \cdot L \cdot Fd}$$

- C : Concentration de MDA en nmoles/mg de prot ;
- DO : Densité optique lue à 530 nm ;
- ε : Coefficient d'extinction molaire du MDA, $\varepsilon_{MDA} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
- χ : Concentration du surnagent en protéines (mg/ml) ;
- Fd : Facteur de dilution, Fd = 0.2083.

II-5-4/ Détermination de l'activité des superoxydes dismutases

Lors de cette étude, nous nous sommes intéressés, au dosage des superoxydes dismutases (SOD) vu qu'elles constituent la première ligne de défense efficace contre les radicaux libres oxydés. Elles catalysent la dismutation en H₂O₂ (McCord et coll 1969).

A. Principe

L'activité des SOD, dans chacune des régions cérébrales à été déterminée par la méthode de (Marklund et coll 1974). Cette méthode est basée sur la compétition entre l'oxydation du pyrogallol par les radicaux superoxydes et sa dismutation par la SOD.

B. Mode opératoire

Dans des tubes a essai nous avons mis premièrement la solution de methionine (13mM) et le Na₂EDTA, puis nous avons ajouté la solution tampon phosphate, après nous avons ajouté un volume précis de l'homogénat (surnageant), puis nous avons ajouté la solution tampon phosphate, et dernièrement le NBT, et la solution Riboflavine .

La réduction de NBT est estimée à une longueur d'onde 580nm contre le blanc

Le pourcentage Y contre unité de SOD (quantité de protéines enzymatique capable d'inhiber 50% de NBT) est calculé selon la formule suivante :

$$SOD = Y/X$$

$$Y = \left[\frac{DO_{\text{étalon}} - DO_{\text{échant}}}{DO_{\text{étalon}}} \times 100 \right] \times \frac{20}{C}$$

C : la concentration des protéines dans l'échantillon (mg/ml)

II-5-5/ Détermination de l'activité de la catalase

Dans ce travail, nous avons étudié l'activité de la catalase, vu qu'elle est l'une des enzymes antioxydantes qui assure la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en libérant de l'oxygène (Aebi 1984).

A. Principe

La catalase catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en dioxygène et eau. L'activité de cette enzyme dans les homogénats des régions cérébrales à été mesurée selon la méthode de Clairbone (1985)

B. Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	800	780
H ₂ O ₂ (0.5 M)	200	200
Homogénat	---	20

La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 15 s de délai et durent 60 s de mesure.

L'activité de la CAT exprimée en micromoles de H₂O₂ par minute par milligramme de protéines (µmol de H₂O₂/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min/mg prot}) = \frac{\Delta \text{DO} \times d}{\varepsilon \times X \times L \times 0.02}$$

- ΔDO = On fait : (AI - AF) par min (variation de la densité optique par minutes) :
 - AI (Absorbance initiale) : 15 s ;
 - AF (Absorbance finale) : 1 min ;
- d : dilution de l'échantillon au début ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée, $\varepsilon \text{ H}_2\text{O}_2 = 0.043 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
 $1 = 0,043 \mu\text{mol cm}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$;
- L : Trajet optique de la cuve = 1 cm ;
- X : Concentration de protéines en mg/ml.

II-5-6/ Détermination de l'activité du glutathion peroxydase

Le glutathion peroxydase (GPx) est l'enzyme antioxydante la plus importante au niveau du cerveau (Arivazhagan et coll 2002). C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à étudier son activité lors de cette étude.

A. Principe

Les glutathion peroxydases sont des enzymes à sélénium, ayant la propriété de catalyser la réduction des hydroperoxydes (peroxyde d'hydrogène H₂O₂, hydroperoxydes organiques (ROOH) par le glutathion. L'activité glutathion peroxydase a été mesurée selon la méthode de Flohe et Günzler (1984).

B. Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Homogénat	----	200
GSH (4mM)	200	200
Ajouter la solution tampon PBS (0.1 M)		
H ₂ O ₂	400	400
Incuber à 37°C, pendant 1 min		
TCA (5%)	500	500
Centrifuger à 15000 tours/min durant 5 min		
surnageant	200	200
PBS	500	500
DTNB	500	500

L'activité de GPX est exprimée en nmoles de GSH consommé /min/mg prot, l'activité est calculé selon la formule suivante :

$$GPX = Y/X$$

Y = (DO échantillon - DO étalon)/6.22

X = quantité de protéines dans 200µl de l'échantillon

II-5-7/ Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles.

A. Principe

La technique que nous avons utilisée pour doser l'activité de GST est celle de Habig et coll 1974, elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzene (CDNB) et le glutathion, qui absorbe la lumière à 340 nm.

B. Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS)	870	830
CDNB	100	100
GSH	200	200
Homogénat	---	40

L'activité de la GST exprimée en nanomoles de CDNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GST (nmol C-DNB/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO Blanc}}{\epsilon \times L \times \text{mg prot}}$$

- ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire du CDNB, $\epsilon \text{ CDNB} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- L : Trajet optique de la cuve = 1cm.

II-5-8/ Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) vue, le rôle important que joue cette enzyme dans la régulation du message nerveux en catalysant l'hydrolyse de l'acétylcholine.

A. Principe

L'acétylcholine-estérase (AChE) est une protéinase à sérine. L'activité de l'acétylcholinestérase a été mesurée selon la méthode d'Ellman et coll (1961). L'acétylcholine (ACh) est hydrolysée par l'acétylcholinestérase en thiocholine et acide acétique. La thiocholine libérée réagit avec le DTNB pour donner du TNB, composé jaune. L'apparition du TNB a été mesurée, par spectrophotométrie à 412 nm, ce qui permet de calculer la variation de l'absorbance par minute sur la partie linéaire de la cinétique.

B. Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS)	1050	1000
DTNB	50	50
ASCh	50	50
Homogénat	---	50

Lire à 412 nm à un intervalle de temps de 10 min (lecture de la DO chaque min) contre la solution blanc.

AchE est exprimé en nmoles/min/mg prot, le calcul de l'activité se fait selon la formule suivante :

$$\text{AChE (nmol/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{DO} / \Delta t \times 1691.18}{P}$$

$\Delta \text{DO} / \Delta t$: variation de la densité optique par minute

P : Concentration de protéines en mg/ml.

II-6/ STATISTIQUES

Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm sem (écart standard à la moyenne) avec $n > 6$ pour chaque groupe et dans toutes les expériences. L'analyse des mesures non-répétées ou répétées permet d'établir les comparaisons statistiques avec un seuil de significativité de $p < 0.005$, suivi d'un test t-test.

Tous les tests statistiques sont réalisés en utilisant le logiciel Sigma plot.

RESULTATS

RASULTATS DE LA PREMIERE PARTIE (Cd)

Introduction

Dans des études antérieures, il avait été décrit que le cadmium (Cd) était particulièrement dangereux pour le système nerveux central (SNC) en développement, en raison de l'absence de barrière hémato-encéphalique fonctionnelle, de la prolifération cellulaire, de la différenciation et de la synaptogenèse intenses qui se produisaient pendant la gestation et au début de la période postnatale chez les mammifères (Ma Teresa et coll 2003), le cadmium s'accumule dans le placenta pendant la gestation; le transfert de Cd au fœtus semble limité, car les trophoblastes synthétisent la métallothionénine (MT), une protéine complexante importante pour les métaux lourds (Bhattacharya, 1983). Par contre, les rats nouveau-nés absorbent et retiennent beaucoup plus de Cd par voie orale que les animaux plus âgés (Lockitch, 1993). Le but de cette partie des résultats se focalise sur les effets de l'exposition au Cd par voie orale pendant la gestation et la lactation sur les troubles du comportement et le dysfonctionnement biochimique du système nerveux central de la progéniture et chez le rat adulte.

1/ Effets de l'administration de Cd sur le comportement maternel

Dans cette partie nous allons présenter les résultats du comportement maternel, à qui de savoir si l'exposition de la mère au cd, pendant la gestation peut avoir des conséquences sur le comportement ultérieur de la progéniture (phase pré-sevrage), et également étudier l'effet de ce métal sur la qualité des soins maternel faites par la mère ainsi que la capacité de la mère exposé au Cd à manifester un comportement maternel envers sa progéniture.

a. Effets de l'administration de Cd sur les activités non maternelles

Il est caractérisé par une importante activité de la mère en lien avec le milieu extérieur et non pas avec sa progéniture. Dans notre étude, nous avons constaté que parmi les activités non maternelles étudiées, il y'a une augmentation de la consommation de nourriture et de l'eau chez les traités par rapport aux témoins ($0,741 \pm 0,078$ versus, $0,409 \pm 0,0998$ et $0,784 \pm 0,112$ versus, $0,427 \pm 0,0924$ respectivement).

Les femelles traitées au Cd passaient plus de temps à faire l'autotoilettage ($1,525 \pm 0,121$) par rapport aux témoins ($1,082 \pm 0,0805$).

Pour le reste des activités non maternelles, il n'y a pas de différence significative entre le groupe témoin et le groupe traité.

Tableau 5 : Effets de l'administration de Cd sur les activités non maternelles des rats

	Control	Treated (Cd)
Activités non maternelles		
Mères au repos avec yeux fermés	0,145 ± 0,0699	0,2 ± 0,05
Prise de nourriture	0,409 ± 0,0998	0,741 ± 0,078 *
Prise de boisson	0,427 ± 0,0924	0,784 ± 0,112 *
Autotoilettage	1,082 ± 0,0805	1,525 ± 0,121 **
Reniflement avec la tête levée	0,845 ± 0,196	0,986 ± 0,199
redressement	0,827 ± 0,161	0,557 ± 0,0854

*Les valeurs sont des moyennes de mesures prises entre le 1^{ier} et le 22^{ème} jours de test (moyenne ± S.E.M.); *P <0,05, ** P<0,01 par rapport au contrôle.*

b. Effets de l'administration de Cd sur les activités maternelles

Concernant le comportement maternel, il n'y avait pas de différence significative entre le groupe traité au Cd et le groupe témoin, les rats traités au Cd ont passé plus de temps en contact avec les ratons, ainsi que et le toilettage des ratons, que le groupe témoin, mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives. Les autres résultats ont également montré que les rats traités au Cd passaient moins de temps à manipuler le nid et à porter les ratons que les témoins, mais ces différences restent statistiquement non significatives.

Tableau 6 : Effets de l'administration de Cd sur les activités maternelles.

	Controle	Traité (Cd)
Activités maternelles		
Mère dans/ hors du nid	0,591 ± 0,036	0,491 ± 0,0818
En contact avec les ratons	0,164 ± 0,0449	0,261 ± 0,0647
Toilettage des ratons	0,882 ± 0,164	1,005 ± 0,149
la mère portant des ratons	0,127 ± 0,0385	0,0909 ± 0,0387
Manipulant le nid	0,327 ± 0,0703	0,2 ± 0,0722

*Les valeurs sont des moyennes de mesures prises entre le 1^{ier} et le 22^{ème} jours de test (moyenne ± SEM); * P <0,05, ** P <0,01 par rapport au contrôle*

c. Effets de l'administration de Cd sur l'allaitement actif et l'allaitement passif.

Dans cette expérience, il n'y avait pas de différence significative entre le groupe traité au Cd et le groupe témoin, les rats traités au Cd passaient presque le même temps en allaitement actif que les témoins, alors que le nombre d'allaitements passifs augmentait dans le groupe traité au Cd en comparaison avec le groupe témoin, mais cette augmentation n'est pas statistiquement significative.

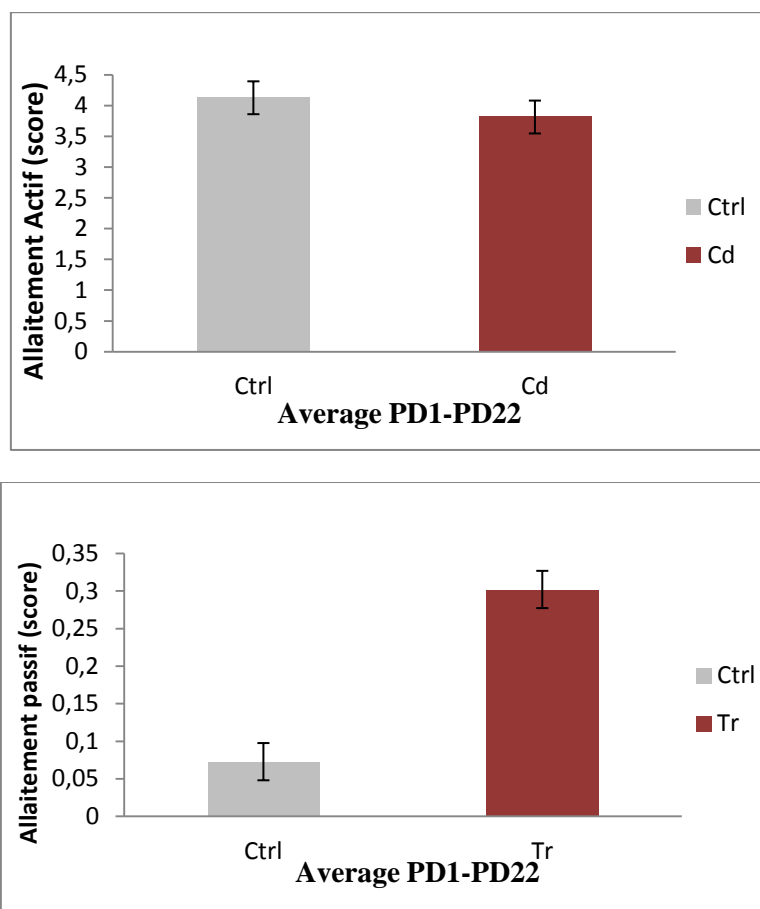


Figure 17 : Effets de l'administration de Cd sur le score d'allaitement dans le test d'observation. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes pour l'ensemble des 22 jours postnataux (moyennes \pm S.E.M). (A) allaitement actif, (B) allaitement passif.

d. Effets de l'administration de Cd sur les latences dans le test de récupération

Les rats traités au Cd ont montré une faible latence pour ramener le premier raton ($t = 2,910$, $p = 0,023$), et ramener tous les ratons dans le nid ($t = 3,195$, $p = 0,015$), mais pas pour ramener le premier raton dans le nid ($t = 2,275$, $p = 0,057$), par rapport aux rats femelles témoins.

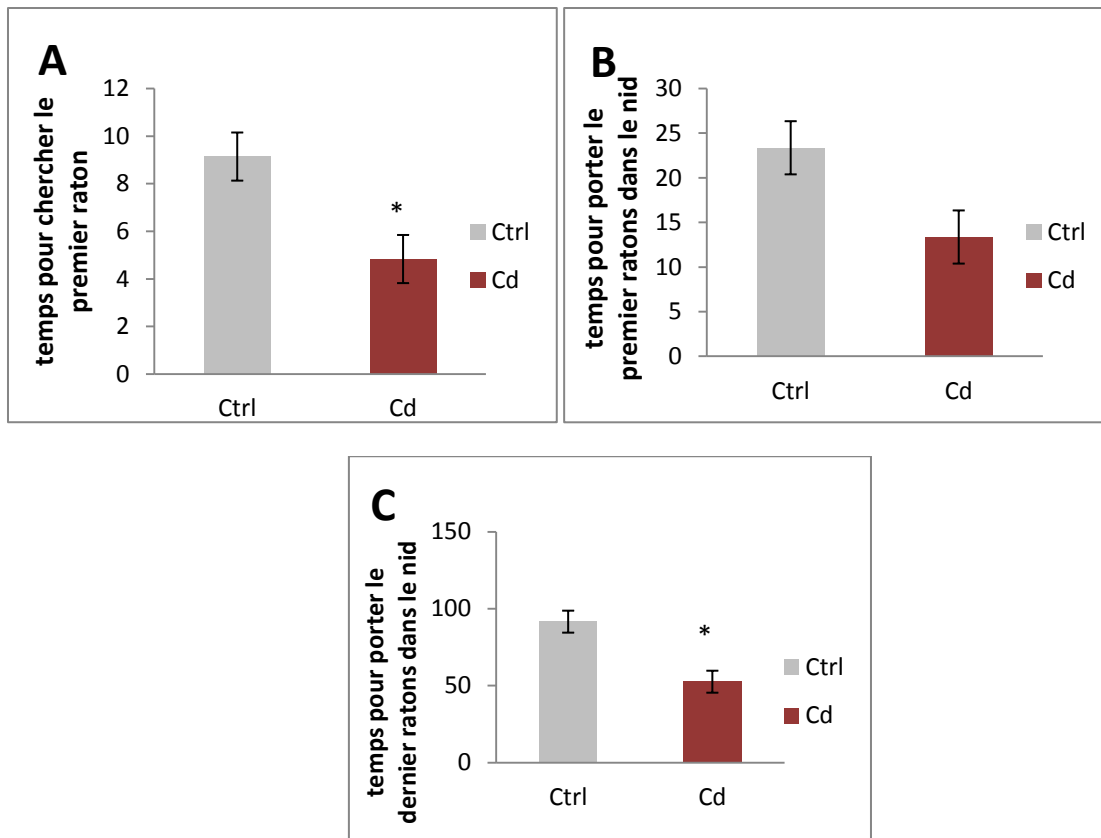


Figure 18 : Effets de l'administration de Cd sur les latences du test de récupération. (A) Latence pour transporter le premier raton, (B) Latence pour ramener le premier raton dans le nid, (C) Latence pour ramener tous les ratons dans le nid. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. (A et C) * $p < 0,05$ vs contrôle

e. Effets de l'administration de Cd sur le gain du poids corporel pendant la période de gestation

Les rats femelles traités ont gagné plus de poids corporel au cours de la gestation, mais cette différence n'est pas significative entre le groupe traité par le Cd et le groupe témoin.

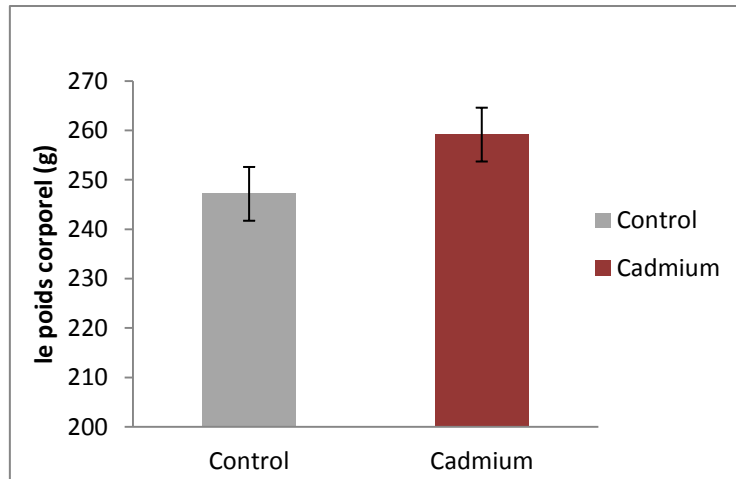


Figure 19 : Effet de l'administration de cadmium sur la prise de poids pendant la période de gestation. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. dans 21 jours avant la mise bas.

f. Effets de l'administration de Cd sur la consommation de l'eau pendant la période de gestation

Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes concernant la consommation d'eau pendant la période de gestation en comparaison avec le groupe témoin ; la consommation d'eau de la mère n'a pas été modifiée par l'exposition au Cd pendant la gestation.

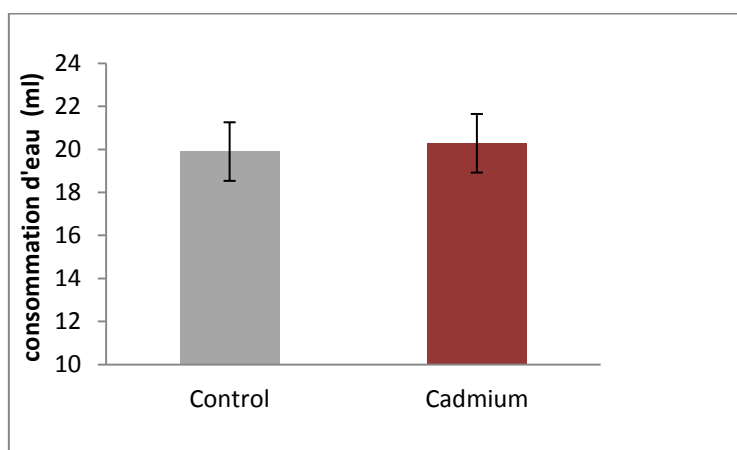


Figure 20 : Effets de l'administration de cadmium sur la consommation d'eau pendant la période de gestation. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. dans 21 jours avant la mise bas.

g. Effets de l'administration de Cd sur la mortalité des rats

Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes concernant la mortalité des rats. Le pourcentage qui représente le nombre de mâles par portée, était plus élevé chez les témoins par rapport aux rats traités au cadmium mais l'analyse statistique ne montre pas de différence significative (tableau 7).

Tableau 7 : *Effets de l'administration de Cd sur la mortalité des rats.*

Nombre de portée	Control		Cadmium	
	Moyenne des rats	Nombre totale	Moyenne des rats	Nombre totale
Nombre de rats au PN10	8,214 ± 0,494	115	9,231 ± 0,441	120
Nombre de rats au PN5	7,643 ± 0,401	107	8,615 ± 0,432	112
Nombre de rats au PN15	7,5 ± 0,429	105	7,07 ± 0,957	92
Rats mâles				
Nombre de rats mâles/portée	3,444 ± 0,556 (37,804%)		2,889 ± 0,588 (32,10%)	

Les valeurs sont des moyennes (moyenne ± SEM) ; par rapport au contrôle.

2/ effets du Cd sur les paramètres morphologiques.

a. Les paramètres physiques

Concernant l'éruption des incisives, le groupe traité par le Cd présente un retard significatif, concernant l'éruption des incisives inférieures et supérieures par rapport aux témoins ($t = -2,583$, $p = 0,011$) et ($t = -2,332$, $p = 0,021$).

Par contre pour les autres paramètres : détachement des oreilles, apparition des poils, ouverture des yeux et apparition du sexe, nous avons décelé aucune différence significative.

Tableau 8 : *Effets du chlorure de cadmium sur la maturation physique de la progéniture.*

Parametres	Moyenne (controle)	SEM	Moyenne (Cd)	SEM
Detachement des oreilles (jours)	4,883	0,111	4,635	0,138
Apparition des poils (jours)	6,333	0,11	6,476	0,146
Eruption des incisifs inferieurs (jours)	9,739	0,0636	10,111 *	0,155
Eruption des incisifs superieurs (jours)	10,153	0,117	10,603 *	0,153
Ouverture des yeux (jours)	15,964	0,103	16,27	0,116
Apparition du sexe (jours)	11,09	0,121	11,397	0,131

*Les résultats sont présentés en moyenne ± S.E.M. * $p < 0,05$ vs contrôle.*

L'analyse de l'évolution du poids corporel chez les rats des deux groupes (traité et témoin) a mis en évidence un effet net du traitement sur cette évolution (figure 21). En effet, aux trois premiers âges postnataux étudiés, PN5 ($t = 3\ 133$, $p = 0,002$), PN12 ($t = 2\ 748$, $p = 0,007$) et PN15 ($t = 2\ 500$, $p = 0,013$), le poids diminue de manière significative par rapport aux contrôles. Pour les autres jours postnataux, l'effet n'était pas significatif, PN17 ($t = 0,874$, $p = 0,383$) et PN21 ($t = 1700$, $p = 0,091$).

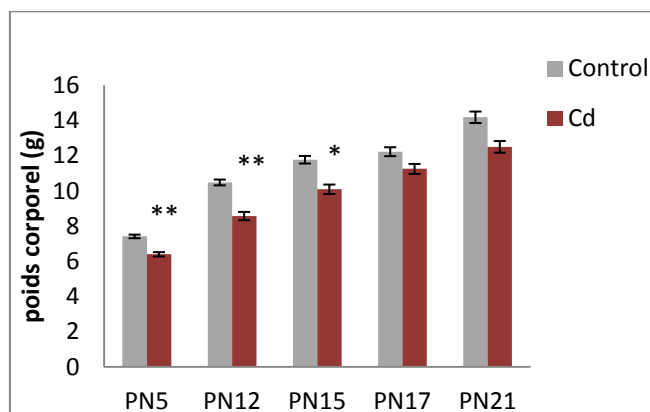


Figure 21 : développement du poids corporel chez la progéniture des rats exposés au chlorure de cadmium après la naissance. Les résultats sont présentés sous la forme moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ vs contrôle (test t). PN : Jour postnatal.

b. Longueur du corps et longueur de la queue.

L'exposition au Cd a entraîné une diminution de la longueur du corps des rats pendant les jours 5, 12, 15 et 17 après la naissance. Cependant, cette différence pour le jour 21 n'était pas significative. Ces résultats indiquent un retard de croissance et du développement du corps du rat après la naissance en raison de l'exposition au Cd (figure 22).

L'exposition au Cd a diminué la longueur de la queue chez les rats de rats traités au cours des PN12 ($t = 2,654$, $p = 0,009$) ; PN15 ($t = 3,223$, $p = 0,002$) ; PN17 ($t = 2,301$, $p = 0,023$) ; PN21 ($t = 2,496$, $p = 0,013$), mais pas au PN5 ($t = 1,963$, $p = 0,051$).

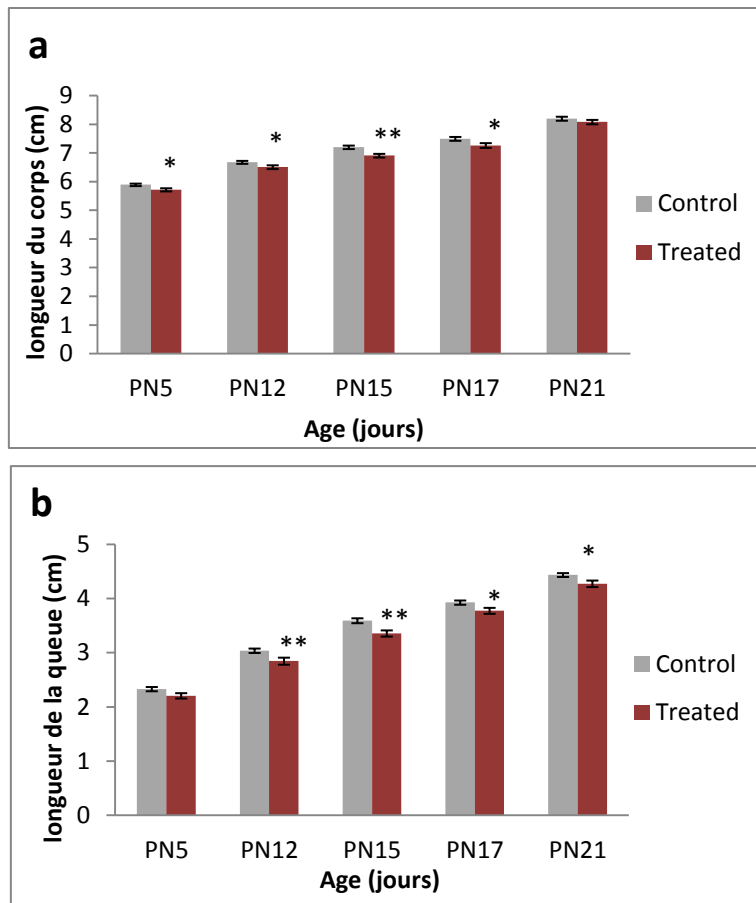


Figure 22 : Développement de la longueur du corps (a) et de la longueur de la queue (b) chez la progéniture des rats exposés au chlorure de cadmium après la naissance. Les résultats sont présentés sous la forme moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ vs contrôle (test t).

3/ Effets du Cd sur le comportement des rats au cours du développement (pré-sevrage)

a. Test de retournement (Surface righting reflexe)

Ce test est considéré comme un reflet de la maturation corticale, au PN 5 des rats traités par le cadmium passent plus de temps pour réussir le test de surface righting reflexe par rapport aux témoins, cette différence entre les deux groupes est très significative ($t = -6,820$, $p = < 0,001$).

Par contre pour les jours 7 et 13, il y a des différences entre les deux groupes, mais ne sont pas suffisantes pour être significatives (figure 23).

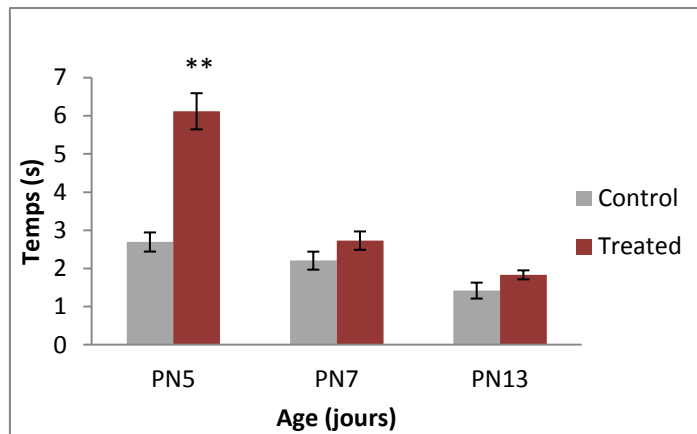


Figure 23 : Effets de l'exposition au cadmium pendant toute la période de gestation et de lactation sur les temps de latences du test de surface righting reflexe chez les rats de PN5, PN7, PN13 jours, respectivement. Les résultats sont présentés en moyennes \pm S.E.M. *** $p < 0,001$ par rapport au contrôle (test t). PN : Jour postnatal

b. Negative geotaxis

Au PN7 les rats traités par le cadmium passaient plus de temps pour effectuer une rotation de 180° et réussir le test. Ce retard est significatif ($t = -2,249$, $p = 0,026$) au début (PN7), mais il devient non significatif après (PN9, PN13 et PN17).

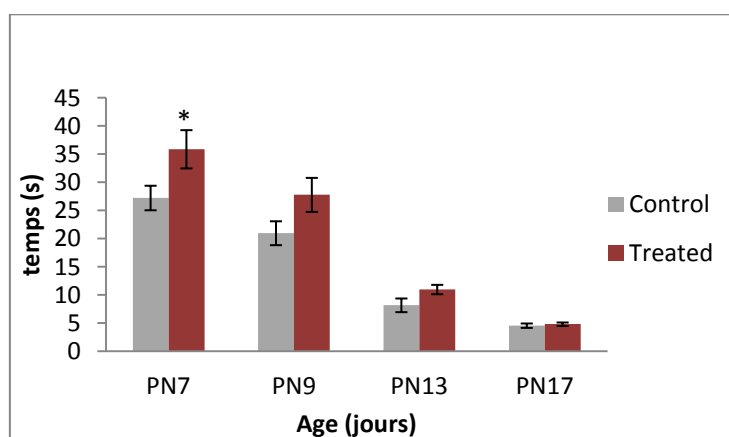


Figure 24 : Effets du traitement prénatal avec du chlorure de cadmium pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de négative géotaxie des rats de PN7, PN9, PN13, PN17 jours, respectivement. Les résultats sont présentés en moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ par rapport au contrôle (test t). PN : Jour postnatal.

c. Test d'évitement de falaise « Cliff avoidance »

La comparaison entre le temps passé par les rats traités et témoins pendant le test du Cliff avoidance ne montre pas de différence significative, le Cd n'a pas d'effet sur l'intégration de l'entrée extéroceptive et la sortie locomotrice (figure 25).

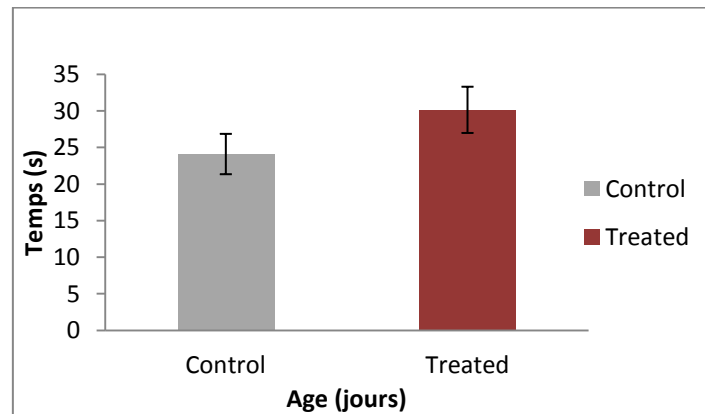


Figure 25 : Effets du traitement prénatal avec du chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation sur les latences du test d'évitement de falaise chez des rats PN6 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm S.E.M (test t). PN: Jour postnatal

d. Test de Saut vers le bas « Jumping down with choice »

Ce test reflète le développement de l'orientation, la coordination et les fonctions sensorimotrices.

Au cours de ce test le groupe traité par le Cd passe plus de temps pour tomber du dispositif par rapport aux témoins, cette différence n'est significative qu'à l'âge post natal 17 ($t = -2,388$, $p = 0,018$) (figure 26)

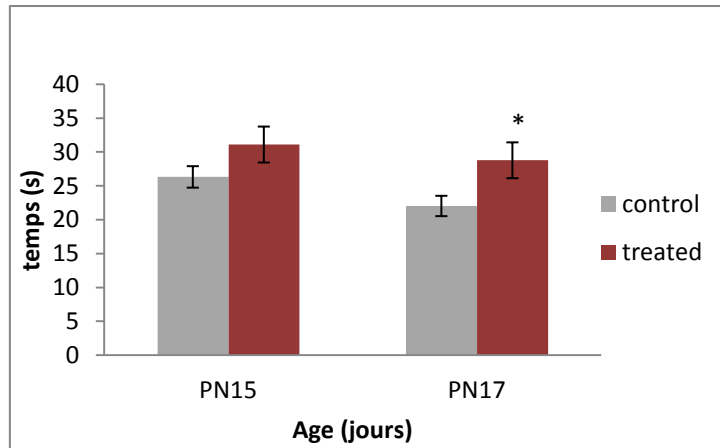
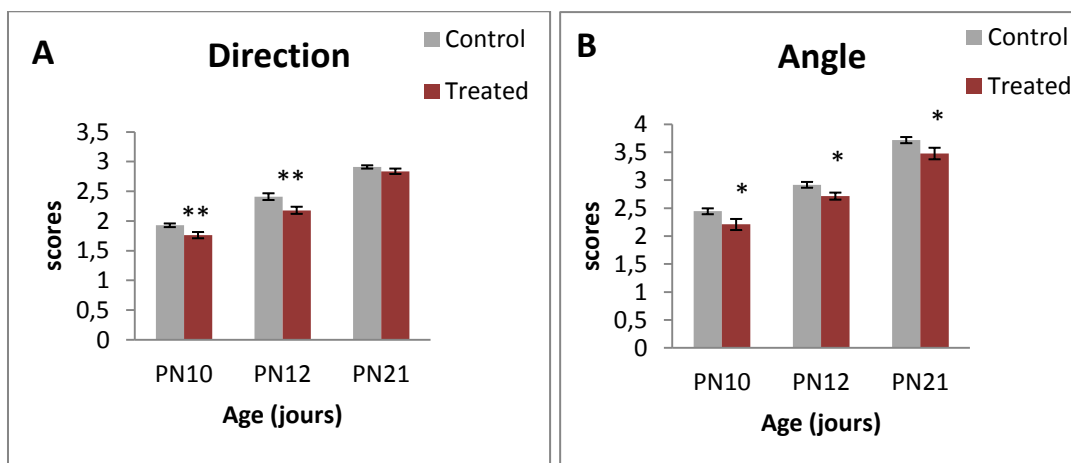


Figure 26 : Effets du traitement prénatal avec le chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation sur la durée du test de Saut vers le bas chez des rats âgés de 15 et 16 jours, respectivement. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SEM * $p < 0,05$ par rapport au témoin (test t). PN : Jour postnatal

e. Test de développement de la nage « Swimming development »

Dans ce test, trois paramètres ont été analysés, la direction de la nage, l'angle et l'utilisation des membres. En ce qui concerne la direction de la nage, le groupe traité a montré un score inférieur à celui du groupe témoin au PN10 ($t = 2,918$, $p = 0,004$), et 12 ($t = 2,661$, $p = 0,009$). Pour l'angle de nage dans l'eau, le groupe traité a obtenu un score significativement inférieur au groupe témoin au PN10 ($t = 2,312$, $p = 0,022$), PN12 ($t = 2,439$, $p = 0,016$) et PN21 ($t = 2,254$, $p = 0,025$).

Un effet significatif a été observé au PN10 ($t = 5,513$, $p \leq 0,001$), PN12 ($t = 3,102$, $p = 0,002$) et PN21 ($t = 2,341$, $p = 0,020$), concernant l'utilisation des membres.



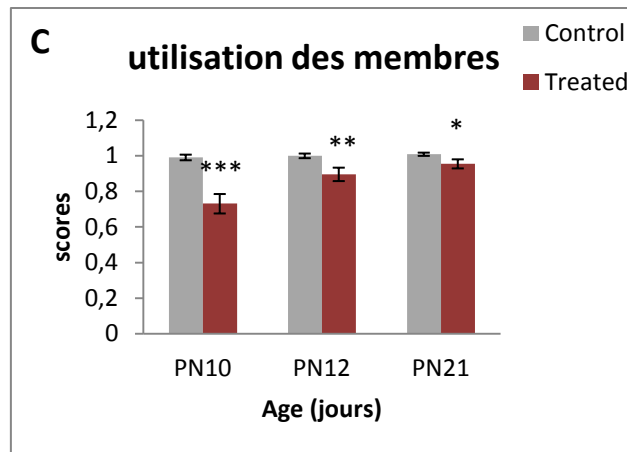


Figure 27 : Développement de la nage chez les ratons avant sevrage des mères exposées au chlorure de cadmium. A : Direction dans l'eau, B : Angle dans l'eau (position de la tête). C : membres utilisées dans l'eau. Les résultats sont présentés en moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ par rapport au témoin.

4/ Effets du Cd sur le comportement des ratons après sevrage

a. Le labyrinthe en Y

Dans ce test, nous avons mesuré l'effet de l'exposition au chlorure de cadmium au cours de la gestation et de la lactation, sur l'alternance spontanée des ratons dans le labyrinthe en Y. Nos résultats ont montré que le pourcentage d'alternance ($t = 1\ 600$, $p = 0,128$) du groupe traité dans les trois bras était inférieur au contrôle, mais pas de manière significative.

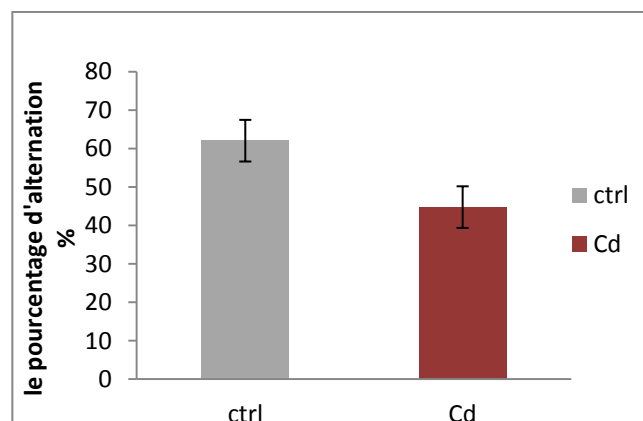


Figure 28 : Effet du chlorure de cadmium sur les performances en alternance de la progéniture des rats exposés pendant la gestation et la lactation dans le labyrinthe en Y (% d'alternance). Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe)

b. La reconnaissance des objets

Dans ce test, nous avons évalué les effets du chlorure de cadmium sur la reconnaissance des rats traités au cadmium et de leurs témoins. Les résultats obtenus lors de ce test ont montré que les rats traités au chlorure de cadmium présentaient un indice de reconnaissance d'objet inférieur, mais de manière non significative par rapport au groupe témoin ($t = 0,796$, $p = 0,436$).

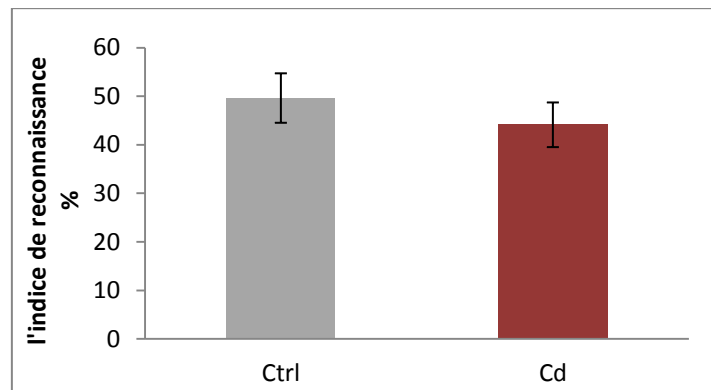


Figure 29 : Effet du chlorure de cadmium sur l'indice de reconnaissance chez les rats traités au cadmium et leurs témoins. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe), comparé au groupe contrôle

c. Le labyrinthe en croix surélevé (EPM)

L'analyse des données des sessions du test de l'EPM a montré un effet significatif du chlorure de cadmium sur l'indice d'anxiété du groupe traité par rapport au groupe témoin ($t = -3,641$, $p = 0,002$) et un pourcentage du temps passé dans les bras ouverts très réduit (36.228 ± 5.214 vs. 12.413 ± 2.634 ; $p \leq 0,001$) (figure 30).

Nous avons également observé une réduction du pourcentage d'entrées dans les bras ouverts après l'exposition au chlorure de cadmium mais cette réduction n'était pas très significative.

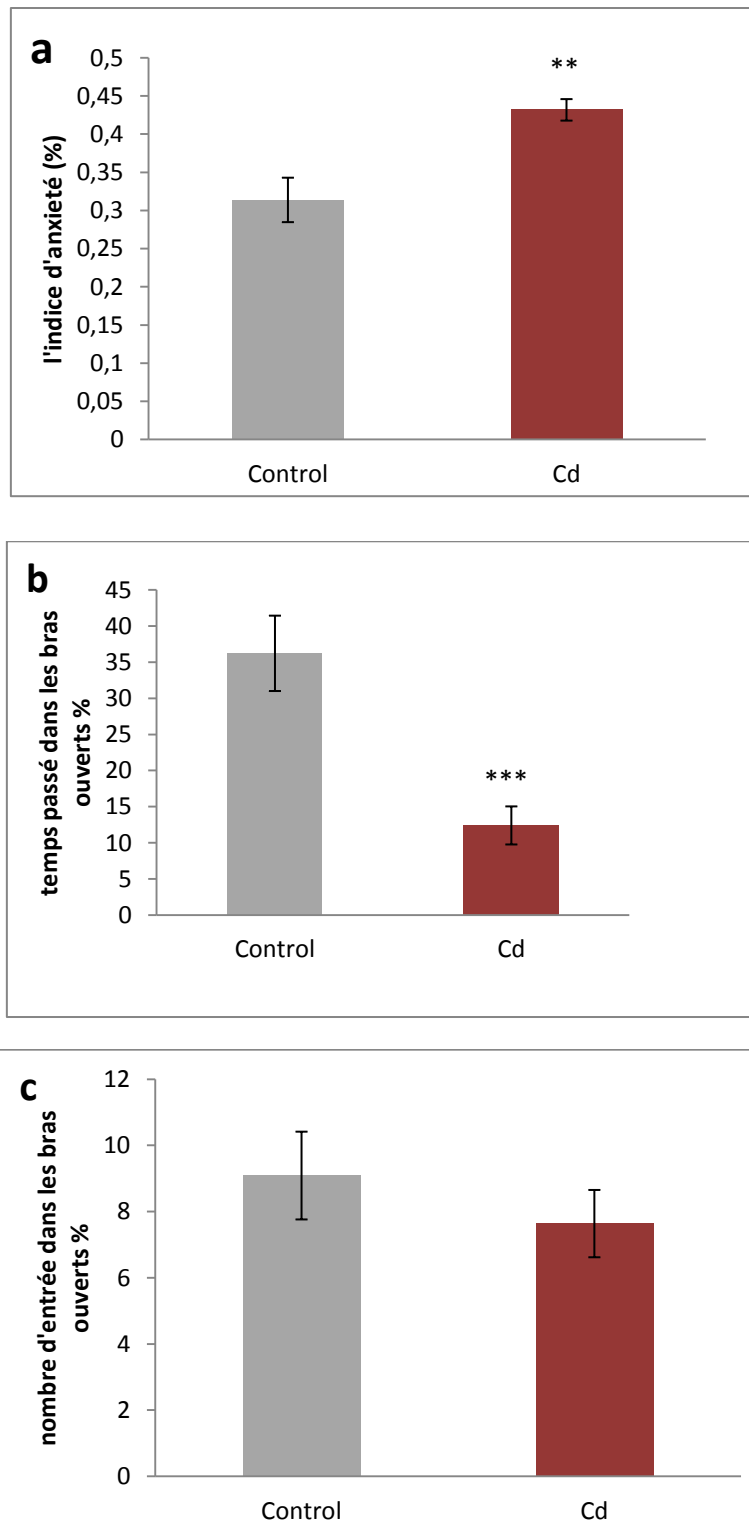
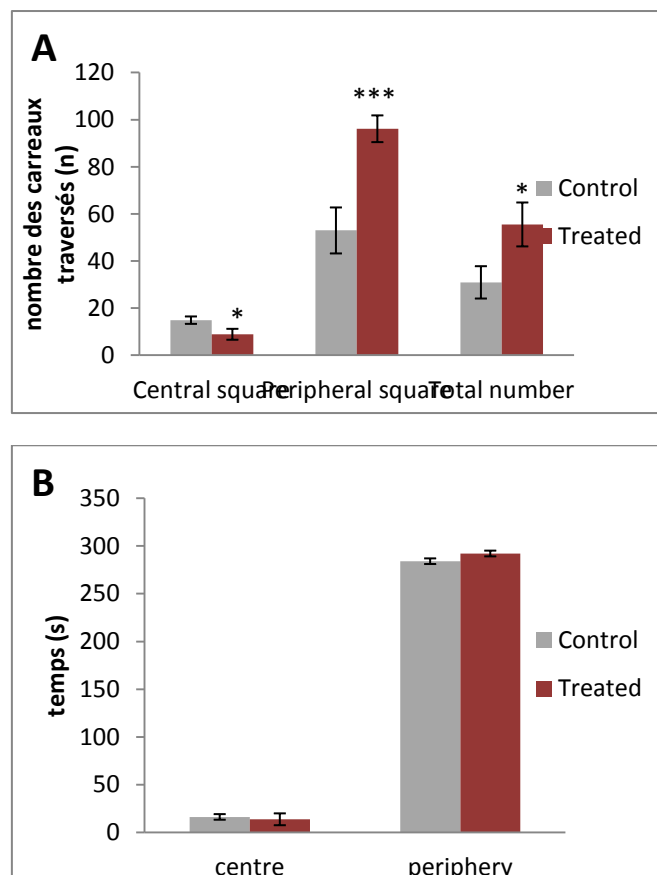


Figure 30 : Comportement lié à l'anxiété de la progéniture du rat ayant reçu du chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation par le test d'EPM. **A** Indice d'anxiété. **B** Pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. **C** Pourcentage d'entrée dans les bras ouverts. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). ^{**} $p < 0,01$, ^{***} $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

a. Le champ ouvert (Open field)

Dans le but d'évaluer l'activité locomotrice et le degré d'anxiété chez les rats exposés au chlorure de cadmium, nous avons réalisé le test du champ ouvert.

Les données d'analyse des sessions de champ ouvert ont révélé un effet de l'exposition au CdCl_2 sur le nombre de carreaux périphériques traversés pour les rats traités était significativement plus élevé comparés aux témoins ($96,182 \pm 5,677$ vs $53 \pm 9,767$; $p = 0,001$), le nombre de carreaux centraux était significativement plus faible chez les animaux traités par rapport aux témoins ($t = -2,144$, $p = 0,045$), alors que le temps passé à la périphérie et au centre n'était pas significatif entre le groupe des rats traités et celui des rats témoins, il en était de même pour le pourcentage des carreaux centraux traversés par les rats traités et les rats témoins (figure 31).



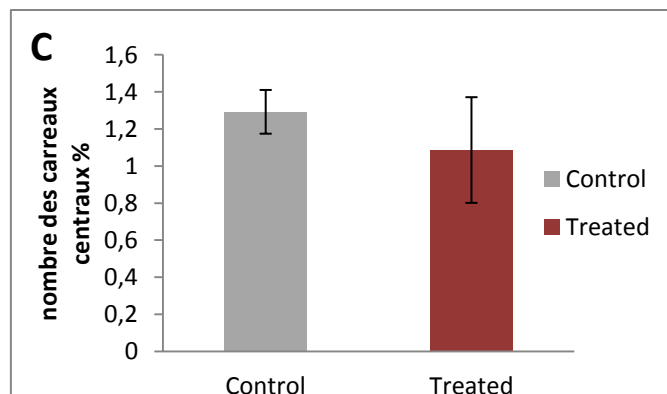
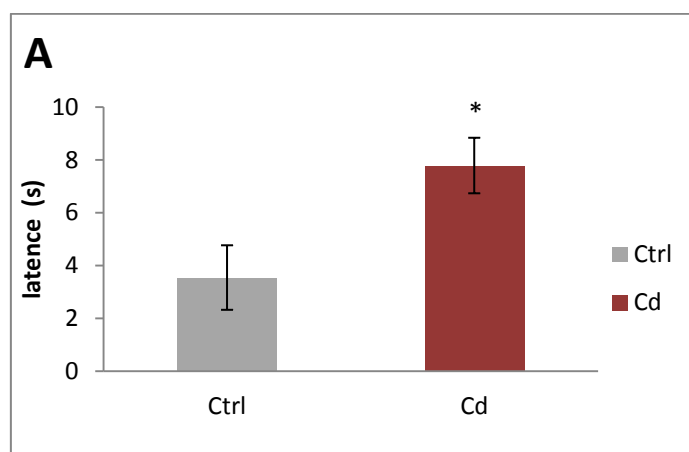


Figure 31 : Effet de l'exposition au $CdCl_2$ à l'âge juvénile sur l'activité locomotrice et sur le comportement d'anxiété. **A** Nombre des carreaux. **B** Temps passé au centre et à la périphérie. **C** Pourcentage de nombre des carreaux centraux passés. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm S.E.M * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ comparaison par rapport au groupe témoin.

a. L'enfouissement des billes (Marble burring)

Les résultats du test d'enfouissement des billes ont montré une significativité concernant le temps d'enterrement passé au cours des 10 premières minutes du test, les rats traités par le $CdCl_2$ passent plus de temps à enterrer la litière par rapport aux témoins ($t = -2,632$, $p = 0,022$), alors que le nombre des billes enfouies par le groupe traité était significativement élevé par rapport au groupe témoin ($t = -2,887$, $p = 0,014$) (figure 32).



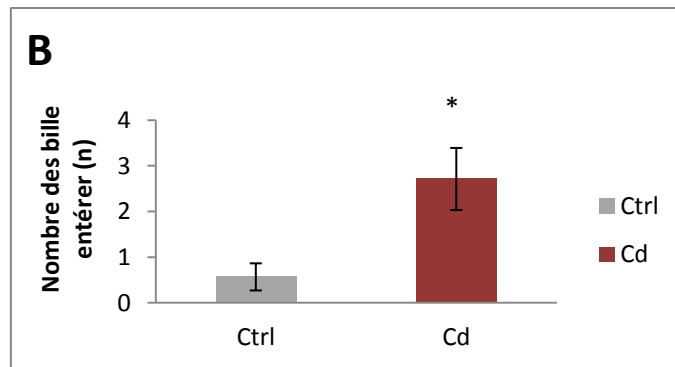


Figure 32 : Comportement d'enfouissement des billes, pendant les 20 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. **A** Temps de latence d'enfouissement. **B** Nombre de billes enfouies. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). * $p < 0,05$, par rapport au groupe témoin.

5/ Effets du Cd sur le comportement des rats adultes

a. Le labyrinthe en Y

Dans ce test, nous avons mesuré l'effet de l'exposition au chlorure de cadmium au cours de la gestation et de la lactation et jusqu'au stade adulte, sur l'alternance spontanée des rats adultes dans le labyrinthe en Y. Nos résultats ont montré que le pourcentage d'alternance ($t = 2,543$, $p = 0,019$) du groupe traité dans les trois bras était inférieur significativement par rapport au groupe contrôle.

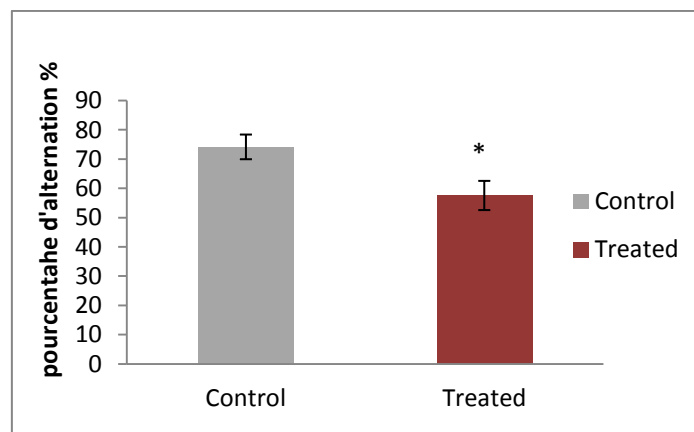


Figure 33 : Effets du chlorure de cadmium sur les performances en alternance des rats adultes exposés pendant la gestation et la lactation dans le labyrinthe en Y (% d'alternance). Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M.* $p < 0.05$ (10 animaux / groupe).

b. La reconnaissance des objets

Dans ce test, nous avons évalué les effets du chlorure de cadmium sur la mémoire des rats traités au cadmium et de leurs témoins. Les résultats obtenus lors de ce test ont montré que les rats traités au CdCl_2 présentaient un indice de reconnaissance d'objet inférieur de manière significative par rapport au groupe témoin ($t = 2,418$, $p = 0,028$).

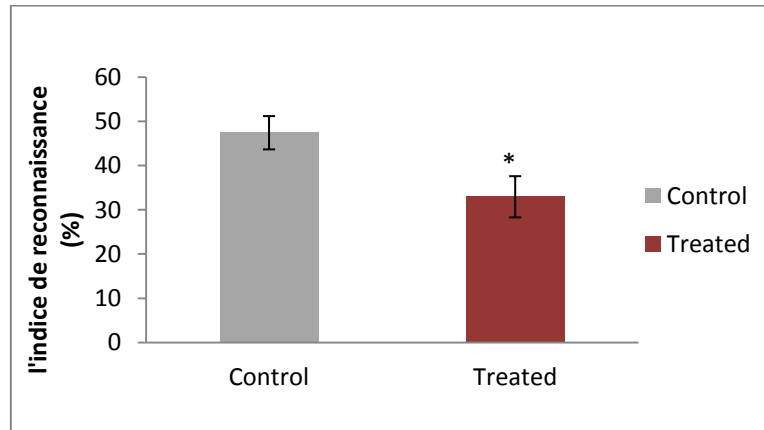


Figure 34 : Effet du chlorure de cadmium sur l'indice de reconnaissance chez les rats adultes traités au cadmium et leurs témoins. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M (10 animaux / groupe), * $p < 0.05$ comparé au groupe contrôle.

c. Le labyrinthe en croix surélevé (EPM)

L'analyse des données des sessions du test de l'EPM a montré un effet significatif du CdCl_2 sur l'indice d'anxiété du groupe traité par rapport au groupe témoin ($t = -2,218$, $p = 0,035$) et un pourcentage du temps passé dans les bras ouverts significativement réduit ($t = 2,185$, $p = 0,037$) par rapport au groupe contrôle.

Aucune différence n'a été observée concernant le pourcentage d'entrées dans les bras ouverts des rats traités par rapport aux témoins, après exposition au CdCl_2 (figure 35).

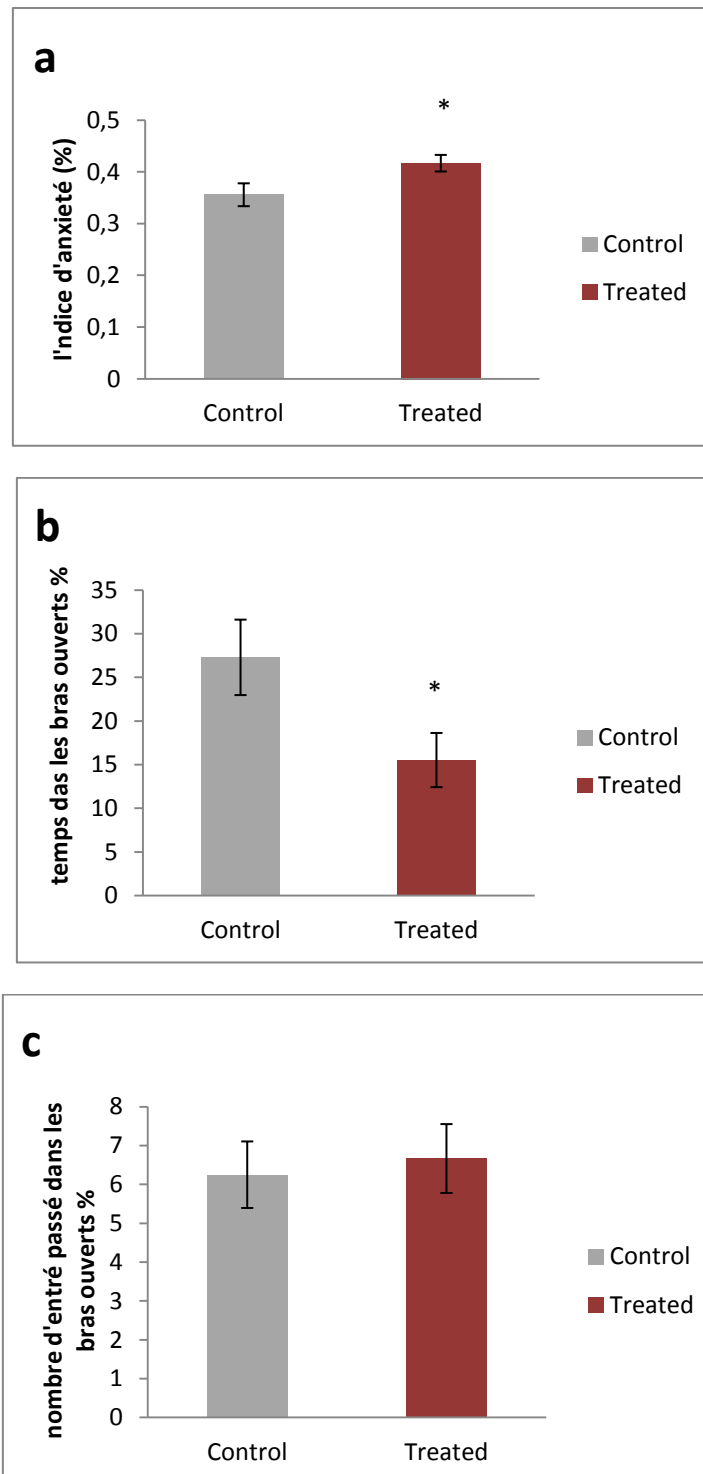


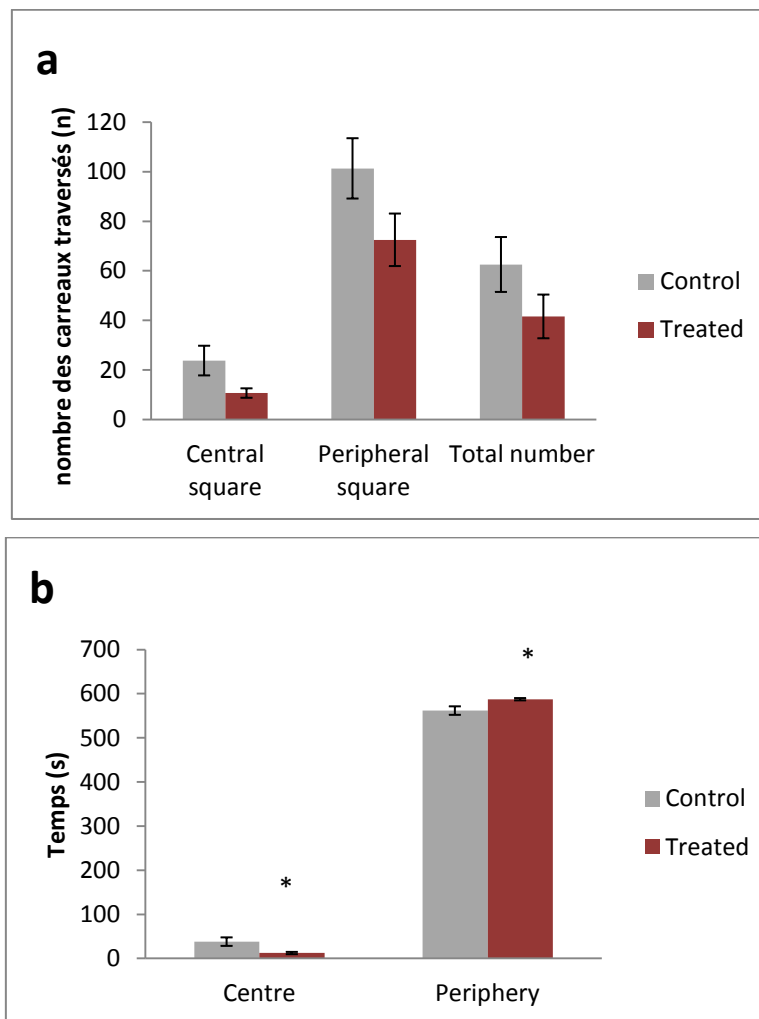
Figure 35 : Comportement lié à l'anxiété des rats adultes ayant reçu le chlorure de cadmium pendant la période de gestation et de lactation par le test d'EPM. **A** Indice d'anxiété. **B** Pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. **C** Pourcentage d'entrée dans les bras ouverts. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin

d. Le champ ouvert (Open field)

Les données d'analyse des sessions du champ ouvert ont révélé un effet de l'exposition au chlorure de cadmium sur le nombre de carreaux périphériques et centraux chez les animaux traités comparés aux témoins, mais ce n'était pas significatif.

Le temps passé dans les carreaux centraux était significativement plus faible chez les animaux traités par rapport aux témoins ($t = 2,588$, $p = 0,019$), alors que le temps passé en périphérie était significativement élevé chez les traités par rapport aux témoins, ($t = -2,576$, $p = 0,019$).

Entre le groupe des rats traités et celui des rats témoins, le pourcentage des carreaux centraux traversés n'était pas statistiquement significatif (figure 36).



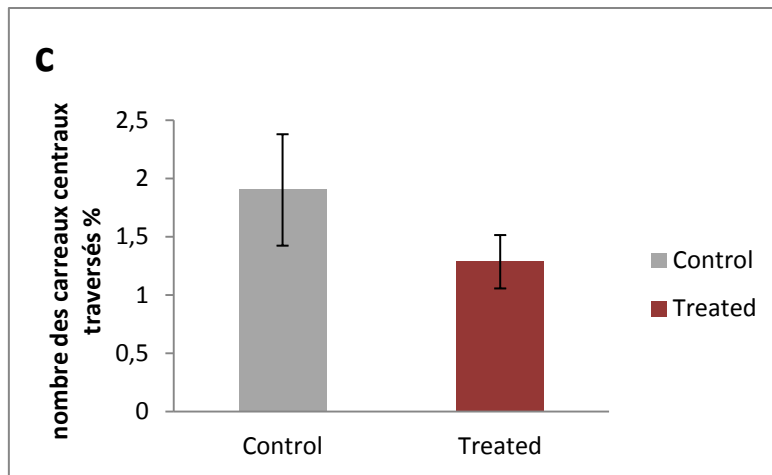


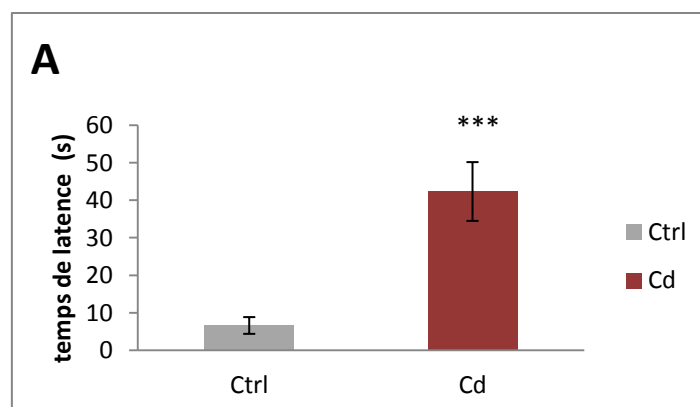
Figure 36 : Comportement en champ ouvert (Open field), pendant les 10 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. **A** Nombre des carreaux. **B** Temps passé au centre et en périphérie. **C** Pourcentage de nombre des carreaux centraux traversés. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe).

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

e. L'enfouissement des billes (Marble burring)

Les résultats du test d'enfouissement des billes ont montré une grande significativité concernant le temps d'enterrement passé au cours des 10 premières minutes du test, les rats traités par le CdCl_2 passent plus de temps à enterrer la litière par rapport aux témoins ($t = -4,698$, $p \leq 0,001$).

Le nombre des billes enfouies par le groupe traité est significativement élevé par rapport au groupe témoin ($t = -3,973$, $p = 0,002$) (figure 37).



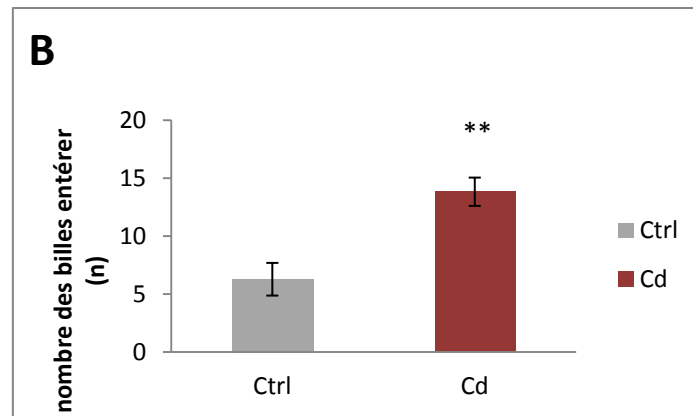


Figure 37 : Comportement d'enfouissement des billes, pendant les 20 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. **A** Temps de latence d'enfouissement. **B** Nombre de billes enfouies. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, par rapport au groupe témoin.

6/ Effets du Cd sur le stress oxydatif

Le stress oxydant est un état caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les capacités antioxydantes de l'organisme (enzymes antioxydantes et systèmes antioxydants non enzymatiques).

La présente partie sera focalisée sur les effets de l'exposition au cadmium (Cd) au cours de la gestation, sur les activités enzymatiques essentielles chez les nouveaux né pour évaluer le statut oxydatif au cours de la période post-natale, ainsi que l'effet du présent métal au cours de la gestation, la lactation et jusqu'au stade adulte sur le statut oxydatif.

6.1 / Effets du Cd sur le stress oxydatif durant la période post-natale

a. Effet du Cd sur l'activité de la catalase (CAT) chez les rats

L'activité du CAT a montré une diminution significative dans certaines régions du cerveau des rats après traitement par cadmium. Ainsi une diminution significative a été observée au PN5 et PN10 ($t = 3\ 447$, $p = 0,006$ et $t = 2\ 379$, $p = 0,049$). Cependant, au PN15 l'activité de la CAT a montré une diminution dans toutes les structures cérébrales du groupe traité au cadmium au cours de cette période (période d'allaitement) mais cette diminution n'est pas significative. Pour le dernier âge post-natal (PN21), on observe une diminution significative au niveau du tronc cérébral du groupe traité au cadmium ($t = 3\ 000$, $p = 0,013$), et une diminution maximale et significative au niveau des hémisphères cérébraux pour le groupe

traité au cadmium en comparaison avec le groupe témoin ($0,0561 \pm 0,0171$ vs $0,142 \pm 0,00925$).

D'autre part l'activité de la CAT au niveau du foie et des reins des rats traités par le chlorure de cadmium montre une diminution dans la plupart des jours postnataux, mais cette diminution n'est significative qu'au niveau du foie au 10^{ème} jour post-natal (PN10), ($t = 4,533$, $p = 0,001$).

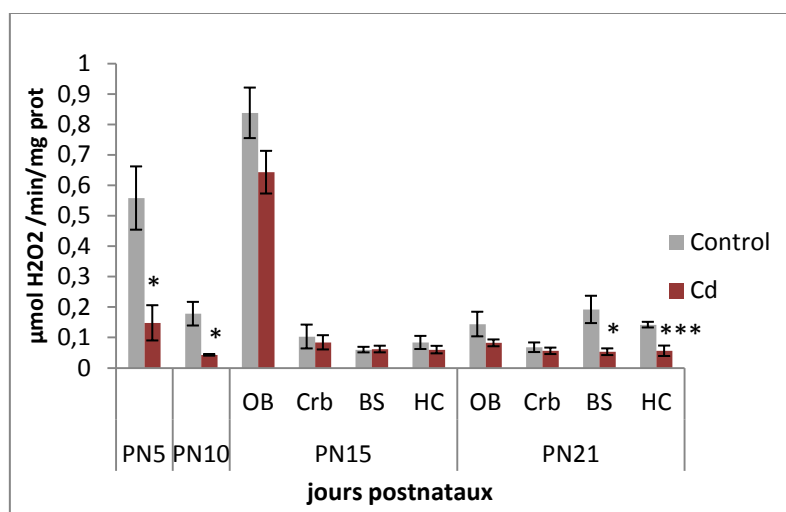
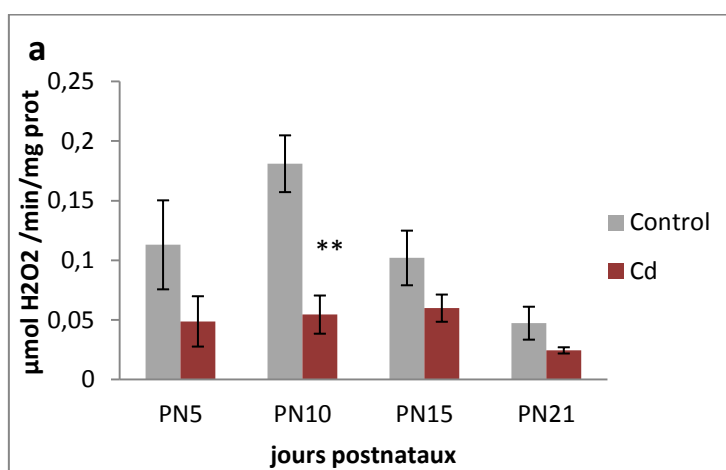


Figure 38 : Effets de l'administration de chlorure de cadmium sur l'activité du CAT dans les cerveaux entiers (PN5, PN10), et au niveau des structures cérébrales (PN15, PN21). Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ versus groupe témoin.



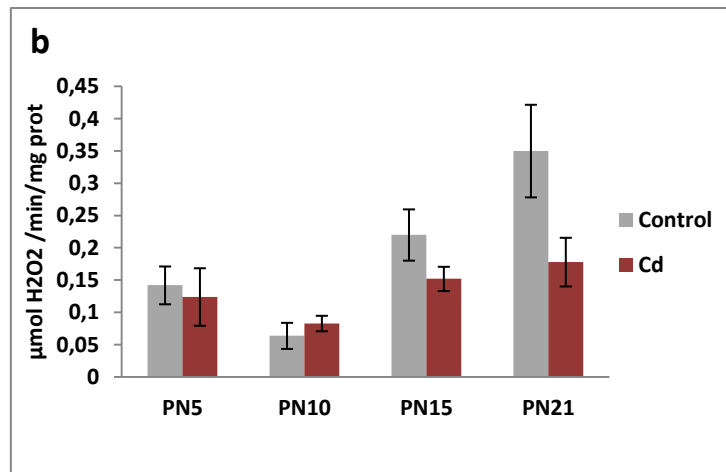


Figure 39 : Effets de l'administration de chlorure de cadmium sur l'activité du CAT dans le foie (a) et les reins (b) des rats pendant la période post-natale. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). ** $p < 0,01$ versus groupe témoin.

b. Effet du Cd sur l'activité du glutathion peroxydase (GPX) chez les rats

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) est caractérisée par une stabilité relative au premier âge post-natal analysé (PN5), alors qu'une diminution importante et significative a été observée au PN10 ($t = 4\ 802$, $p = 0,002$) pour le groupe traité au cadmium en comparaison aux contrôles (figure 40).

À l'âge de PN15, nous avons observé une diminution significative de l'activité de GPX au niveau du tronc cérébral ($t = 2\ 757$, $p = 0,022$) et au niveau des hémisphères cérébraux ($t = 5\ 229$, $p \leq 0,001$). Une diminution significative a également été observée dans les hémisphères cérébraux ($t = 3\ 830$, $p = 0,009$) au PN21 (figure 40).

Une diminution de l'activité de GPX a été observée au niveau du foie à tous les âges post-nataux mais cette diminution n'est significative qu'au PN5 ($t = 3,352$, $p = 0,007$) et au PN21 ($t = 4,232$, $p = 0,002$).

Au niveau des reins, les rats exposés au chlorure de cadmium pendant la gestation et la lactation, montrent une diminution significative au PN21 ($t = 3,124$, $p = 0,020$) (figure 41).

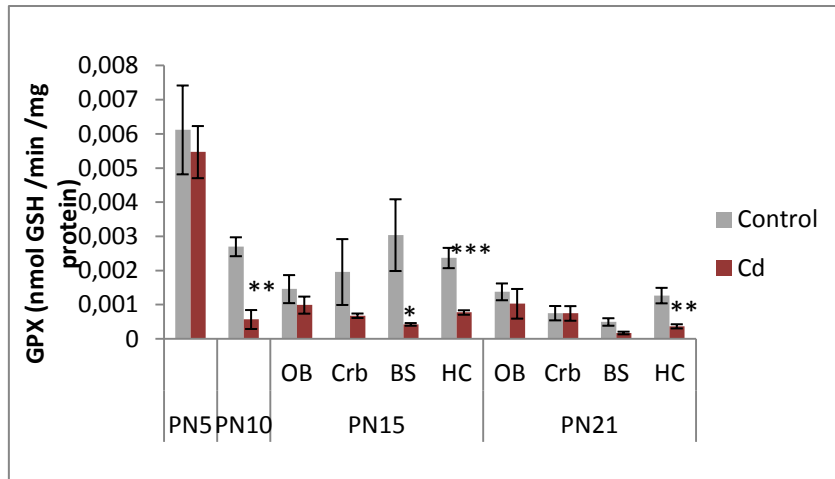
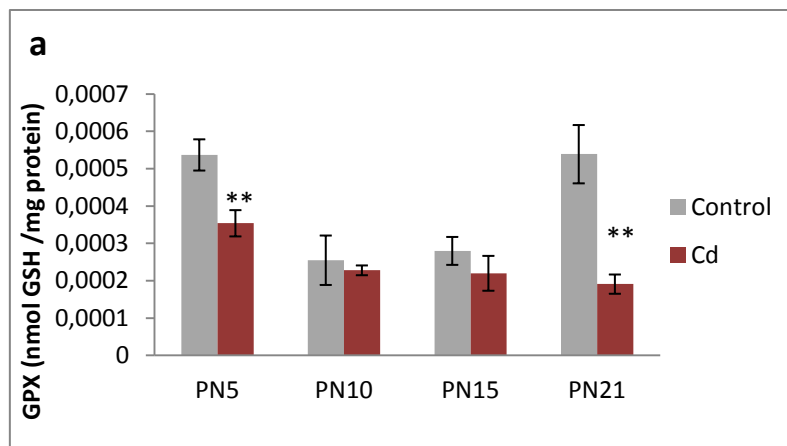


Figure 40 : Activités de la glutathion peroxydase (GPx) dans les cerveaux entiers (PN5, PN10), et au niveau des structures cérébrales (PN15, PN21) chez les rats traités. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin (test t).



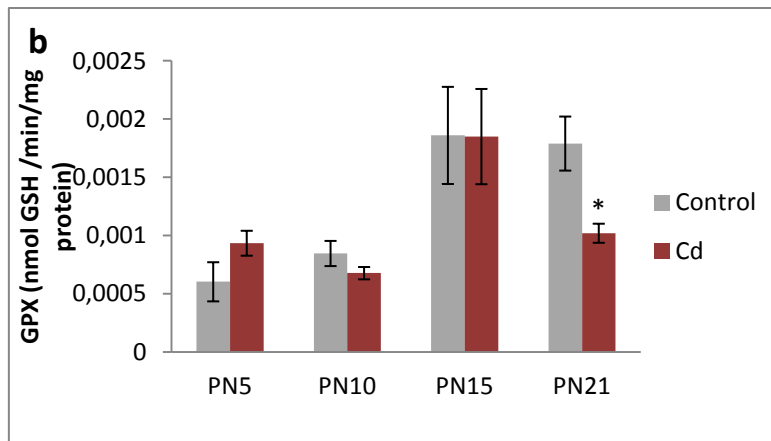


Figure 41 : Activités de la glutathion peroxydase (GPx) (**a**) au niveau du foie, (**b**) au niveau des reins, chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le chlorure de cadmium. ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin (test t).

c. Effet du Cd sur l'activité du glutathion-S-transférase (GST) chez les rats

L'activité du glutathion S-transférase (GST) a diminué dans tout le cerveau et les structures cérébrales analysées chez les rats après traitement au cadmium aux quatre âges postnataux étudiés, alors que la diminution n'était significative qu'au PN15 au niveau du bulbe olfactif ($t = 2645$, $p = 0,027$) et au niveau du tronc cérébral ($t = 2340$, $p = 0,041$). La significativité évolutive a été observée au PN21 dans le bulbe olfactif ($t = 3\ 739$, $p = 0,004$) et le tronc cérébral ($t = 4\ 221$, $p = 0,002$). Ainsi, une diminution significative au niveau du cervelet ($t = 2\ 411$, $p = 0,037$) et des hémisphères cérébraux ($t = 2\ 485$, $p = 0,032$) a été observée (figure 42).

Concernant la concentration de GST au niveau du foie et des reins, on observe des variations non significatives chez les rats traités surtout aux PN5 et PN10, alors que cette activité est significativement diminuée au niveau du foie et des reins au PN21 ($t = 3,669$, $p = 0,004$), ($t = 2,963$, $p = 0,014$) (figure 43).

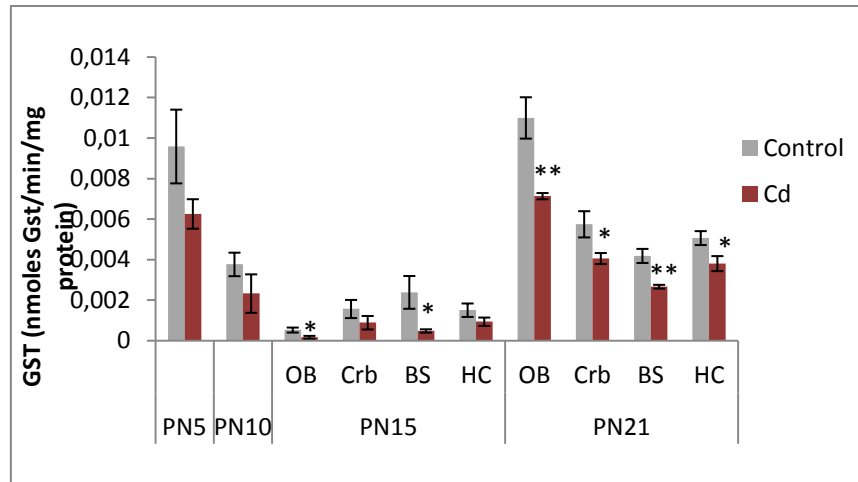
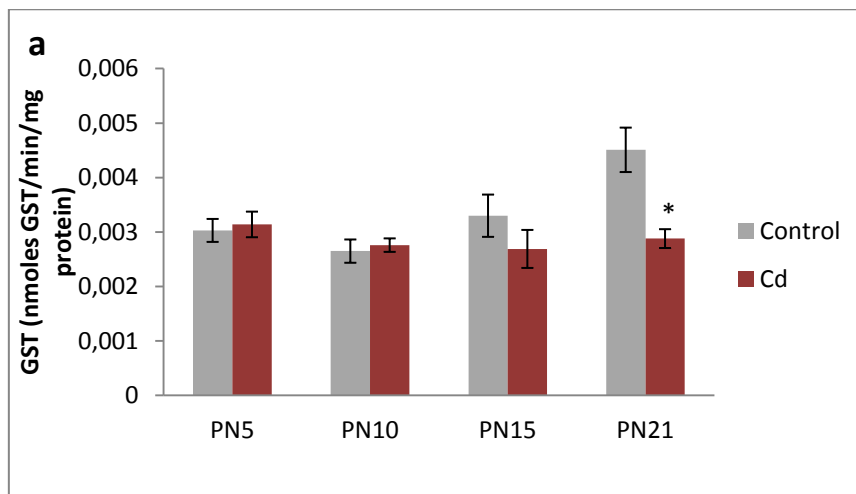


Figure 42 : Activités de la glutathion S-transférase (GST) chez les cerveaux des rats traités pendant la gestation et la lactation par le chlorure de cadmium. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.



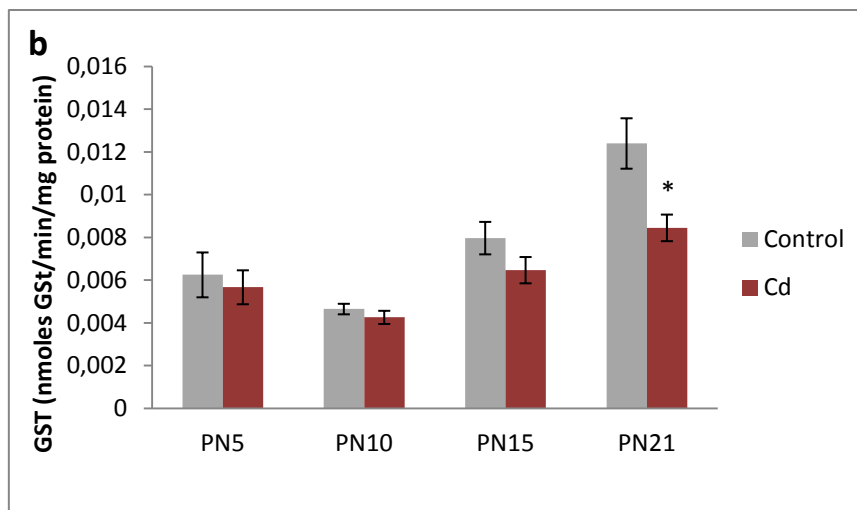


Figure 43 : Activités de la glutathion S-transférase (GST), au niveau du foie (a), et au niveau des reins (b) chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le chlorure de cadmium. * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

d. Effet du Cd sur l'activité du superoxyde dismutase (SOD) chez les rats

Une diminution significative de l'activité de la SOD n'a été observée qu'au PN15 dans les hémisphères cérébraux et le cervelet, avec respectivement ($t = 3\ 167$, $p = 0,013$) et ($t = 3\ 496$, $p = 0,006$), cette diminution persiste de façon significative au PN21 mais uniquement au niveau du cervelet ($t = 2\ 392$, $p = 0,048$). Les diminutions observées dans les autres âges postnataux et dans les autres structures n'ont pas atteint la significativité statistique.

De même pour l'activité de la SOD au niveau du foie et des reins, on note une diminution chez le groupe traité dans la majorité des jours postnataux étudiés après traitement par le chlorure de cadmium pendant la gestation et la lactation en comparaison avec le groupe témoin, pour le foie cette diminution est significative au PN10 ($t = 3,066$, $p = 0,012$), au PN15 ($t = 2,281$, $p = 0,046$) et au PN21 ($t = 2,403$, $p = 0,037$).

Au niveau des reins l'analyse statistique a montré une diminution significative de l'activité de la SOD au PN10 ($t = 2,509$, $p = 0,031$) et au PN21 ($t = 3,278$, $p = 0,008$) (Figure 45 b).

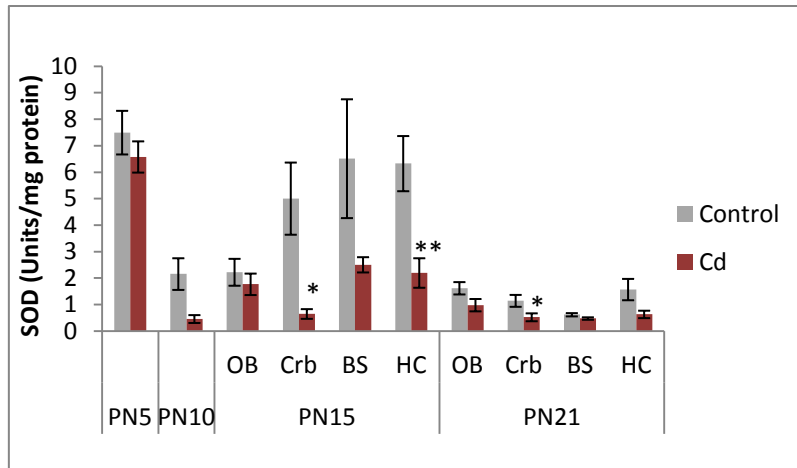


Figure 44 : Effet de l'administration de chlorure de cadmium sur laSOD des cerveaux des rats, pendant la gestation et les périodes de lactation. Toutes les données sont présentées en moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

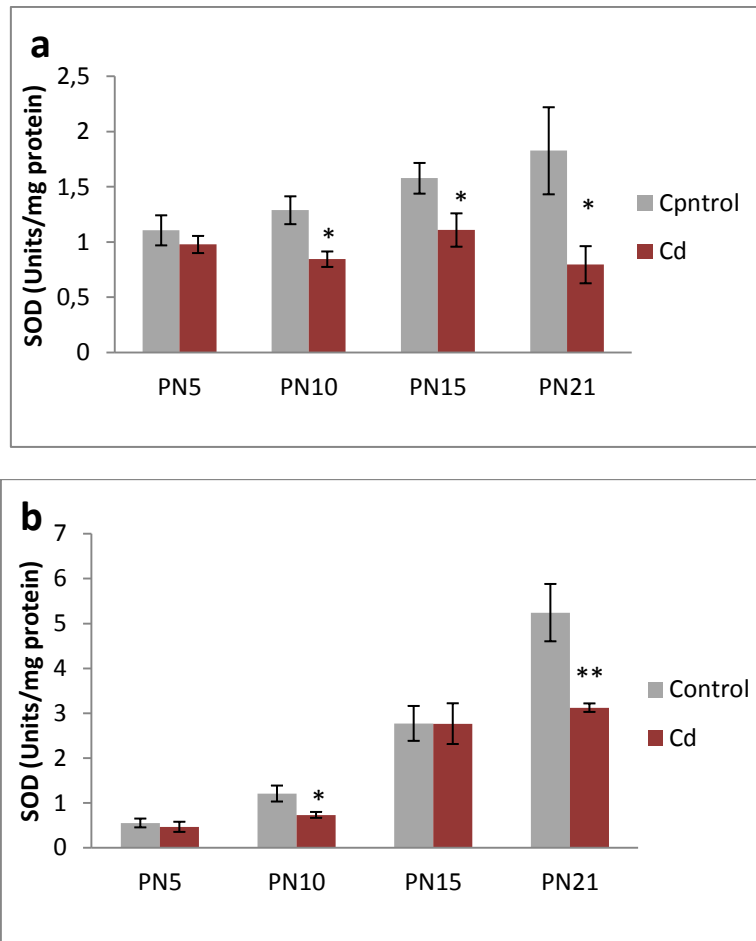


Figure 45 : Effet de l'administration de chlorure de cadmium sur l'activité de laSOD au niveau du foie (a), et au niveau des reins (b) chez des rats pendant la gestation et la période de lactation. Toutes les données sont présentées en moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

e. L'effet du Cd sur la peroxydation lipidique (MDA) chez les ratons

Une augmentation de la concentration des malondialdéhydes a été observée dans tout le cerveau et dans toutes les structures cérébrales analysées chez les ratons après traitement au cadmium aux différents PN étudiés, alors que l'augmentation n'était significative qu'au PN15 du bulbe olfactif ($t = -2,327$, $p = 0,045$) et du tronc cérébral ($t = -2,878$, $p = 0,016$). La significativité évolutive a été observée aussi au PN21 dans le bulbe olfactif ($t = -3,491$, $p = 0,013$) et le tronc cérébral ($t = -5,853$, $p \leq 0,001$).

Une augmentation évolutive au niveau du foie du groupe traité par rapport au groupe témoins a été observée après exposition au CdCl_2 , cette augmentation moyennement significative à partir de PN10 ($t = -3,949$, $p = 0,003$), se retrouve au PN15 ($t = -3,319$, $p = 0,008$) et au PN21 ($t = -3,297$, $p = 0,008$).

De la même manière et concernant le dosage de MDA au niveau des reins au cours des différents PN étudiés, le test-t de Student a montré une augmentation significative au PN10 ($t = -2,403$, $p = 0,037$), PN15 ($t = -3,174$, $p = 0,010$), et au PN21 ($t = -2,397$, $p = 0,038$).

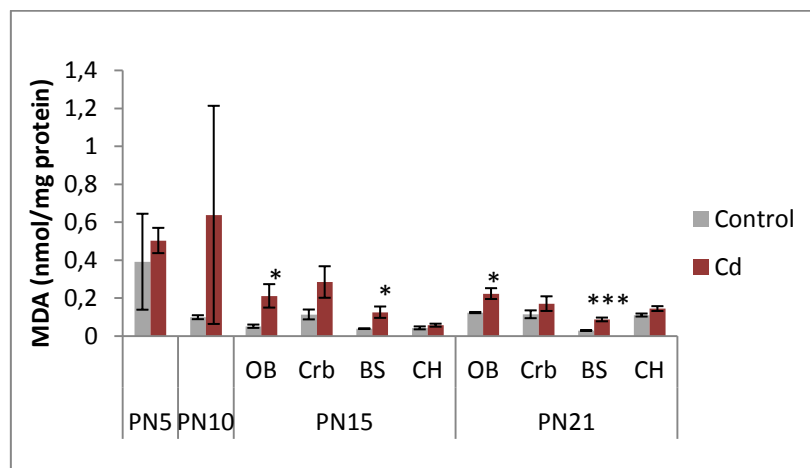


Figure 46 : Les niveaux de MDA dans les cerveaux entiers (PN5, PN10) et dans les structures cérébrales (PN15, PN21) des ratons traités par CdCl_2 . Le niveau de peroxydation lipidique du tissu cérébral des ratons a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe). *** $p < 0,001$, * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

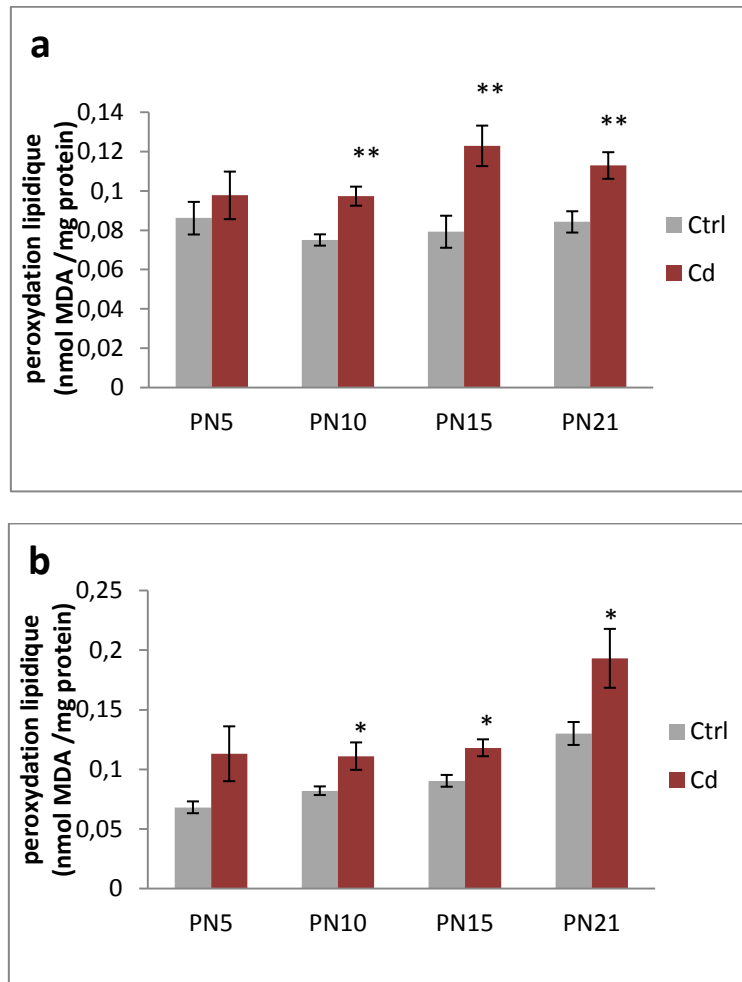


Figure 47 : Les taux de MDA dans le foie (a), et dans les reins (b), des rats traités par le CdCl₂ pendant la gestation et après la naissance. Le niveau de peroxydation lipidique a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne ± SEM, n = 6 par groupe). *** p < 0,001, * p < 0,05 par rapport au groupe témoin.

f. Effet du Cd sur l'activité de l'acétyle cholinestérase (AChE) chez les rats

Au niveau des cerveaux des rats de mères traitées au cadmium, une inhibition non significative de l'activité de l'AChE a été observée respectivement au PN5 et au PN10 par rapport aux témoins correspondants.

Cependant, l'analyse du test-t a révélé au PN15 que l'inhibition n'était pas significative dans le bulbe olfactif, le tronc cérébral et les hémisphères cérébraux, alors que dans le cervelet l'inhibition est significative (t = -3 349, p = 0,007). L'analyse du test-t a révélé au PN 21 que

l'inhibition n'était pas significative dans le cervelet, le tronc cérébral et les hémisphères cérébraux, par contre dans le bulbe olfactif l'inhibition est significative par rapport aux témoins ($t = -5,033$, $p = 0,007$).

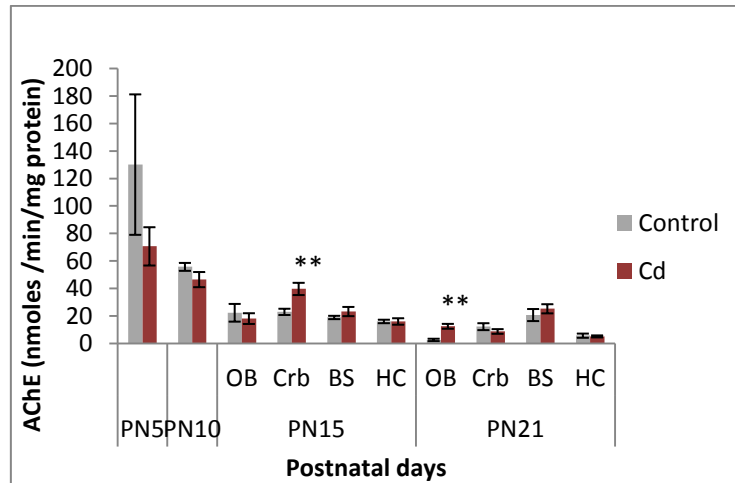


Figure 48 : Activités de l'AChE chez les rats traités au $CdCl_2$ en pré et en postnatal. L'activité spécifique était exprimée en nmolACh hydrolysée / min / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe). ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin (test t).

6.2 / Effets du Cd sur le stress oxydatif chez les rats à l'âge adulte

a. Effets du Cd sur l'activité de la catalase (CAT) chez les rats adultes

L'activité de la catalase (CAT) a montré une diminution spectaculaire dans la majorité des structures cérébrales analysées, la plus forte diminution a été observée dans le cervelet ($t = 4,455$, $p = 0,001$), alors que les autres structures, à savoir ; le mésencéphale ($t = 2,311$, $p = 0,043$), le Pont ($t = 2,535$, $p = 0,030$) et l'hippocampe ($t = 3,119$, $p = 0,011$) respectivement montre une diminution modérée mais significative (figure 49).

L'activité de la CAT au niveau des reins est diminuée de façon significative chez les rats traités au Cd par rapport aux témoins ($t = 2,416$, $p = 0,036$), par contre au niveau du foie cette activité est diminuée mais elle n'est pas significative (figure 50).

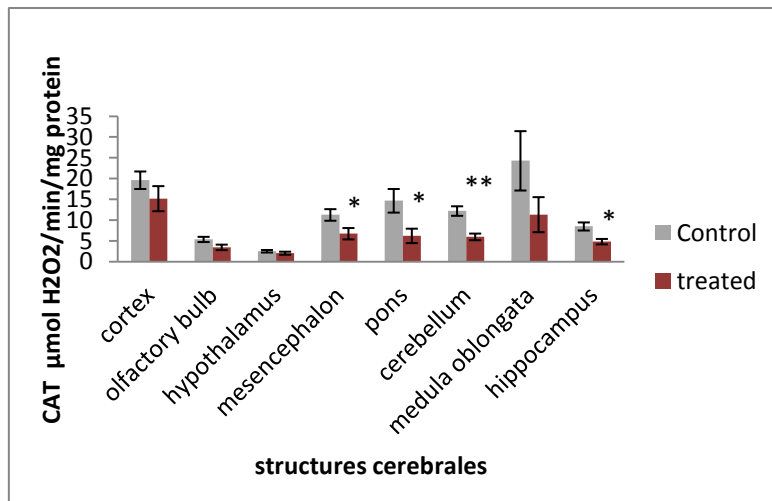


Figure 49 : Effets du chlorure de cadmium sur l'activité de la catalase, chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

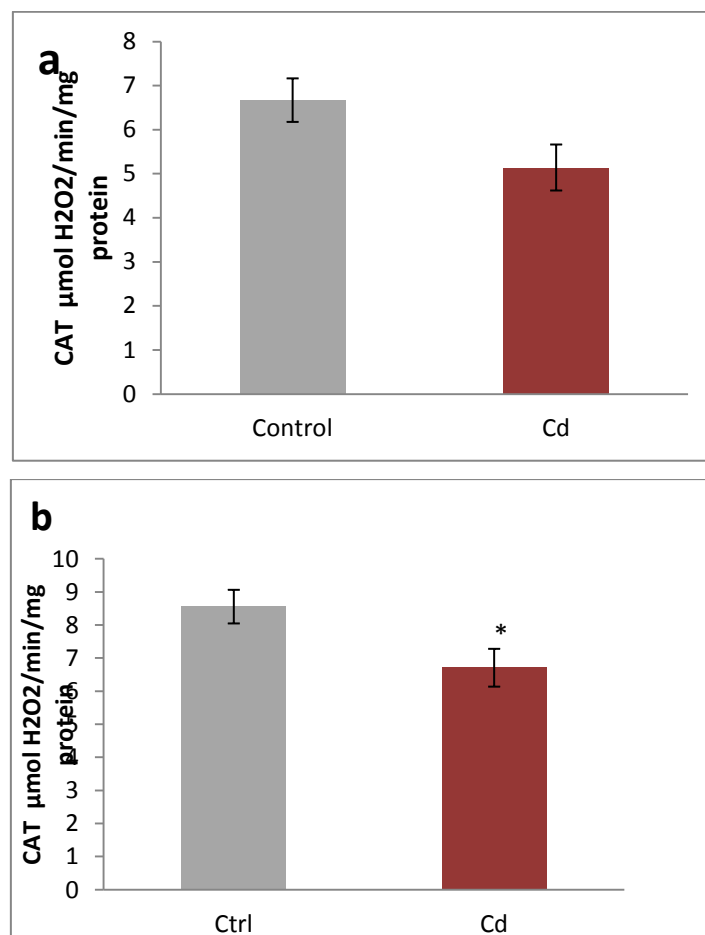


Figure 50 : Effets du chlorure de cadmium sur l'activité de la catalase chez les rats adultes au niveau du foie (a) et des reins (b). Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

b. Effets du Cd sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPX) chez les rats adultes

L'activité de GPX a été caractérisée par une diminution dans les différentes structures cérébrales analysées (figure 51). Ainsi, nous avons remarqué une diminution significative de cette activité au niveau du mésencéphale ($t = 3,225$, $p = 0,009$) et de l'hippocampe ($t = 3,535$, $p = 0,005$), alors qu'une légère diminution significative a été observée dans l'hypothalamus ($t = 3,065$, $p = 0,015$), le cervelet ($t = 3,039$, $p = 0,012$), et le bulbe rachidien ($t = 2,311$, $p = 0,043$) (figure 51).

Au niveau du foie l'activité du glutathion peroxydase est diminuée de façon très significative dans le foie traité par le Cd par rapport aux témoins ($t = 6,189$, $p \leq 0,001$), alors qu'au niveau des reins aussi l'activité est significativement diminuée chez les rats traités par rapport aux témoins ($t = 2,555$, $p = 0,029$).

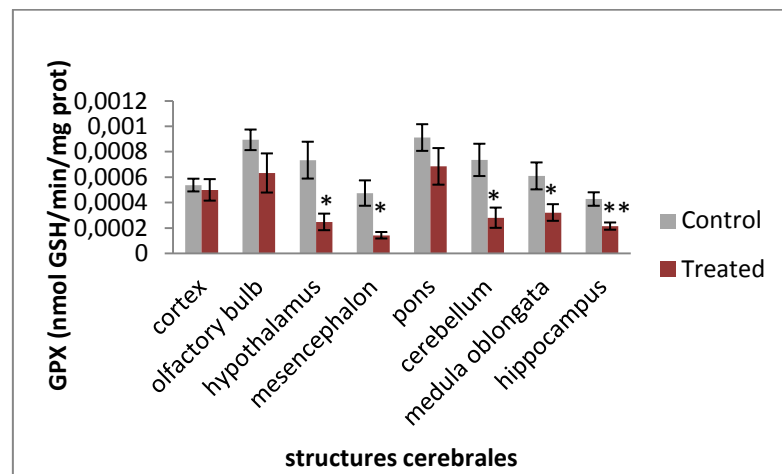


Figure 51 : Effets du chlorure de cadmium sur l'activité de GPX, chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

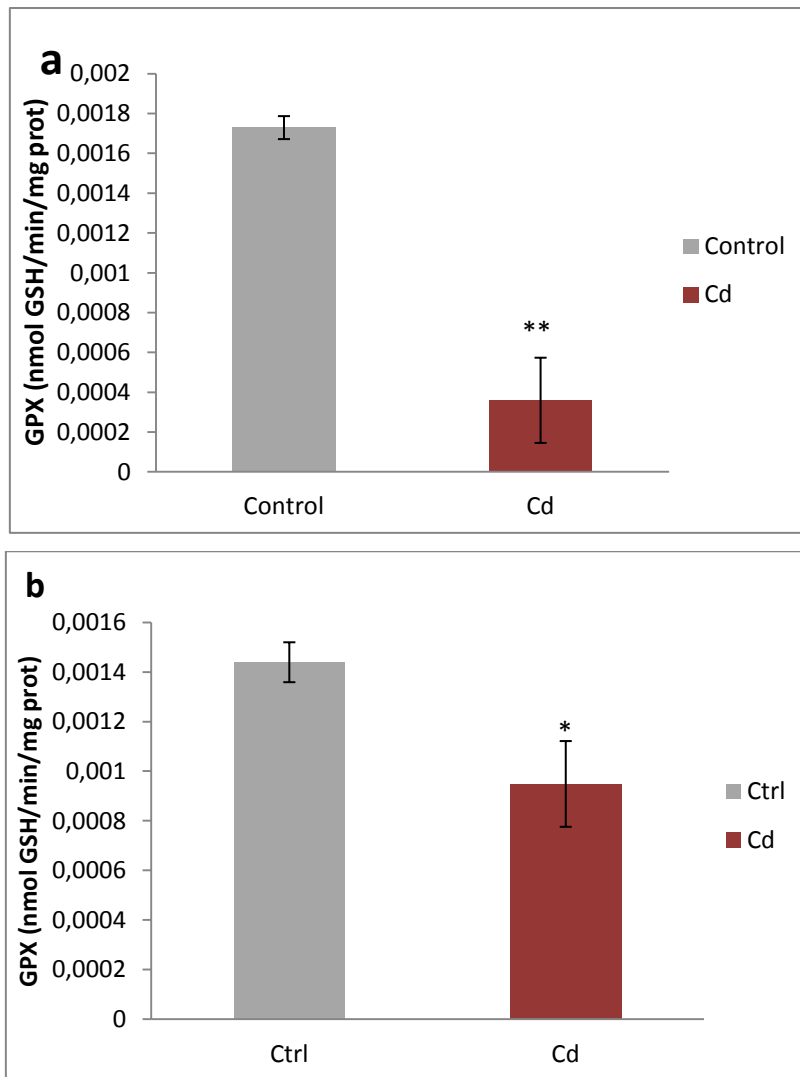


Figure 52 : Effets du chlorure de cadmium sur l'activité de GPX au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

c. Effet du Cd sur l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) chez les rats adultes

L'activité de la GST a diminuée presque dans toutes les structures cérébrales analysées. Les plus fortes baisses ont été observées dans le cortex ($t = 2,390$, $p = 0,038$) et le cervelet ($t = 2,692$, $p = 0,023$). Les diminutions observées dans les autres structures n'étaient pas statistiquement significatives.

Au niveau des reins l'activité de GST est moyennement significative chez les rats traités au Cd par rapport aux témoins ($t = 4,540$, $p = 0,001$), alors qu'au niveau du foie il n'y a pas de différences significatives (figure 54).

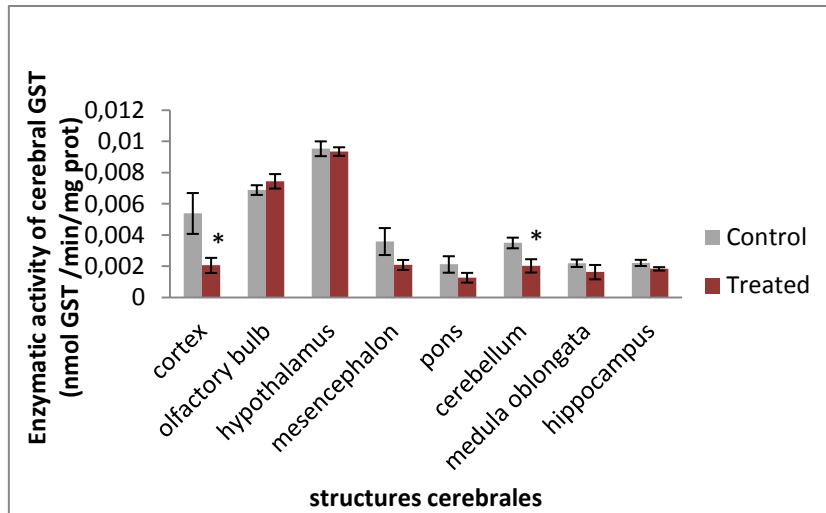


Figure 53 : Effets du chlorure de cadmium sur l'activité de la GST, chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

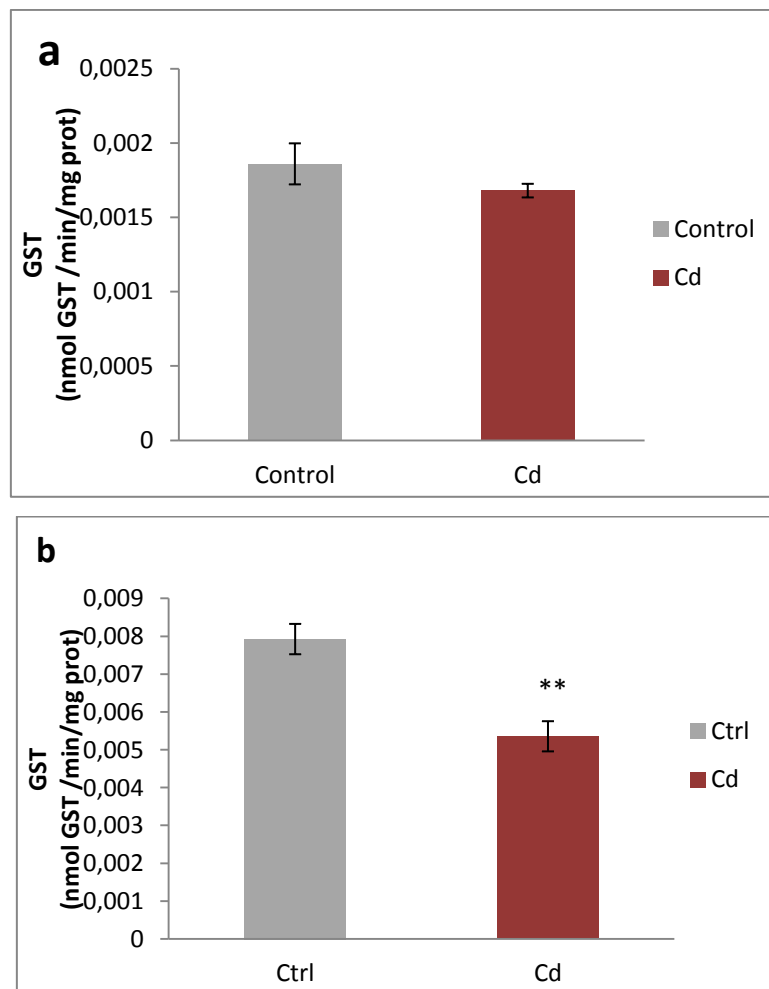


Figure 54 : Effets du chlorure de cadmium sur l'activité de la GST, au niveau du foie(a), et au niveau des reins(b) chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

d. L'effet du Cd sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) chez les rats adultes

Une diminution significative de l'activité SOD, était observée dans le cortex ($t = 2,936$, $p = 0,015$), le bulbe olfactif ($t = 2,677$, $p = 0,028$), l'hypothalamus ($t = 2,716$, $p = 0,026$), et le mésencéphale ($t = 2,581$, $p = 0,027$) des rats exposés au $CdCl_2$ comparés aux rats contrôles. Les autres structures du cerveau n'ont pas montré de différences significatives dans l'activité de la SOD entre les témoins et les traitées (figure 56).

Au niveau du foie l'activité de la SOD est moyennement significative chez le groupe traité au cd par rapport au contrôle ($t = 4,073$, $p = 0,002$), alors qu'au niveau des reins l'activité de la SOD chez les rats traités est significativement inférieure par rapport au groupe témoin ($t = 2,482$, $p = 0,032$) (figure 55).

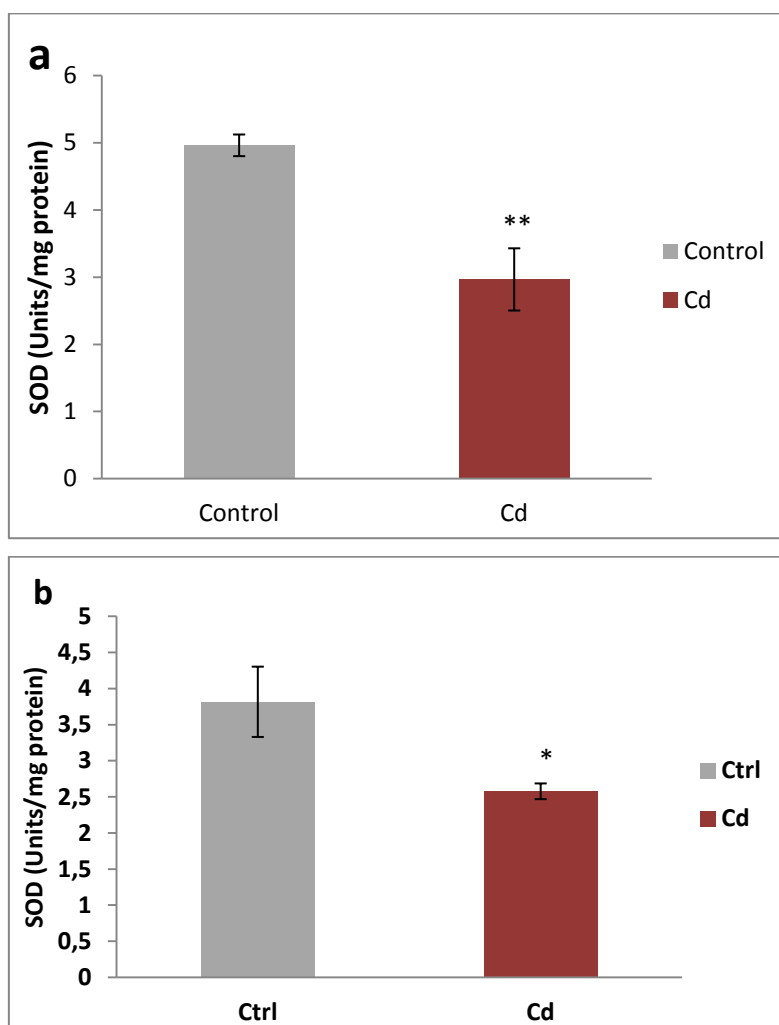


Figure 55 : Effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la SOD, au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

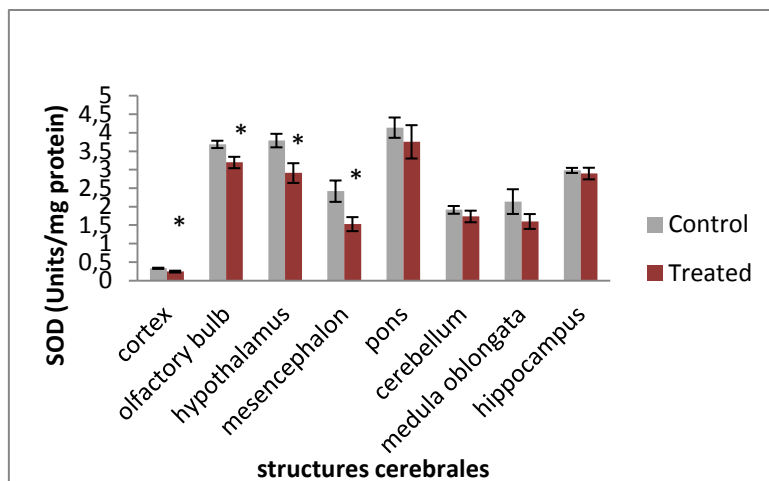


Figure 56 : Effet du chlorure de cadmium sur l'activité de la SOD chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

e. L'effet du Cd sur la peroxydation lipidique (MDA) chez les rats adultes

Pour estimer la peroxydation lipidique, l'activité de la MDA a été mesurée chez des rats traités avec CdCl_2 et leurs contrôles correspondants dans huit structures cérébrales, à savoir le cortex cérébral, le bulbe olfactif, l'hypothalamus, l'hippocampe, le mésencéphale, le pont, le cervelet, et le bulbe rachidien. L'activité a été significativement augmentée dans le groupe traité dans de nombreuses structures, telles que le cortex cérébral ($t = -3,719, p = 0,004$), le bulbe olfactif ($t = -2,948, p = 0,018$), le bulbe rachidien ($t = -2,536, p = 0,030$) et de l'hippocampe ($t = -2,456, p = 0,034$), comparé au groupe témoin. L'activité a également été augmentée dans le cervelet mais n'a pas atteint un niveau significatif (figure 58).

Au niveau des reins et du foie l'activité a été significativement augmentée dans le groupe traité par le Cd par rapport au groupe témoin ($t = -2,411, p = 0,037$), ($t = -4,577, p = 0,001$) respectivement (figure 57).

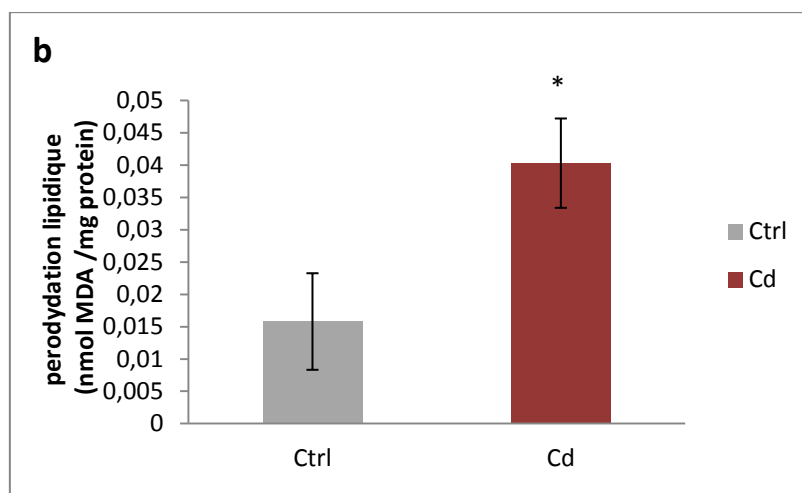
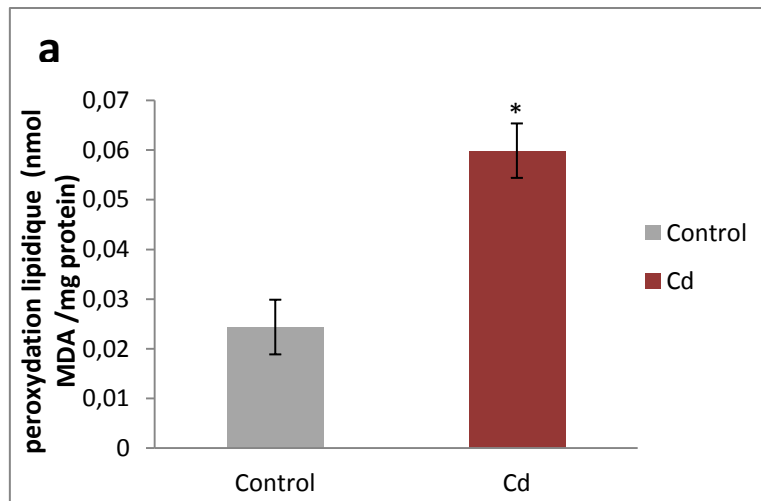


Figure 57 : Les niveaux de MDA dans (a) le foie, et dans (b) les reins chez les rats adultes traités au chlorure de cadmium. Le niveau de peroxydation lipidique a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe), * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

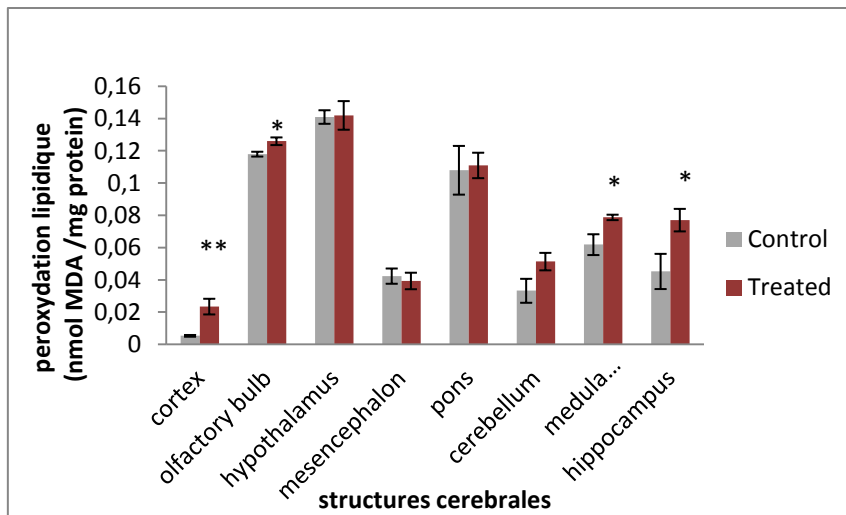


Figure 58 : Les niveaux de MDA dans le cerveau des rats adultes traités au chlorure de cadmium. Le niveau de peroxydation lipidique du tissu cérébral des rats a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, n = 6 par groupe). *** p < 0,001, * p < 0,05 par rapport au groupe témoin.

f. L'effet du Cd sur l'activité de l'acétyl cholinestérase (AChE) chez les rats adultes

Parmi les huit structures cérébrales analysées dans le traitement des rats par CdCl₂ et les contrôles correspondants, une diminution significative de l'activité AChE a été observée dans le cortex, le mésencéphale, le pont, le cervelet et le bulbe rachidien. Cependant, le test t de Student a révélé que l'inhibition était significative uniquement dans le cortex (t = 2,491, p = 0,047), le cervelet (t = 2,971, p = 0,025), et le bulbe rachidien (t = 5,874, p = 0,004), chez les traités par rapport aux contrôles (figure 59).

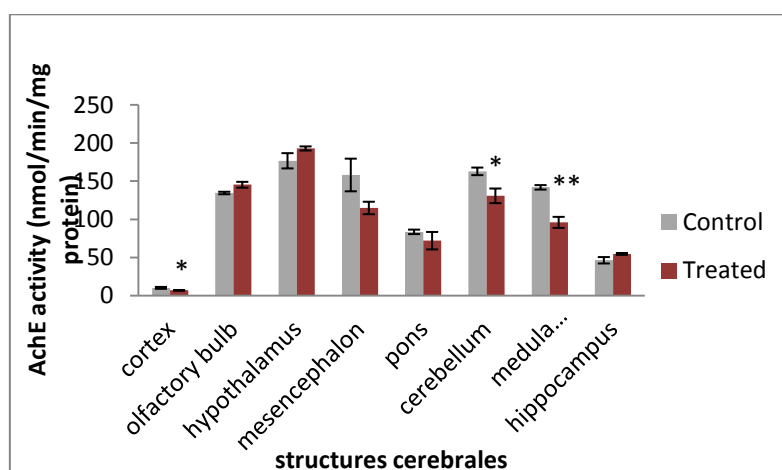


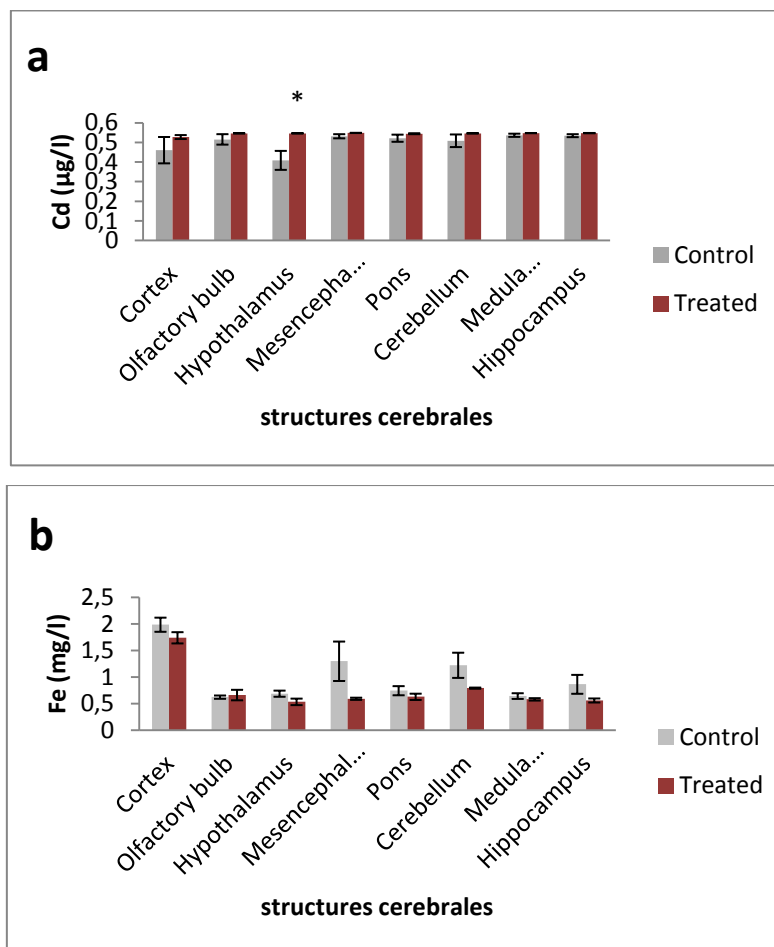
Figure 59 : Activités AChE dans différentes structures cérébrales de rats adultes traités au chlorure de cadmium. L'activité spécifique a été exprimée en nmol d'AChE / minute / mg de protéine (moyenne \pm E.M., n = 6 par groupe). Test t : * p < 0,05, ** p < 0,01 par rapport au groupe témoin.

7/ Effets du Cd sur la concentration des minéraux au niveau du cerveau des rats adultes

Les concentrations de Cd, Fe, Ca, Cu, et Zn dans le tissu cérébral ont été déterminées par ICP-AES, et les résultats sont illustrés dans la figure 60.

L'évaluation des concentrations de cadmium (Cd) a révélé la présence d'un niveau élevé de Cd dans de nombreuses structures cérébrales des animaux traités comparés aux témoins, cette augmentation n'est significative qu'au niveau de l'hypothalamus ($t = -2,864$, $p = 0,029$). L'ingestion de CdCl_2 via l'eau potable a entraîné une élévation significative de calcium (Ca) dans le cervelet ($t = -3,424$, $p = 0,014$), de Zinc (Zn) dans le bulbe olfactif ($t = -5,806$, $p = 0,002$) et dans l'hippocampe ($t = 4,131$, $p = 0,009$). Une diminution a également été observée pour les concentrations de fer et de cuivre chez les rats traités, mais cette diminution n'était pas statistiquement significative.

Pour le fer et le cuivre, nous avons noté également une diminution dans plusieurs structures cérébrales, mais cette diminution n'est pas statistiquement significative (figure 60).



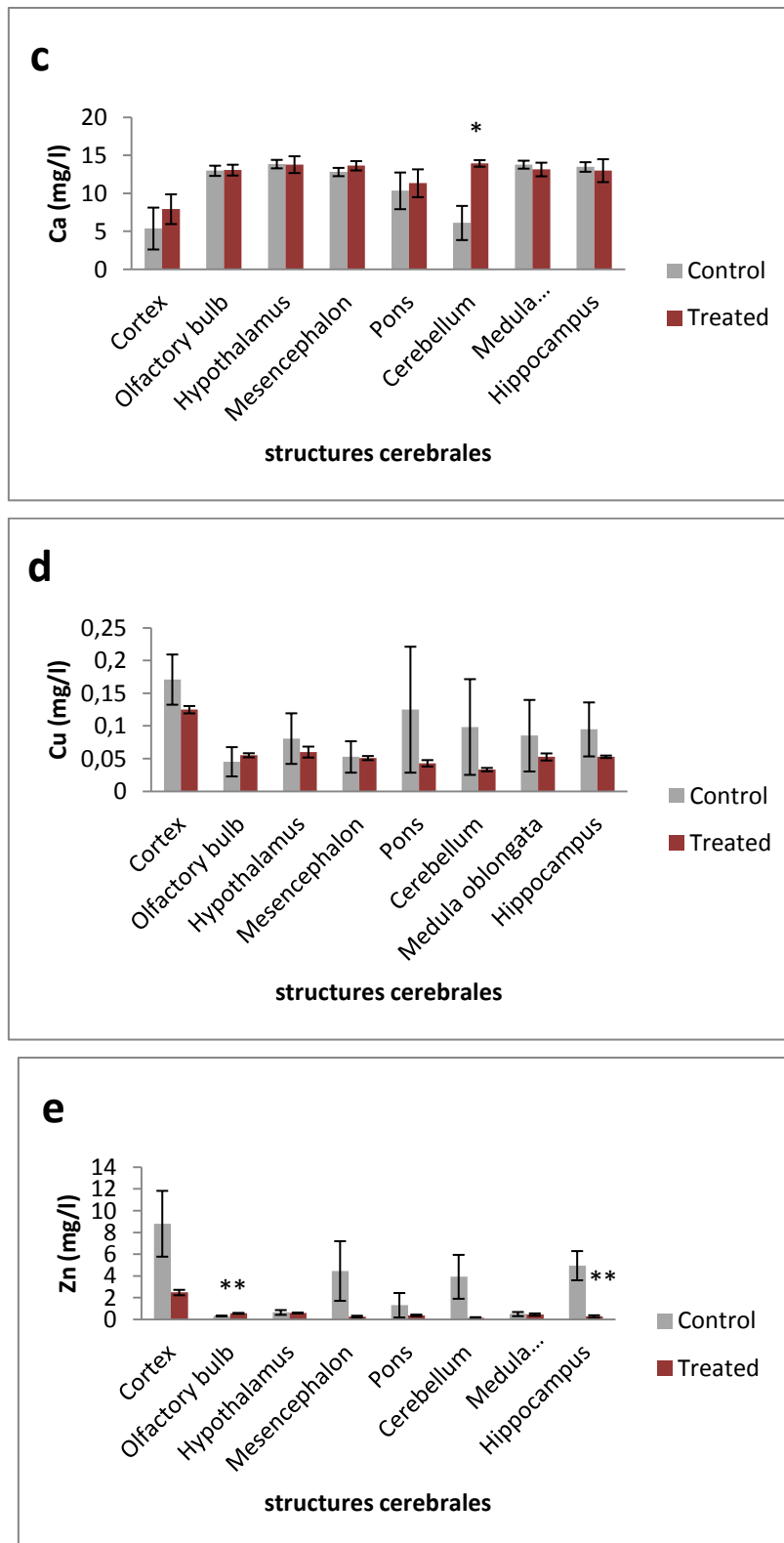


Figure 60 : Effets de cadmium sur les niveaux cérébraux de (a) Cd, (b) Fe, (c) Ca, (d) Cu et (e) Zn. Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM, $n = 4$ par groupe ;(Test t de Student) : * $p < 0,05$.

8/ Effet de Cd sur la prise alimentaire

Le but de cette partie est d'évaluer l'effet de l'exposition au Cd sur l'équilibre énergétique et le poids à long terme, ceci est évalué par le gain du poids corporel en relation avec la quantité de nourriture consommé.

a. Effet de Cd sur le poids corporel

Au cours de la première semaine nous n'avons noté aucun effet de Cd sur le poids corporel des rats traités par rapport aux témoins, une diminution significative du poids corporel est observée au cours de la deuxième semaine chez les rats traités au Cd par rapport à ceux non exposés ($t = 3,836$, $p = 0,002$), cette significativité est évolutive au cours de la troisième semaine ($t = 9,252$, $p \leq 0,001$).

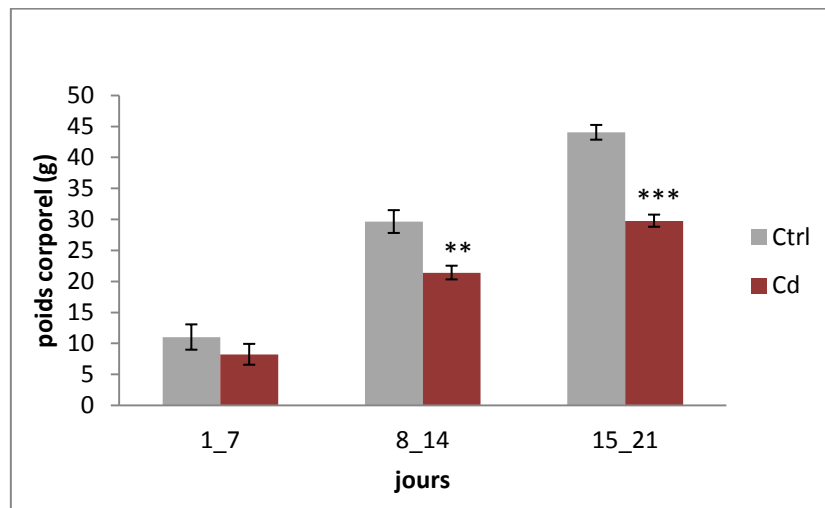


Figure 61 : Effets de l'administration de cadmium sur le poids corporel pendant la prise alimentaire. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. durant les 21 jours de l'expérience.

b. Effet du Cd sur la consommation d'eau

Les rats reçoivent deux biberons, un biberon d'eau normal pour les contrôles et d'eau avec Cd pour les rats traités, un deuxième biberon d'eau sucré pour les deux groupes.

Durant cette expérience, on a pu noter que la consommation d'eau n'a pas été affectée chez les rats traités par le Cd, soit pour l'eau normale ou pour l'eau sucrée en comparaison avec le groupe contrôle.

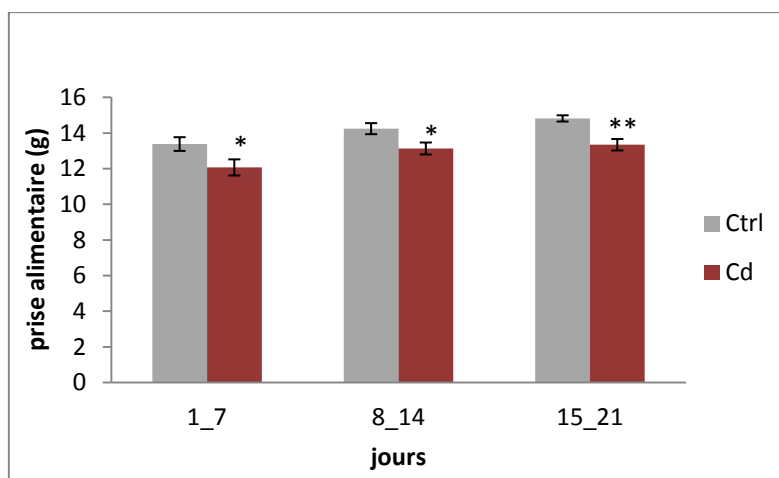
Tableau 9 : Effets de l'administration de cadmium sur la consommation d'eau.

	Ctrl	Cd
Consommation d'eau :		
Eau fraîche	2,504 ± 0,687	1,522 ± 0,459
Eau sucré	0,89 ± 0,0311	0,905 ± 0,0404

Les valeurs sont des moyennes ± S.E.M. des mesures durant 21 jours.

c. Effet de Cd sur la prise alimentaire

La prise de nourriture diminue chez le groupe traité par le Cd dès la première semaine de la prise alimentaire de manière significative ($t = 2,210$, $p = 0,047$), cette diminution continue au cours de la deuxième semaine ($t = 2,431$, $p = 0,032$), et la troisième semaine chez les rats exposés au Cd par rapport à ceux non exposés ($t = 4,206$, $p = 0,001$).



*Figure 62 : Effets de l'administration de cadmium sur la prise alimentaire durant les 21 jours de l'expérience. Les valeurs sont des moyennes ± S.E.M. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$.*

RASULTATS DE LA DEUXIEME PARTIE (Mélange des 3 métaux : Cd+Al+Pb)

Introduction

L'exposition au plomb (Pb), au cadmium (Cd) et à l'aluminium (Al) est particulièrement dangereuse pour le système nerveux central dans le long terme. L'exposition aux faibles doses commence chez les mammifères en particulier au début du développement dans la vie fœtale, parce que les trois métaux traversent le placenta, même si le transport trans-placentaire du cadmium est limité.

Le but de ce travail est l'étude des effets de l'exposition combinée au plomb, cadmium et à l'aluminium chez le rat pendant la gestation et la lactation, période critique du développement du système nerveux central. Notre travail s'est focalisé aussi sur l'étude neurochimique du cerveau au cours du développement et à l'âge adulte.

1/ Effets de l'administration des 3 métaux sur le comportement maternel

Dans cette partie nous allons présenter les résultats du comportement maternel dans le but de savoir si l'exposition de la mère au mélange des métaux (Pb, Cd, Al), pendant la gestation peut avoir des effets sur la qualité des soins maternels prodigués par la mère ainsi que la capacité de la mère exposée à ce mélange à manifester un comportement maternel envers le nouveau-né.

a. Effets de l'administration du Cd sur les activités non maternelles

Dans cette première expérience concernant le comportement maternel, dans la plupart des activités il n'y avait pas de différence significative entre le groupe traité au mélange des métaux et le groupe témoin à part l'auto-toiletage : les rats traités au Pb, Cd, et Al ont un score significativement élevé par rapport au groupe témoin.

Tableau 10 : *Effets de l'administration du mélange de métaux (cd, pb, al) sur les activités non maternelles des rates.*

	Contrôle	Traité (MM)
Activités non maternelles		
Mères au repos avec yeux fermés	0,208 ± 0,0558	0,18 ± 0,0408
La mère mange	0,409 ± 0,0862	0,595 ± 0,0654
La mère Boit	0,43 ± 0,0856	0,645 ± 0,079
Autotoilettage	0,871 ± 0,0684	1,473 ± 0,0869 ***
la mère renifle avec la tête levée	0,792 ± 0,163	0,841 ± 0,178
La mère se redresse	0,785 ± 0,151	0,527 ± 0,067

Les résultats sont les moyennes des valeurs du 1^{er} au 22^{ème} jour du test (moyenne ± S.E.M.) ;

****p<0,001 par rapport au contrôle.*

b. Effets de l'administration de Cd sur les activités maternelles

En ce qui concerne les activités maternelles, il n'y avait pas de différence significative entre le groupe traité aux métaux et le groupe témoin, les rats traités aux métaux ont passé plus de temps en contact avec les ratons mais moins de temps dans le nid que le groupe témoin, mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives. Les autres résultats ont également montré que les rats traités à la mixture des métaux passaient moins de temps à manipuler le nid et à porter les ratons que les témoins, mais ces différences restent statistiquement non significatives. Par contre, les rats traités ont un score significativement élevé en ce qui concerne l'auto-toilettage par rapport au groupe témoin.

Tableau 11 : *Effets de l'administration du mélange de métaux sur les activités maternelles*

	Contrôle	Traité (MM)
Activités maternelles		
Mère dans/ hors du nid	0,614 ± 0,0386	0,529 ± 0,0642
En contact avec les ratons	0,258 ± 0,0406	0,382 ± 0,0487
toilettage des ratons	0,811 ± 0,128	1,212 ± 0,101 *
la mère portant des ratons	0,212 ± 0,0383	0,144 ± 0,0275
Manipulant le nid	0,321 ± 0,0645	0,22 ± 0,053

Les résultats sont les moyennes des valeurs du 1^{er} au 22^{ème} jour du test (moyenne ± S.E.M.) ;

**p<0,05, par rapport aux contrôles.*

c. Effets de l'administration du mélange des métaux sur l'allaitement actif et l'allaitement passif.

Dans cette expérience, il n'y avait pas de différence significative entre le groupe traité au mélange et le groupe témoin, les rats traités au mélange des métaux passaient presque le même temps en allaitement actif que les témoins, alors que le nombre d'allaitements passifs augmentait significativement dans le groupe traité aux métaux ($t = -3,255$, $p = 0,002$) en comparaison avec le groupe témoin.

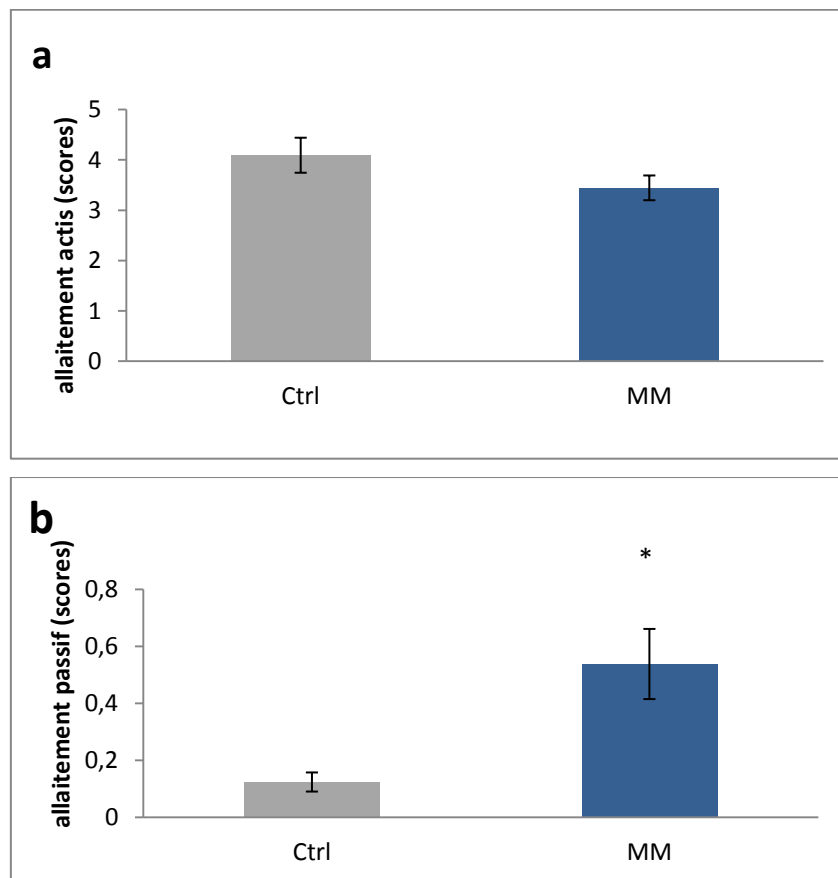


Figure 63 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur le score d'allaitement dans le test d'observation. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes pour l'ensemble des 22 jours postnataux (moyennes \pm S.E.M). (A) Allaitement actif, (B) Allaitement passif.

d. Effets de l'administration du mélange des métaux sur les latences dans le test de récupération

Dans cette seconde expérience, les rats traités aux métaux ont montré des latences plus élevées pour porter le premier raton, et pour ramener le premier raton dans le nid, par rapport aux rats femelles témoins, mais ces différences sont statistiquement non significatives.

Une différence significative à été observée concernant la dernière partie de cette expérience, les rats traités passaient plus de temps pour ramener tous les ratons dans le nid ($t = -2,313$, $p = 0,043$).

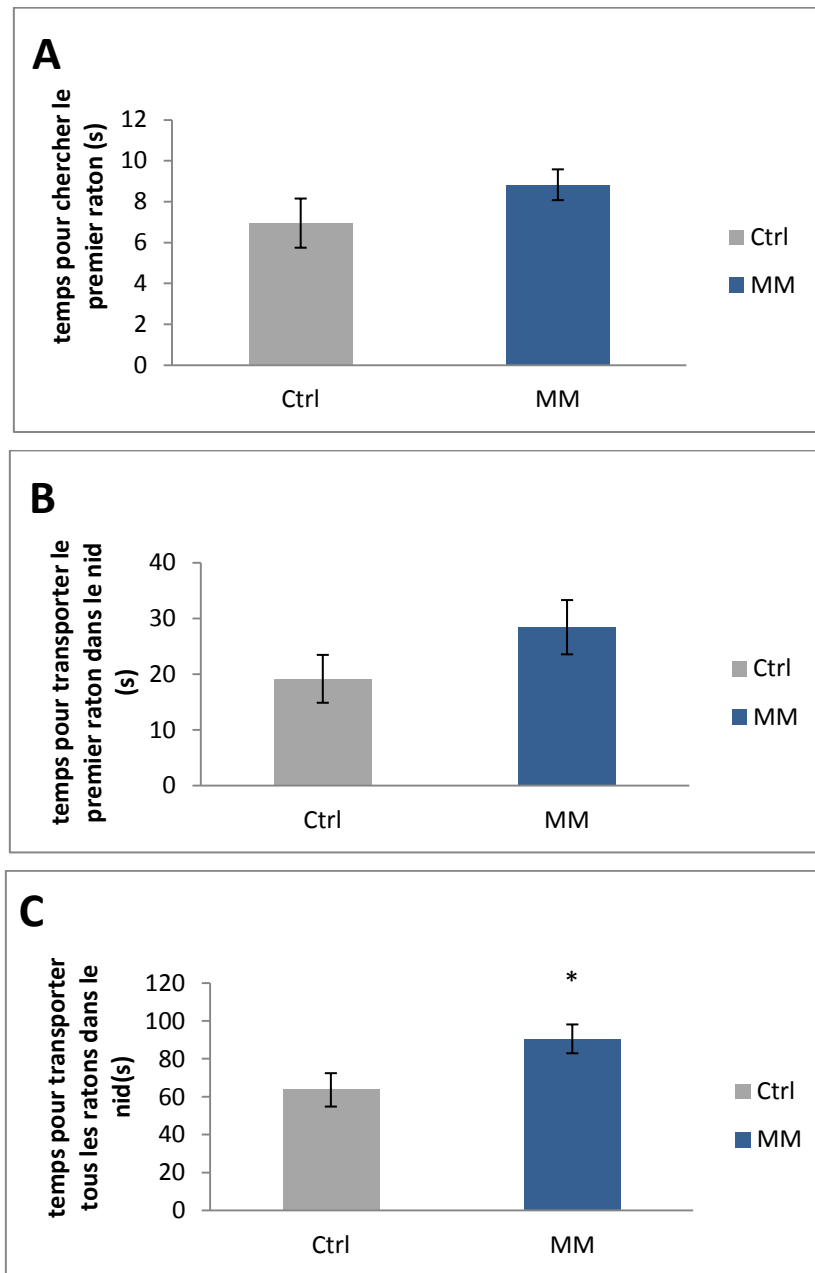


Figure 64 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur les latences du test de récupération. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E. Maux 12 jours post-nataux. (A) Latence pour transporter le premier raton. (B) Latence pour ramener le premier raton dans le nid. (C) Latence pour ramener tous les ratons dans le nid. * $p < 0,05$ vs contrôle.

e. Effets de l'administration du mélange des métaux sur le gain du poids corporel pendant la période de gestation

Les rats femelles traitées au mélange ont un poids corporel significatif au cours de la gestation ($t = -2,378$, $p = 0,022$), par rapport au groupe témoin.

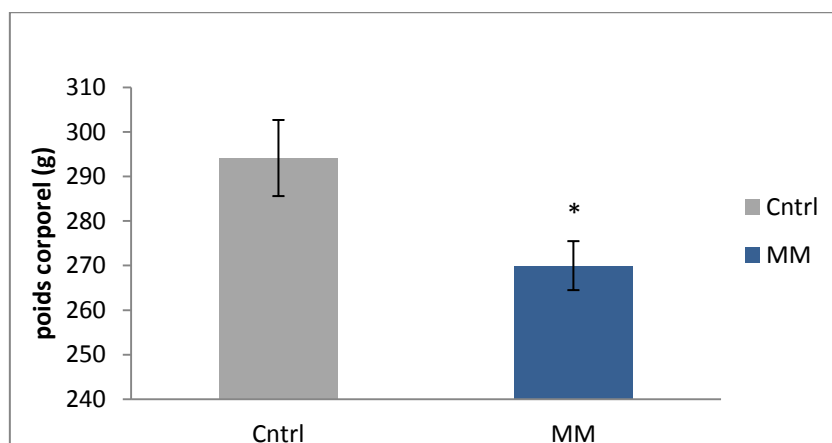


Figure 65 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur la prise de poids pendant la période de gestation. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. durant les 21 jours avant la mise bas. * $p < 0,05$ vs contrôle.

f. Effets de l'administration du mélange des métaux sur la consommation d'eau pendant la période de gestation

Il y avait une différence significative entre le groupe traité concernant la consommation d'eau pendant la période de gestation en comparaison avec le groupe témoin ; la consommation d'eau des mères traitées est significativement inférieure par rapport aux témoins ($t = 2,387$, $p = 0,022$).

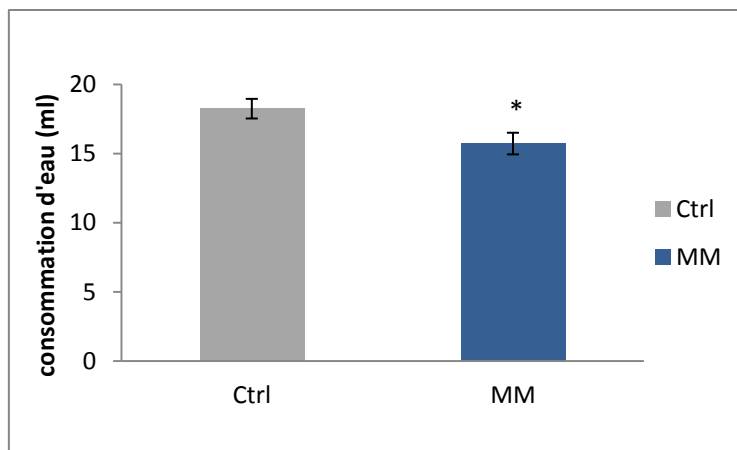


Figure 66 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur la consommation d'eau pendant la période de gestation. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M dans 21 jours avant la mise bas.

g. Effets de l'administration du mélange des métaux sur la mortalité des ratons

Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes sur la mortalité des ratons du 1^{er} au 15^{ème} jour postnatal. Concernant le pourcentage des males par portée, il y avait une augmentation de ce pourcentage chez les traités par rapport aux témoins, mais l'analyse statistique n'était pas significative.

Tableau 12 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur la mortalité des ratons.

	Contrôle		Mélange des métaux (MM)	
	Moyenne des ratons	Nombre totale	Moyenne des ratons	Nombre totale
Nombre des ratons				
<i>Ratons survies au PNO</i>	8,214 \pm 0,494	115	9,1 \pm 1,069	91
<i>Ratons survies au PN5</i>	7,643 \pm 0,401	107	8,7 \pm 1,184	87
<i>Ratons survies au PN15</i>	7,5 \pm 0,429	105	7,4 \pm 1,447	74
Ratons males				
<i>Nombre des males</i>	3,444 \pm 0,556		3,556 \pm 0,709	
<i>Raton/portée</i>	(37,804%)		(41,56%)	

Les valeurs sont des moyennes (moyenne \pm SEM) ; par rapport au contrôle.

2/ Effets du mélange des métaux sur les paramètres morphologiques

a. Les paramètres physiques

Le groupe traité présente un retard significatif quand à l'apparition des poils ($t = -2,604$, $p = 0,010$), l'explosion des incisives inférieures ($t = -2,387$, $p = 0,018$), ainsi que l'apparition du sexe ($t = -2,516$, $p = 0,013$).

Par contre, pour les autres paramètres : détachement des oreilles, ouverture des yeux, et l'explosion des incisives supérieures, il n'y avait pas des différences significatives entre les deux groupes.

Tableau 13 : Effets du mélange des métaux sur la maturation physique de la progéniture de rats exposés pendant la gestation et après la naissance.

Parametres	moyenne (contrôle)	SEM	Moyenne (MM)	SEM
Détachement des oreilles (jours)	4,439	0,149	4,12	0,0463
Apparition des poils (jours)	6,265	0,104	6,64 *	0,0923
Eruption des incisifs inferieurs (jours)	10,52	0,125	10,955 *	0,121
Eruption des incisifs superieurs (jours)	10,561	0,14	10,833	0,162
Ouverture des yeux (jours)	16,214	0,111	16,5	0,153
Apparition du sexe (jours)	11,357	0,106	11,894 *	0,207

*Les résultats sont présentés en moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ vs contrôle.*

L'analyse de l'évolution du poids corporel chez les rats des deux groupes (traités au mélange des métaux pendant la gestation et après la naissance) a mis en évidence un effet du traitement sur cette évolution (figure 67). En effet, aux deux âges postnatals, PN12 ($t = 2,828$, $p = 0,005$), et PN15 ($t = 2,181$, $p = 0,031$), le poids diminue de manière significative par rapport aux contrôles. Pour PN5, PN17 et PN21, l'effet n'était pas significatif.

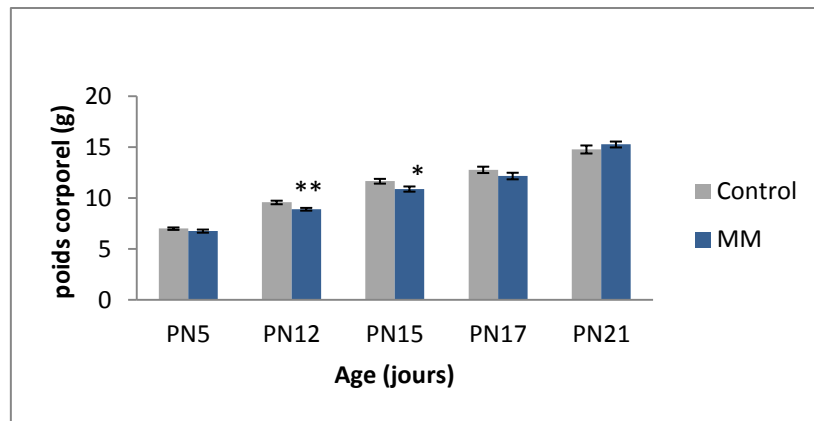


Figure 67 : Développement du poids corporel chez la progéniture des rats exposés au mélange des métaux pendant la gestation et la lactation. Les résultats sont présentés sous la forme moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ par rapport au témoin (test t).

b. Longueur du corps et longueur de la queue.

Les rats exposés au mélange de métaux possèdent une longueur du corps inférieure par rapport aux témoins au PN5 ($t = 2,114$, $p = 0,036$) ;et au PN15 ($t = 2,369$, $p = 0,019$). Cependant les rats traités présentent une longueur du corps au PN12, PN17 et PN21 qui se rapproche à celle des contrôles.

Concernant la longueur de la queue, la différence est nettement significative chez le groupe traité au mélange (cd, pb, al), qui présente une longueur de la queue inférieure au PN15 ($t = 3,220$, $p = 0,002$), PN17 ($t = 5,162$, $p \leq 0,001$) et PN21 ($t = 3,211$, $p = 0,002$), par rapport aux contrôles.

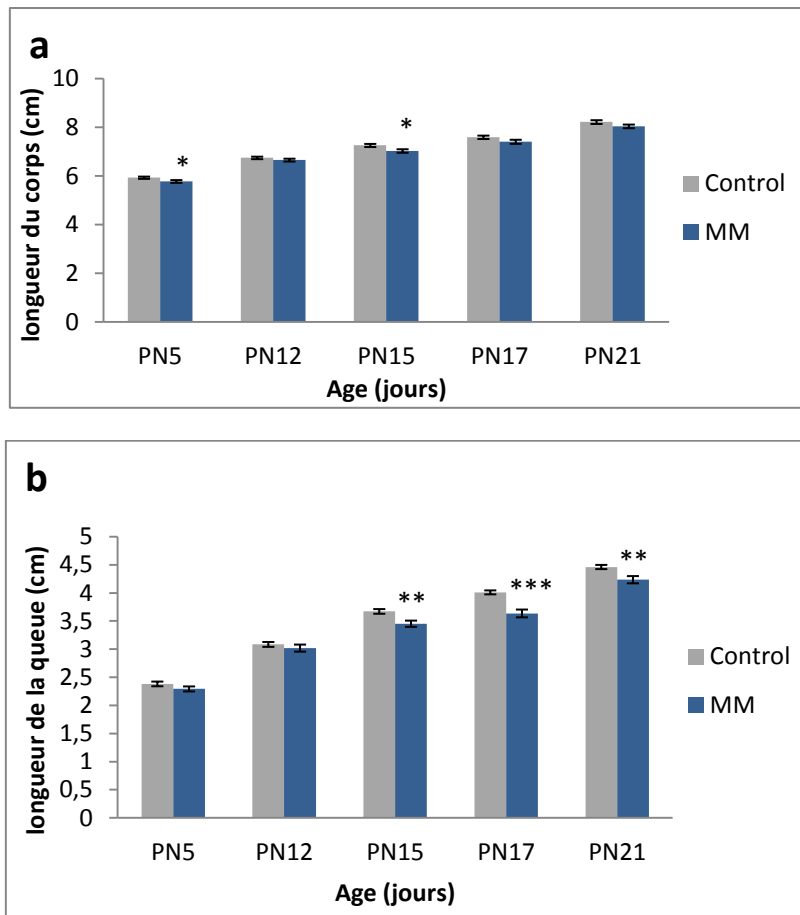


Figure 68 : Développement de la longueur du corps (**a**) et la longueur de la queue (**b**), chez la progéniture des rats exposés au mélange des métaux pendant la gestation et la lactation.

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne \pm SEM. ** $p < 0,01$ *** $p < 0.001$ vs contrôle (test t).

3/ Effets du mélange des métaux sur le comportement des rats au cours du développement (pré-sevrage)

a. Test de retournement (Surface righting reflexe)

Ce test est considéré comme un réflexe de la maturation corticale. À l'âge de 5 jours, les rats traités par le mélange des métaux passent plus de temps pour réussir le test de surface righting reflexe par rapport aux témoins, cette différence entre les deux groupes est très significative ($t = -2,751$, $p = 0,007$). Pour les autres jours du test (PN7 et PN13), les rats traités ont une tendance vers la normalisation et ne montrent pas de différence significative par rapport aux témoins.

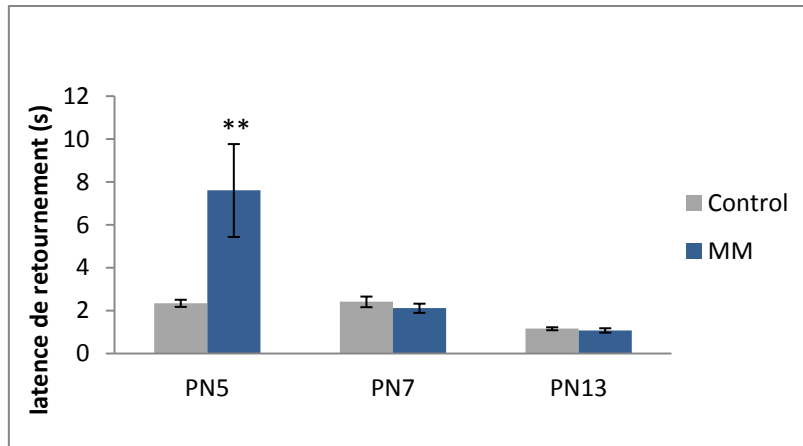


Figure 69 : Effets de l'exposition au mélange des métaux pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de retournement chez les rats au PN5, PN7 et PN13 respectivement. Les résultats sont présentés en moyennes \pm S.E.M. ** $p < 0,01$ par rapport au contrôle (test t).

b. Negative geotaxis

Les rats traités par le mélange des métaux passent plus de temps pour retourner leurs corps à 180° et réussir le test. Ce retard n'est pas significatif ($t = 1,306$, $p = 0,193$) au PN7, par contre il devient significatif au PN 9 ($t = 2,254$, $p = 0,026$), PN13 ($t = 2,004$, $p = 0,047$), et même très significatif au PN17 ($t = -3,587$, $p \leq 0,001$).

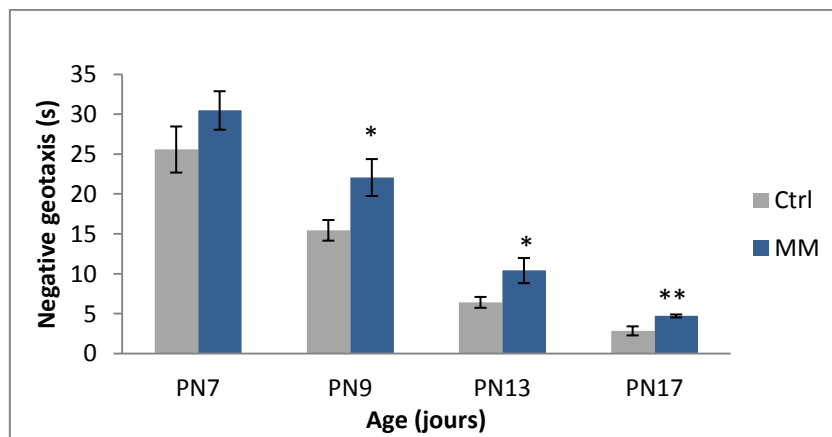


Figure 70 : Effets du traitement au mélange des métaux pendant toute la période de gestation et de lactation sur les latences du test de la géotaxie négative des rats au PN7, PN9, PN13 et PN17 respectivement. Les résultats sont présentés en moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ *** $p < 0,001$ par rapport au contrôle (test t).

c. Test d'évitement de la falaise « Cliff avoidance »

La comparaison entre le temps passé par les rats traités et les rats témoins pendant le test du Cliff avoidance au PN6, ne montre pas de différence significative.

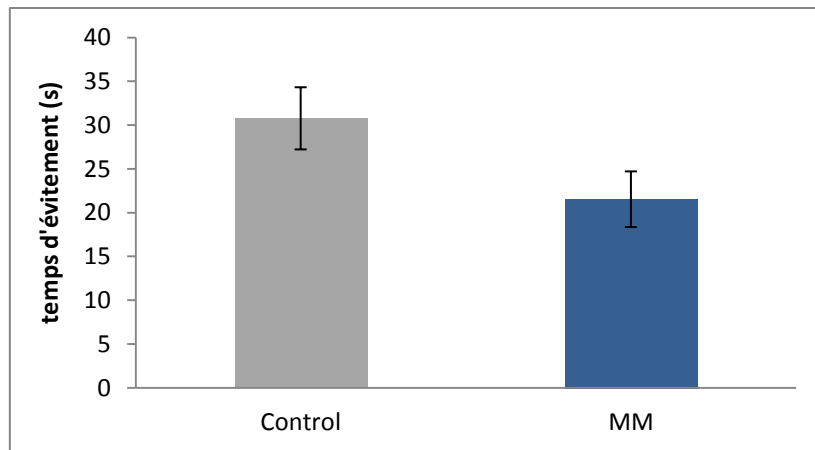


Figure 71 : Effets du traitement au mélange des métaux pendant la période de gestation et de lactation sur les latences du test d'évitement de la falaise chez des rats au PN6. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm S.E.M (test t).

d. Test de Saut vers le bas « Jumping down with choice »

Ce test reflète le développement de l'orientation, la coordination et les fonctions sensori-motrices.

Au cours de ce test, le groupe traité par le mélange des métaux passe plus de temps pour tomber du dispositif par rapport au témoin, cette différence est respectivement significative au PN15 ($t = 2,052$, $p = 0,042$) et au PN17 ($t = 3,060$, $p = 0,003$).

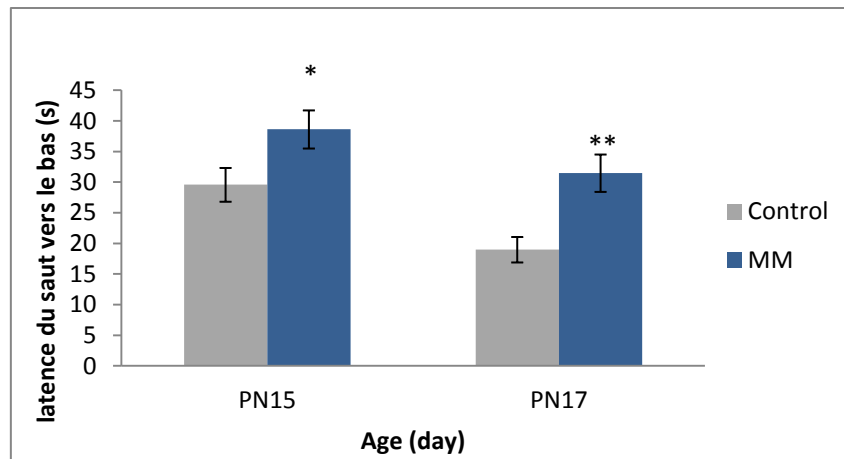


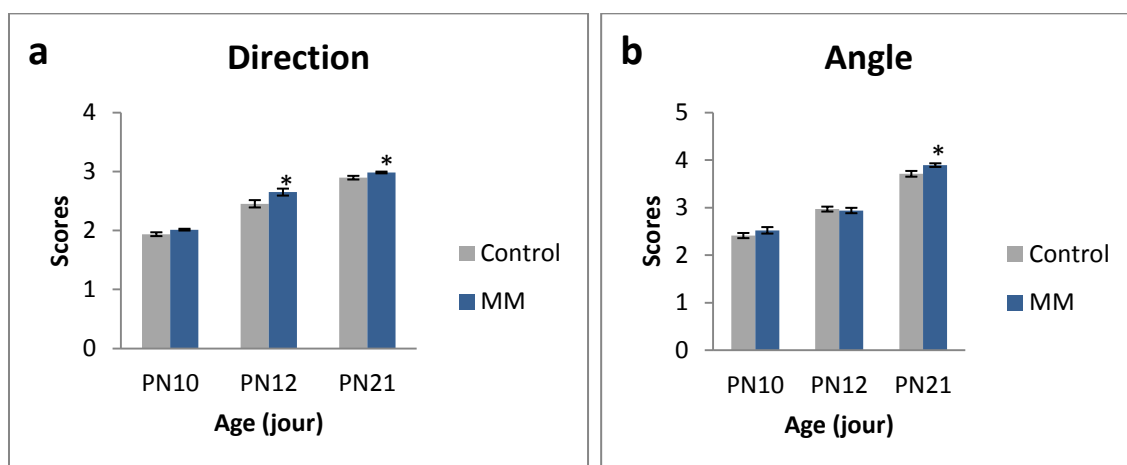
Figure 72 : Effets du traitement au mélange des métaux pendant la période de gestation et de lactation sur la durée du test de Saut vers le bas chez des rats au PN15 et PN16 respectivement. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au témoin (test t).

e. Test du développement de la nage « Swimming development »

En ce qui concerne la direction de la nage, le groupe traité a montré un score supérieur à celui du groupe témoin au PN12 ($t = -2,203$, $p = 0,029$), et au PN21 ($t = -2,239$, $p = 0,027$).

Pour l'angle de la nage dans l'eau, le groupe traité a obtenu un score significativement supérieur au groupe témoin à l'âge de 21 jours ($t = -2,291$, $p = 0,023$), au PN12 et PN10, les scores des rats traités tendent vers ceux des témoins.

Cependant, un effet significatif a été observé chez le groupe traité par le mélange des métaux au PN 21 ($t = -2,197$, $p = 0,029$) pour l'utilisation des membres.



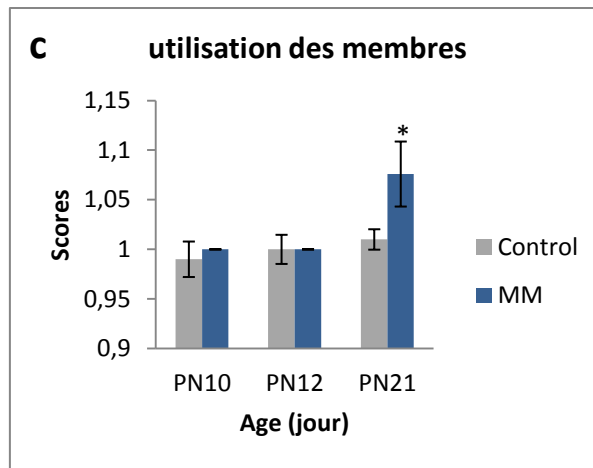


Figure 73 : Développement de la nage chez les ratons avant sevrage des mères exposées au mélange des métaux. Les résultats sont présentés en moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ par rapport aux témoins. A : Direction dans l'eau, B : Angle dans l'eau (position de la tête), C : membres utilisées dans l'eau. Les résultats sont présentés en moyenne \pm S.E.M.

4/ Effets du mélange des métaux sur le comportement des ratons après sevrage

a. Le labyrinthe en Y

Dans ce test, nous avons mesuré l'effet de l'exposition au mélange des métaux au cours de la gestation et de la lactation des ratons juste après le sevrage, sur l'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y. Nos résultats ont montré que le pourcentage d'alternance ($t = 2,600, p = 0,018$) dans les trois bras du groupe traité par le mélange des métaux était significativement inférieur au contrôle (figure 74).

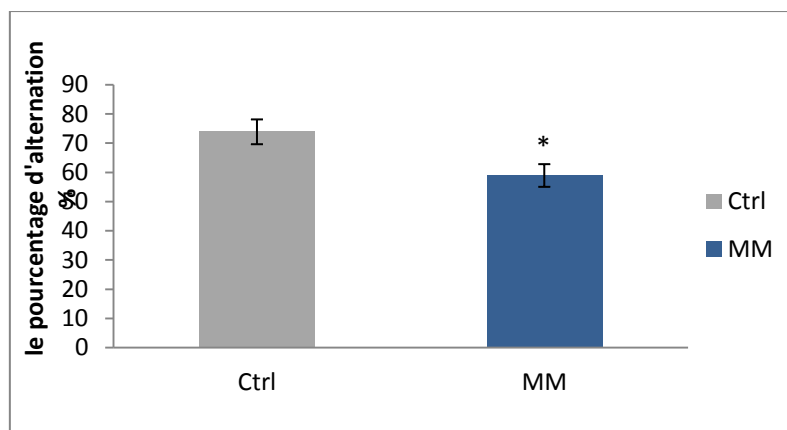


Figure 74 : Effet du mélange des métaux sur les performances en alternance de la progéniture des rats exposés pendant la gestation et la lactation dans le labyrinthe en Y (% d'alternance). Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ par rapport aux témoins. (10 animaux / groupe).

b. La reconnaissance des objets

Dans ce test, nous avons évalué les effets du mélange des 3 métaux sur la reconnaissance des objets chez les rats traités et leurs témoins. Les résultats obtenus lors de ce test ont montré que les rats traités aux métaux présentaient un indice de reconnaissance d'objet significativement inférieur par rapport au groupe témoin ($t = 2,704$, $p = 0,015$) (figure 75).

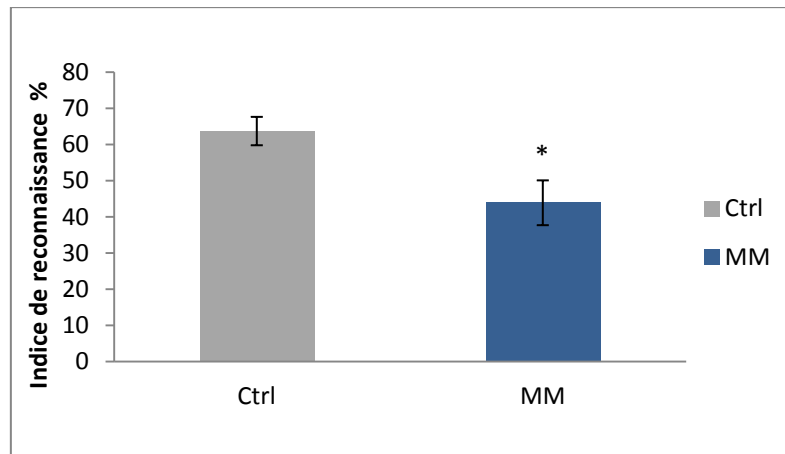


Figure 75 : Effet du mélange des métaux sur l'indice de reconnaissance chez les rats traités au mélange des métaux et leurs témoins. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M* $p < 0,05$.

c. Le labyrinthe en croix surélevé (EPM)

L'analyse des données des sessions du test de l'EPM a montré un effet significatif du mélange des métaux sur l'indice d'anxiété du groupe traité par rapport au groupe témoin ($t = -2,701$, $p = 0,015$), et un pourcentage réduit du temps passé dans les bras ouverts ($t = 2,571$, $p = 0,019$).

Nous avons également observé une réduction du pourcentage d'entrées dans les bras ouverts après l'exposition au mélange de métaux dans ce test comportemental, mais ce n'était pas significatif.

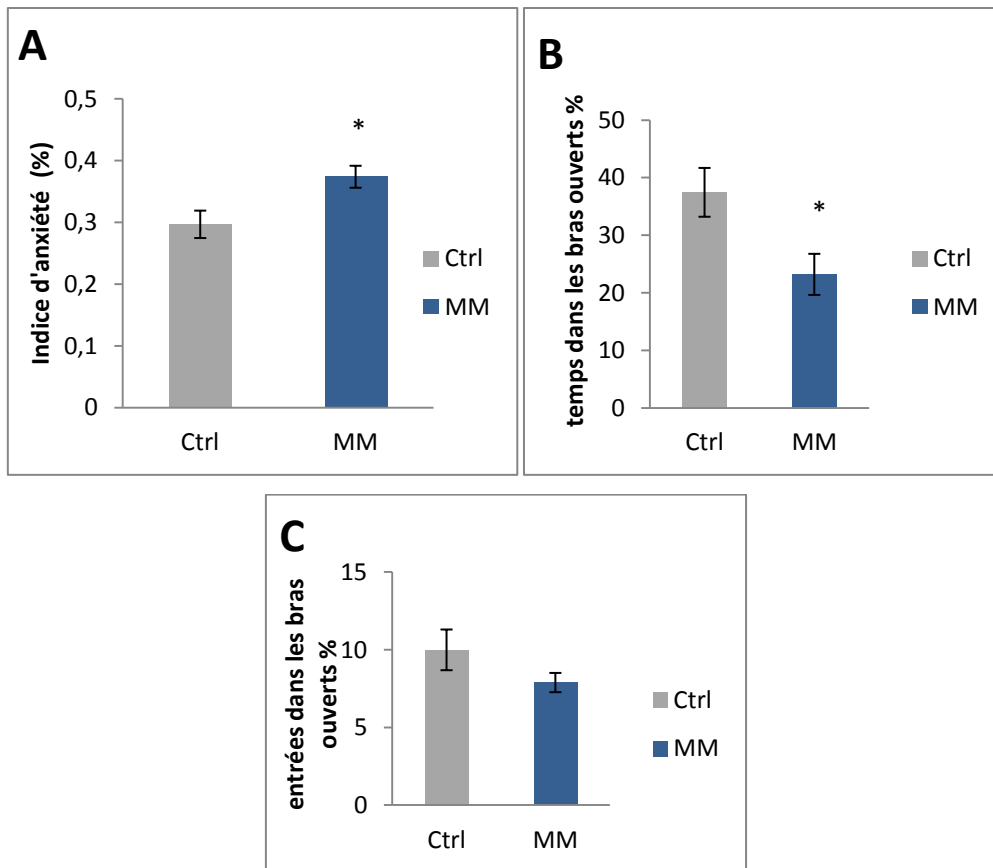


Figure 76 : Comportement lié à l'anxiété de la progéniture des rats ayant reçu un mélange des métaux pendant la période de gestation et de lactation par le test d'EPM. (A) Indice d'anxiété. (B) Pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. (C) Pourcentage d'entrées dans les bras ouverts. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. * $p < 0,05$ par rapport aux témoins (10 animaux / groupe).

d. Le champ ouvert (Open field)

Ce test a pour but d'évaluer l'activité locomotrice. Les données d'analyse des sessions de ce test ont révélé un effet de l'exposition du mélange des 3 métaux. Le nombre de carreaux périphériques traversés par les rats était significativement inférieur chez les animaux traités comparés aux témoins ($t = 2,305$, $p = 0,033$). Le nombre de carreaux centraux traversés était faible chez les animaux traités par rapport aux témoins mais statistiquement non significatif.

Le pourcentage des carreaux centraux traversés par les rats traités et les rats témoins n'était pas significatif entre les deux groupes.

L'analyse statistique du test-t a révélé qu'il y a une différence significative concernant le temps passé à la périphérie et au centre, pour le groupe des rats traités par le mélange des 3

métaux, ces derniers passent moins du temps au centre ($t = 2,989$, $p = 0,008$), et plus de temps à la périphérie ($t = -2,989$, $p = 0,008$), par rapport au groupe témoin.

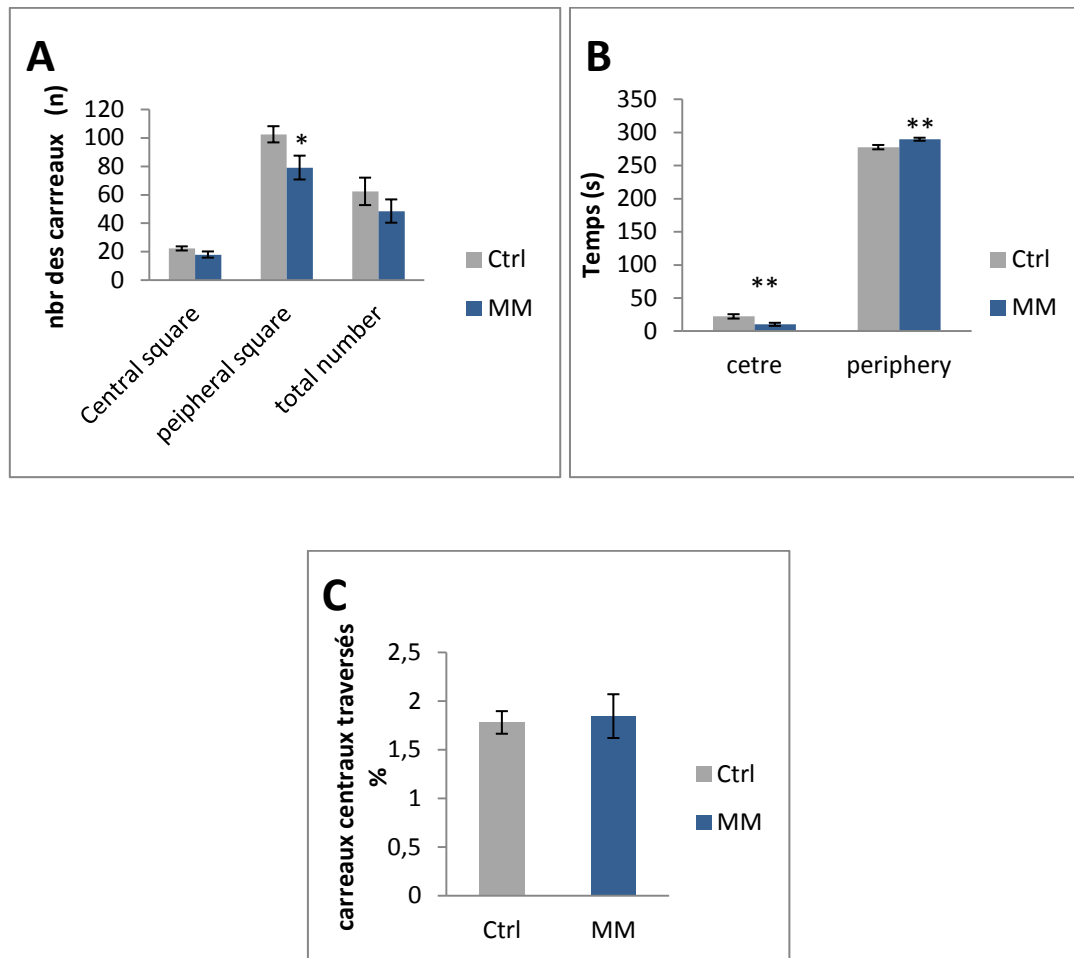


Figure 77 : Comportement en champ ouvert (Open field), pendant les 5 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. (A) Nombre des carreaux. (B) Temps passé au centre et à la périphérie. (C) Pourcentage de nombre des carreaux centraux traversés. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, par rapport au groupe témoin.

e. L'enfouissement des billes (Marble burring)

Ce test a pour but d'évaluer l'anxiété chez les rats, car ce test est utilisé dans la corrélation entre l'enterrement du marbre et la réponse concernant d'autres troubles liés à l'anxiété.

Les résultats du test d'enfouissement des billes montrent une différence concernant le temps d'enterrement passé au cours des 10 premières minutes du test, en effet les rats traités par le

mélange des métaux passent plus de temps à enterrer les billes dans la litière par rapport aux témoins, mais cette différence est statistiquement non significative. Le nombre de billes enfouies par le groupe traité est significativement élevé par rapport au groupe témoin ($t = -4,382, p \leq 0,001$).

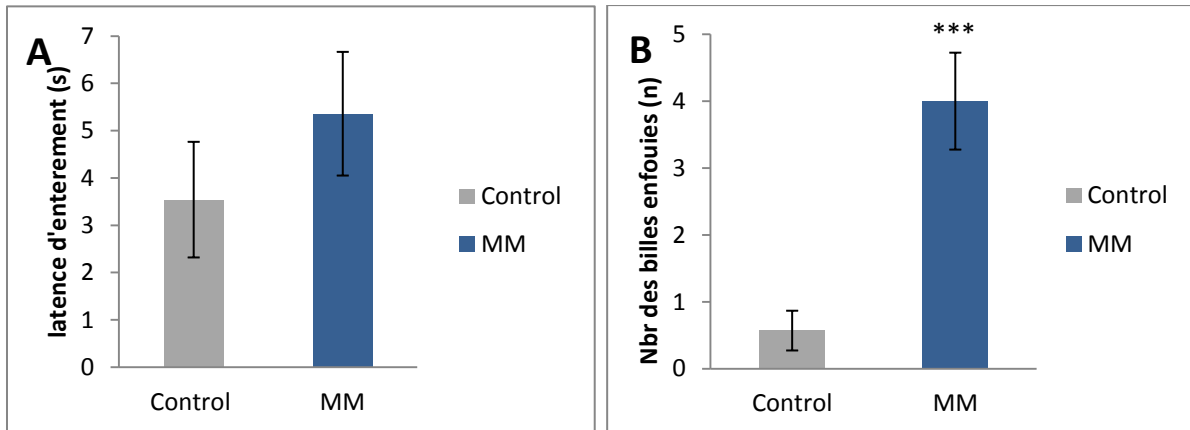


Figure 78 : Comportement d'enfouissement des billes, pendant les 20 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. (A) Temps de latence d'enfouissement des billes. (B) Nombre de billes enfouies. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). * $p < 0,05$, par rapport au groupe témoin.

5/ Effets du mélange des métaux sur le comportement des rats adultes

a. Le labyrinthe en Y

Dans ce test, nous avons mesuré l'effet de l'exposition au mélange des 3 métaux au cours de la gestation, de la lactation et jusqu'au stade adulte sur l'alternance spontanée des rats adultes dans le labyrinthe en Y. Nos résultats ont montré que le pourcentage d'alternance ($t = 1,465, p = 0,160$) du groupe traité dans les trois bras était inférieur par rapport au groupe contrôle, cette différence est statistiquement non significative.

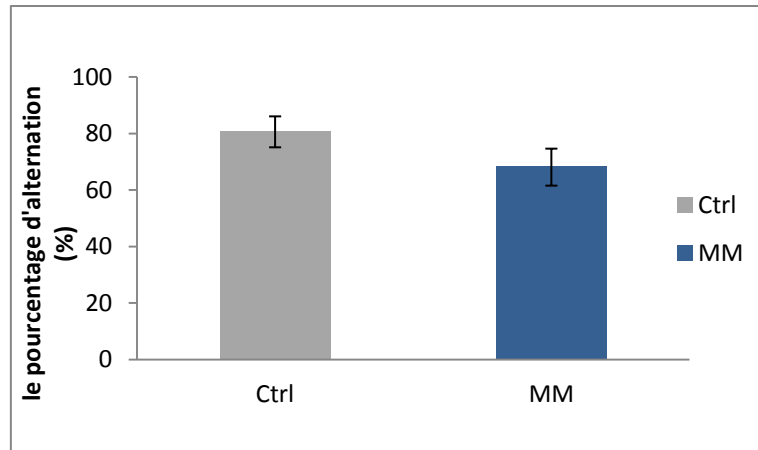


Figure 79 : Effets du mélange des métaux sur les performances en alternance des rats adultes exposés pendant la gestation, la lactation et jusqu'au stade adulte dans le labyrinthe en Y (% d'alternance). Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe).

b. La reconnaissance des objets

Le but de ce test, consiste à évaluer la mémoire du travail non spatial par l'exploration de la nouveauté des objets.

Dans ce test, nous avons évalué les effets du mélange des 3 métaux sur la mémoire des rats traités et de leurs témoins. Les résultats obtenus lors de ce test ont montré que les rats traités aux métaux présentaient un indice de reconnaissance d'objet inférieur de manière non significative par rapport au groupe témoin.

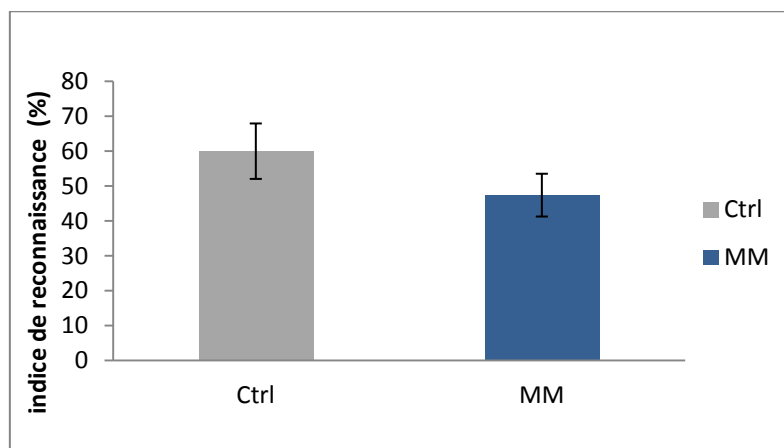


Figure 80 : Effet du mélange des métaux sur l'indice de reconnaissance chez les rats adultes traités et leurs témoins. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe), comparaison par rapport au contrôle.

c. Le labyrinthe en croix surélevé (EPM)

L'analyse des données des sessions du test d'EPM a montré un effet très significatif du mélange des métaux sur l'indice d'anxiété du groupe traité par rapport au groupe témoin ($0,382 \pm 0,0133$ vs $0,324 \pm 0,0054$, $t = -4,046$, $p = <0,001$). Le pourcentage du temps passé dans les bras ouverts est significativement réduit ($t = 3,910$, $p = 0,001$), par rapport à celui du groupe contrôle.

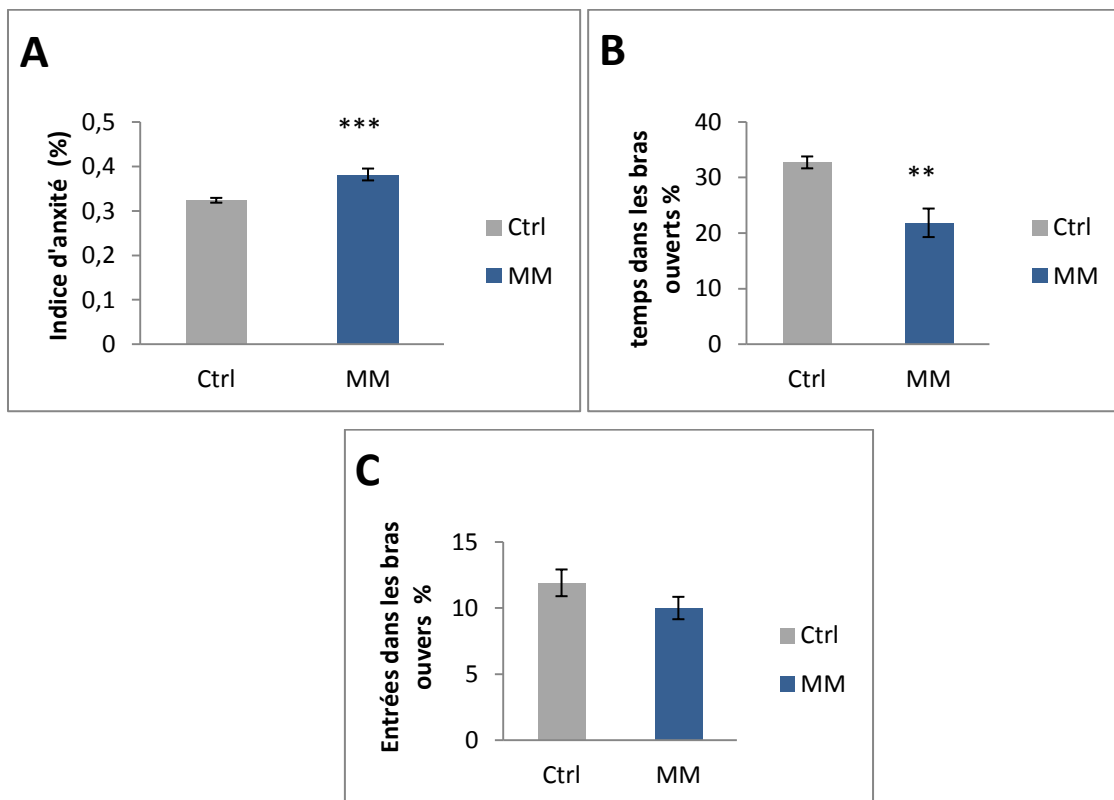


Figure 81 : Comportement lié à l'anxiété des rats adultes ayant reçu le mélange des 3 métaux pendant la période de gestation, de lactation et jusqu'à l'âge adulte par le test d'EPM. (A) Indice d'anxiété. (B) Pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. (C) Pourcentage d'entrées dans les bras ouverts. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

d. Le champ ouvert (Open field)

Les données d'analyse des sessions du champ ouvert ont révélé un effet de l'exposition au trois métaux étudiés sur le nombre de carreaux chez les animaux traités comparés aux témoins, le groupe traité a significativement traversé moins de carreaux centraux par rapport

au groupe témoin ($t = 2,545$, $p = 0,020$), et un grand nombre de carreaux périphériques par rapport au groupe témoins. L'analyse par le test-t de la moyenne des carreaux totaux traversés montre une grande significativité entre les deux groupes ($t = -6,441$, $p \leq 0,001$) (figure 82).

Le temps passé dans les carreaux centraux était significativement plus faible chez les animaux traités que chez les témoins ($t = 3,666$, $p = 0,002$), alors que le temps passé à la périphérie était significativement élevé chez les traités par rapport aux témoins, ($t = -3,666$, $p = 0,002$).

Entre le groupe de rats traités et celui de rats témoins, le pourcentage des carreaux centraux traversés est significativement faible pour le groupe traité par rapport au groupe témoin ($t = 2,697$, $p = 0,015$), (figure 82).

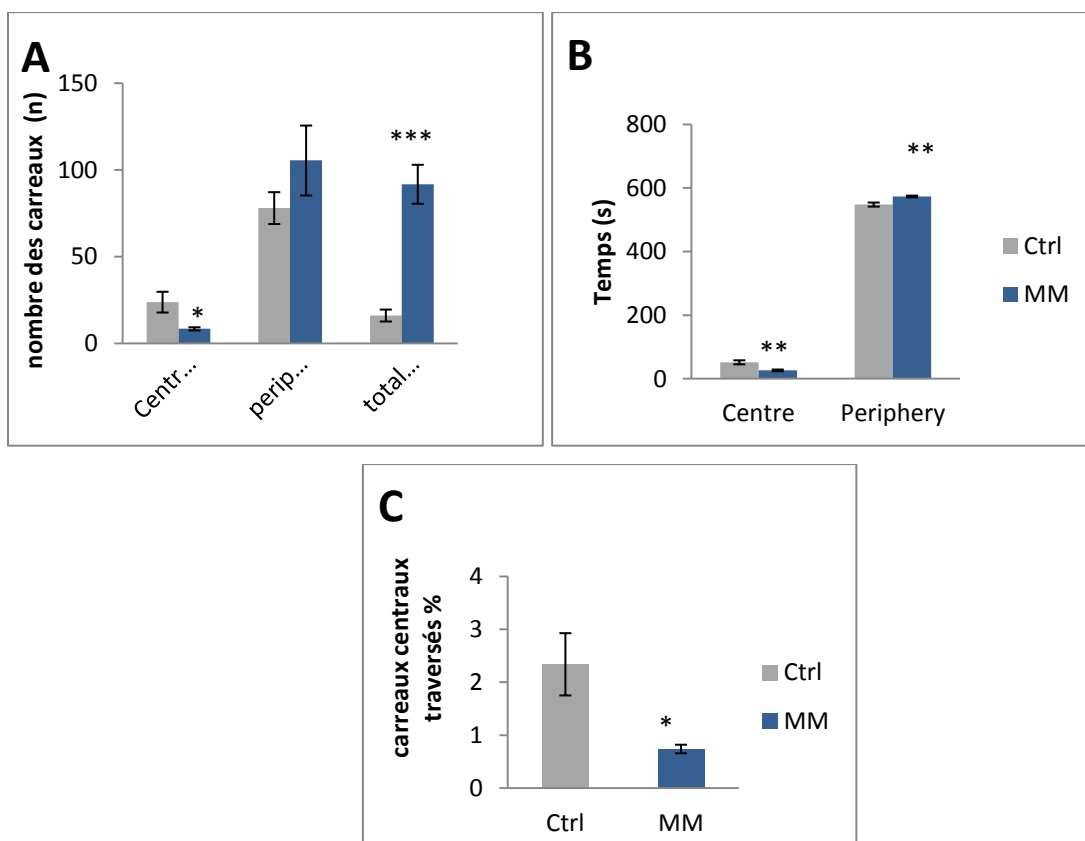


Figure 82 : Comportement en champ ouvert (Open field), pendant les 10 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. (A) Nombre des carreaux. (B) Temps passé au centre et à la périphérie. (C) Pourcentage du nombre des carreaux centraux traversés. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

e. L'enfouissement des billes « Marble burring »

Le temps d'enfouissement des billes dans la litière est le même pour les deux groupes « traité et contrôle » (figure 83), cependant le nombre des billes enterrées est significativement élevé pour le groupe traité au mélange des métaux ($t = -2,763$, $p = 0,018$) par rapport au contrôle.

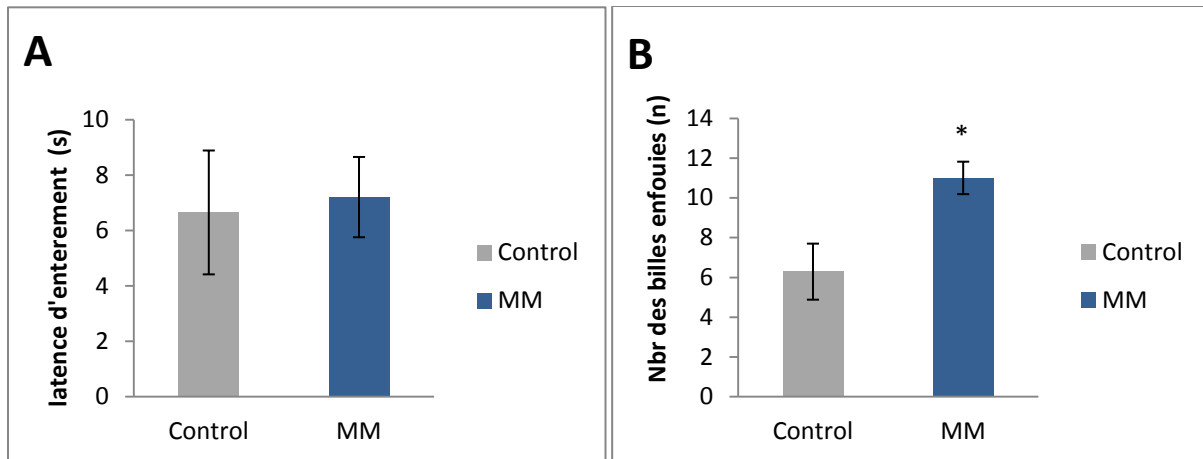


Figure 83 : Comportement d'enfouissement des billes, pendant les 20 minutes d'enregistrement. Chaque histogramme représente la moyenne \pm S.E.M. (A) Temps de latence d'enfouissement. (B) Nombre de billes enfouies. Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M. (10 animaux / groupe). * $p < 0,05$, par rapport au groupe témoin.

6/ Effets du mélange des métaux sur le stress oxydatif

Le stress oxydant est classiquement défini comme un déséquilibre en faveur de la production des ROS qui conduit à une oxydation accrue des composants cellulaires essentiels. Ce déséquilibre pro-oxydant/antioxydant peut avoir une origine exogène : molécules oxydantes, toxines telles que les métaux lourds toxiques ; ou une origine endogène : dysfonctionnements de certaines sources de production et des systèmes d'élimination des ROS. Lorsque les défenses antioxydantes sont affaiblies ou dépassées, le stress oxydatif peut provoquer l'inactivation enzymatique et la peroxydation lipidique. La présente partie est effectuée afin de déterminer l'effet de l'exposition des rats au Cd, au Pb et à Al sur le stress oxydatif chez les nouveaux nés ainsi qu'à l'âge adulte après traitement au mélange des métaux pendant le stade gestationnel et lactationnel.

6-1/ Effets du mélange des métaux sur le stress oxydatif pendant la période postnatale.

a. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la catalase (CAT) chez les ratons

L'activité du CAT a montré une diminution dans certaines structures cérébrales des ratons après traitement au mélange des métaux.

La diminution significative a été observée au PN5 ($t = 3,062$, $p = 0,012$). Cependant, pour PN15, l'activité de la CAT a montré une diminution dans toutes les structures cérébrales du groupe traité, mais cette diminution n'est significative qu'au niveau du bulbe olfactif ($t = 10,583$, $p \leq 0,001$). Pour PN21, on observe une diminution significative au niveau du bulbe olfactif ($t = 2,421$, $p = 0,036$), ainsi qu'au niveau des hémisphères cérébraux ($t = 3,650$, $p = 0,004$) chez les traités en comparaison avec les témoins.

D'autre part, l'activité de la CAT au niveau du foie et des reins des ratons traités par le mélange des métaux montre une diminution dans la plupart des jours postnataux, mais cette diminution n'est significative qu'au PN10 et PN21 au niveau du foie ($t = 4,883$, $p = 0,002$ et $t = 2,975$, $p = 0,018$) et au PN15 et PN21 au niveau des reins ($t = 2,804$, $p = 0,021$ et $t = 2,688$, $p = 0,028$) chez le groupe traité par le mélange des métaux en comparaison avec le groupe témoin.

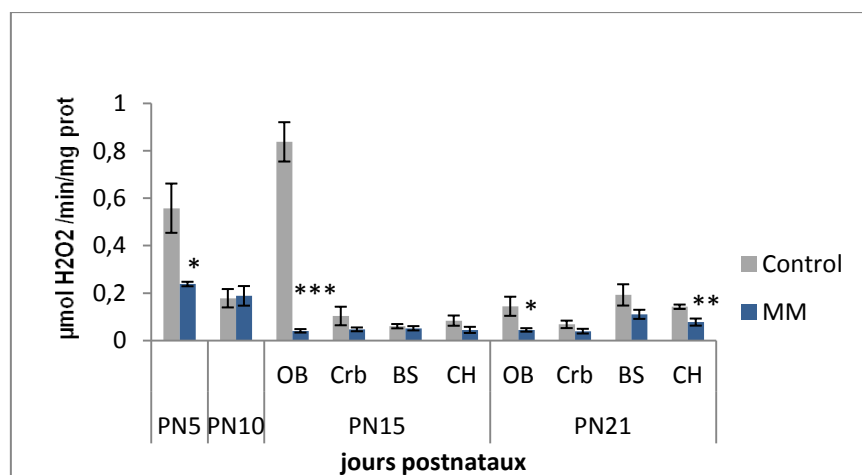


Figure 84 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur l'activité de la CAT dans les cerveaux des ratons pendant la période postnatale. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ versus groupe témoin.

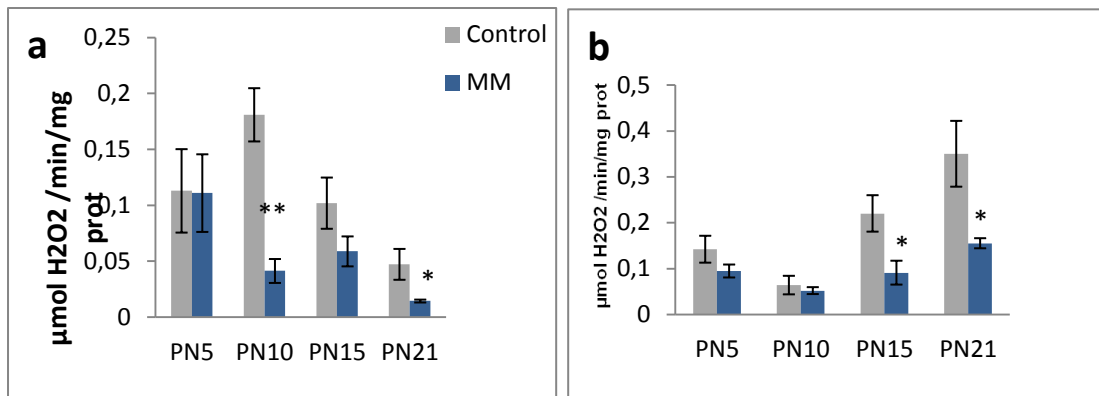


Figure 85 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur l'activité de la catalase (CAT) dans le foie (a) et les reins (b) des rats pendant la période postnatale. Toutes les données sont présentées comme moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). ** $p < 0,01$ versus groupe témoin.

b. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPX) chez les rats

Au niveau du cerveau nous avons observé une diminution évolutive et significative de l'activité de GPX aux deux premiers âges analysés PN5 ($t = 3,182$, $p = 0,011$), et PN10 ($t = 3,601$, $p = 0,005$). Au PN15, une diminution importante au niveau du tronc cérébral ($t = 2,263$, $p = 0,050$) a été notée. Une diminution significative a également été observée dans toutes les structures cérébrales étudiées au PN21 : bulbe olfactif (BO), cervelet (Crb), tronc cérébral (BS) et hémisphères cérébraux (Hc) ($t = 4,014$, $p = 0,002$), ($t = 2,379$, $p = 0,039$), ($t = 2,390$, $p = 0,038$), et ($t = 3,572$, $p = 0,012$) chez le groupe traité en comparaison avec le groupe témoin.

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau du foie est caractérisée par une stabilité relative aux deux premiers âges postnataux analysés (PN5 et PN10), alors qu'une diminution importante et significative a été observée au PN15 et PN21 ($t = 2,992$, $p = 0,014$) et ($t = 2,356$, $p = 0,040$) chez le groupe traité au mélange des métaux en comparaison avec le groupe contrôle.

Pour les reins, une diminution significative de l'activité de GPX a été observée uniquement au PN21 ($t = 3,082$, $p = 0,015$), chez les rats exposés au mélange pendant la gestation et la lactation en comparaison avec les rats témoins.

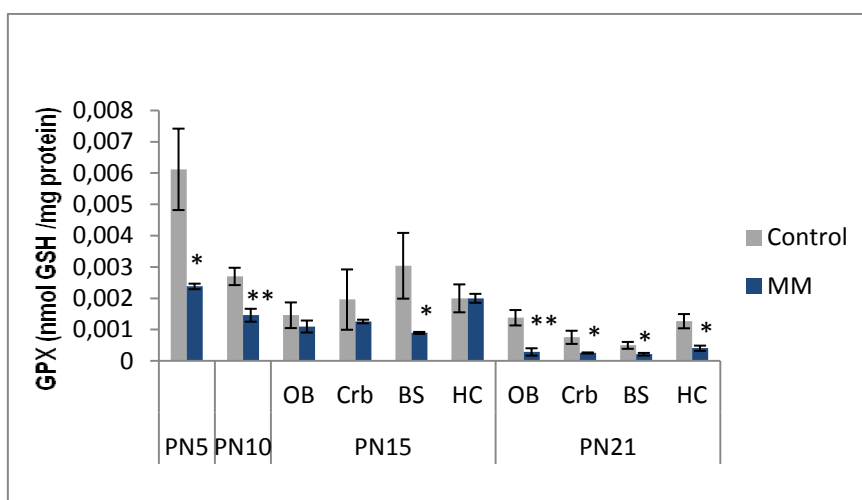


Figure 86 : Activités de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau du cerveau (PN5 et PN10) et au niveau des structures cérébrales (PN15 et PN21), chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le mélange des métaux. ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ en comparaison avec le groupe témoin (test t)

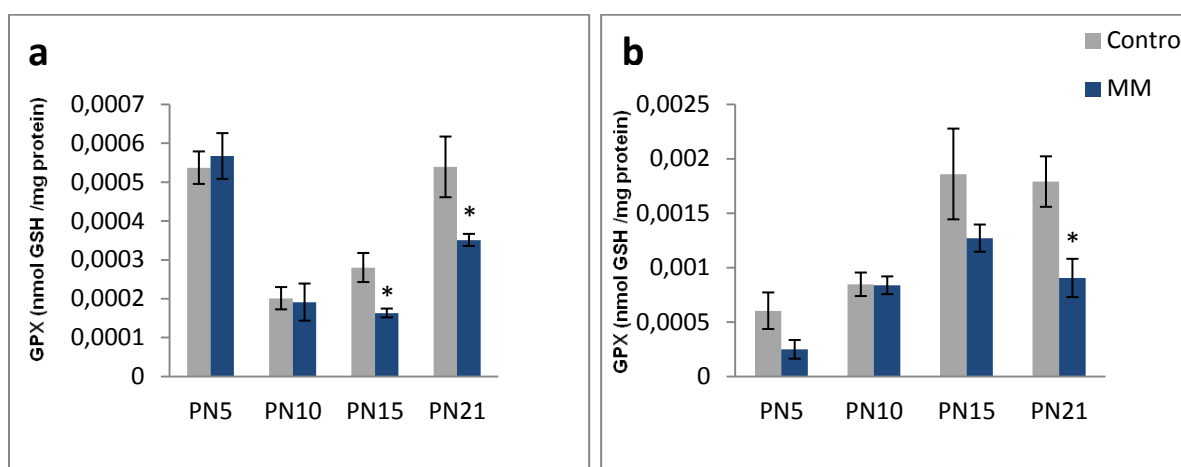


Figure 87 : Activités de la glutathion peroxydase (GPx) (a) au niveau du foie, (b) et au niveau des reins, chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le mélange des métaux. ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin (test t).

c. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) chez les rats

L'activité de la glutathion S-transférase (GST) a diminué dans toutes les structures cérébrales analysées au PN21, à savoir au niveau du bulbe olfactif ($t = 3,190$, $p = 0,010$), du cervelet ($t = 3,708$, $p = 0,004$), et du tronc cérébral ($t = 3,068$, $p = 0,012$) chez les rats traités au mélange des métaux comparativement aux contrôles.

Concernant la concentration de GST au niveau du foie on observe une diminution significative à partir du PN10 ($t = 2,647$, $p = 0,024$), elle se poursuit au PN15 ($t = 2,407$, $p = 0,037$), et devienne plus importante au PN21 ($t = 5,917$, $p \leq 0,001$), chez les rats traités en comparaison avec le groupe contrôle.

Au niveau des reins, la concentration de GST chez les rats exposés au mélange des métaux pendant la gestation et la lactation a diminué significativement dans tous les PN ; PN5 ($t = 2,829$, $p = 0,018$), PN10 ($t = 3,319$, $p = 0,008$), PN15 ($t = 3,177$, $p = 0,011$), et au PN21 ($t = 3,795$, $p = 0,004$).

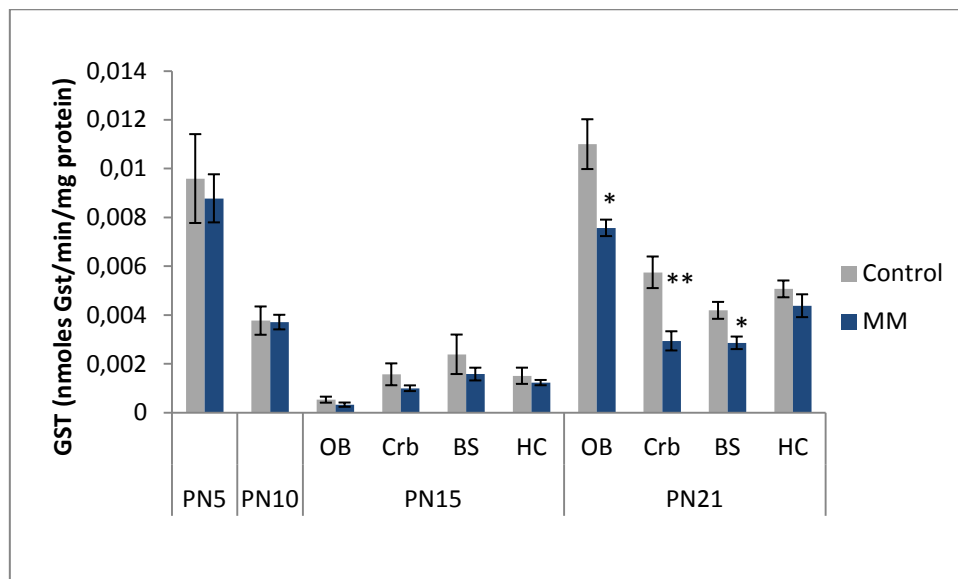


Figure 88 : Activités de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du cerveau (PN5 et PN10) et dans les structures cérébrales (PN15, et PN21) chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le mélange des métaux. ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

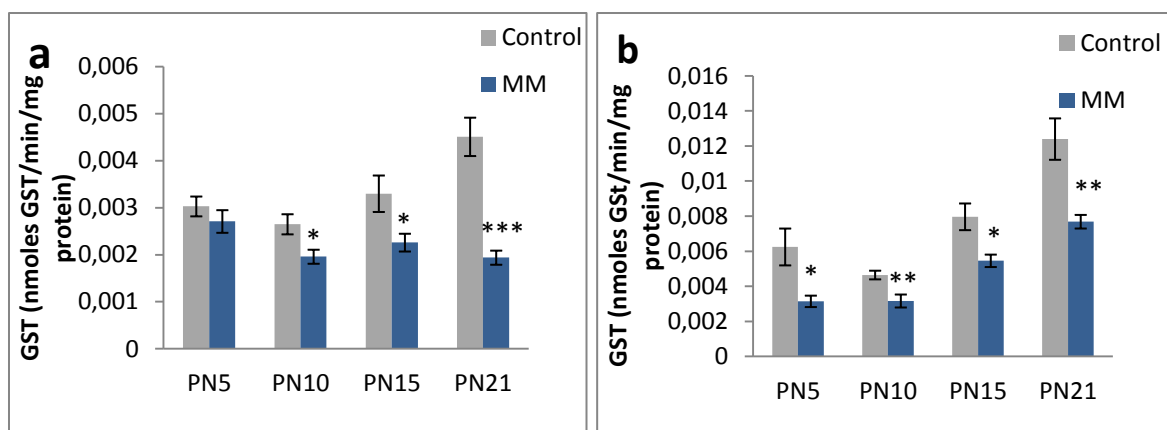


Figure 89 : Activités de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du foie (a) et au niveau des reins (b), chez des rats traités pendant la gestation et la lactation par le mélange des métaux. ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

d. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) chez les rats

Une diminution significative de l'activité de la SOD n'a été observée qu'à PN15 dans le cervelet et dans les hémisphères cérébraux, avec respectivement ($t = 2,428$, $p = 0,038$) et ($t = 2,310$, $p = 0,044$), de même cette importance statistique a été observée au dernier âge postnatal toujours dans le cervelet ($t = 3,256$, $p = 0,012$) et les hémisphères cérébraux ($t = 2,405$, $p = 0,040$), en plus de ces deux structures, on observe aussi une significativité au niveau des bulbes olfactifs ($t = 2,691$, $p = 0,043$).

De même pour l'activité de la SOD au niveau du foie et des reins il y a une diminution chez le groupe traité dans la majorité des jours postnataux étudiés après traitement par le mélange des métaux pendant la gestation et la lactation en comparaison avec le groupe témoin. Pour le foie, cette diminution est significative au PN15 ($t = 3,856$, $p = 0,003$), et au PN21 ($t = 2,521$, $p = 0,030$). De même au niveau des reins l'importance statistique a été observée au PN15 ($t = 2,307$, $p = 0,044$), et au PN21 ($t = 3,520$, $p = 0,006$).

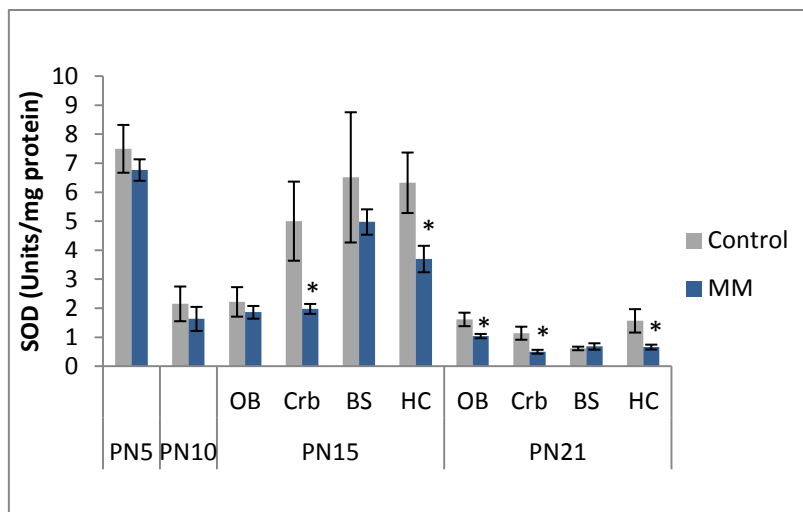


Figure 90 : Effet de l'administration du mélange des métaux sur la SOD dans le cerveau (PN5, et PN10), et dans les structures cérébrales (PN15, et PN21) des rats pendant la gestation et la période de lactation. Toutes les données sont présentées en moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ comparées au groupe témoin.

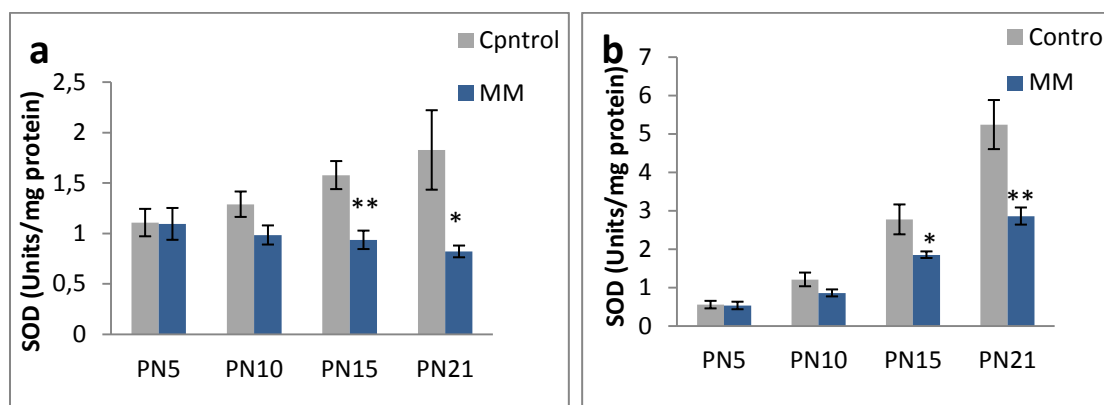


Figure 91 : Effet de l'administration du mélange des métaux sur la SOD au niveau du foie (a), et au niveau des reins (b) des rats pendant la gestation et la période de lactation. Toutes les données sont présentées en moyenne \pm S.E.M ($n = 6$ / groupe). ** $p < 0,01$ et * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

e. Effets du mélange des métaux sur la peroxydation lipidique (MDA) chez les rats.

Une augmentation de la concentration des malondialdéhydes a été observée dans tout le cerveau et les structures cérébrales analysées chez les rats après traitement au mélange des trois métaux aux quatre âges postnataux étudiés. L'augmentation était moyennement significative au PN10 dans le cerveau entier ($t = -3,541$, $p = 0,005$). Au PN15 l'augmentation de la peroxydation lipidique est également significative au niveau des différentes structures

cérébrales analysées à savoir : les bulbes olfactifs ($t = -3,367$, $p = 0,008$), le tronc cérébral ($t = -2,505$, $p = 0,031$), les hémisphères cérébraux ($t = -2,462$, $p = 0,034$).

La significativité évolutive a été également observée aussi au PN21 dans le bulbe olfactif, le cervelet, le tronc cérébral et les hémisphères cérébraux avec respectivement ; ($t = -3,604$, $p = 0,011$), ($t = -2,618$, $p = 0,026$), ($t = -3,265$, $p = 0,008$), ($t = -3,039$, $p = 0,012$).

Une augmentation évolutive au niveau du foie du groupe traité par rapport au groupe témoin a été observée, cette augmentation est significative à partir de PN15 ($t = -3,121$, $p = 0,011$), jusqu'au PN21 ($t = -2,608$, $p = 0,026$).

De la même manière, le dosage de MDA au niveau des reins au cours des différents PN a montré une significativité aux PN15 ($t = -3,098$, $p = 0,011$), et PN21 ($t = -4,722$, $p \leq 0,001$).

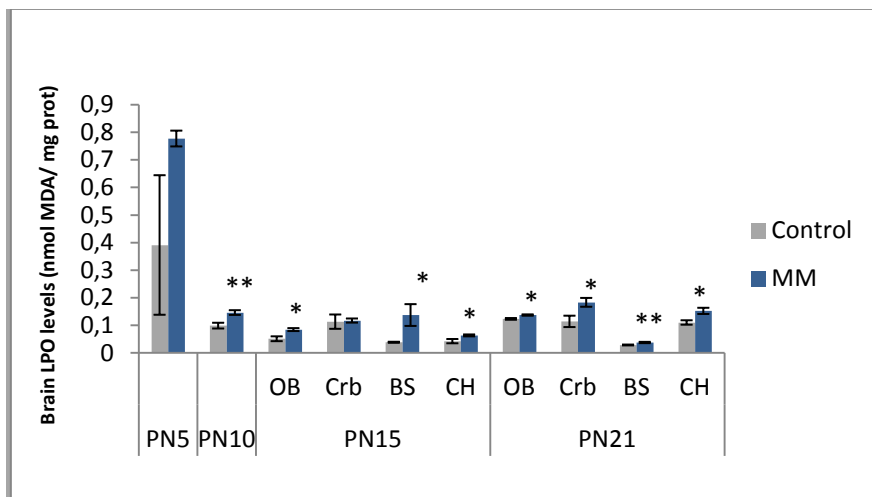


Figure 92 : Les taux de MDA au niveau du cerveau (PN5, et PN10), et au niveau des différentes structures cérébrales (PN15, et PN21) des rats traités avec le mélange des métaux pendant la gestation et la lactation. Le niveau de peroxydation lipidique du tissu cérébral des rats a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe). ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

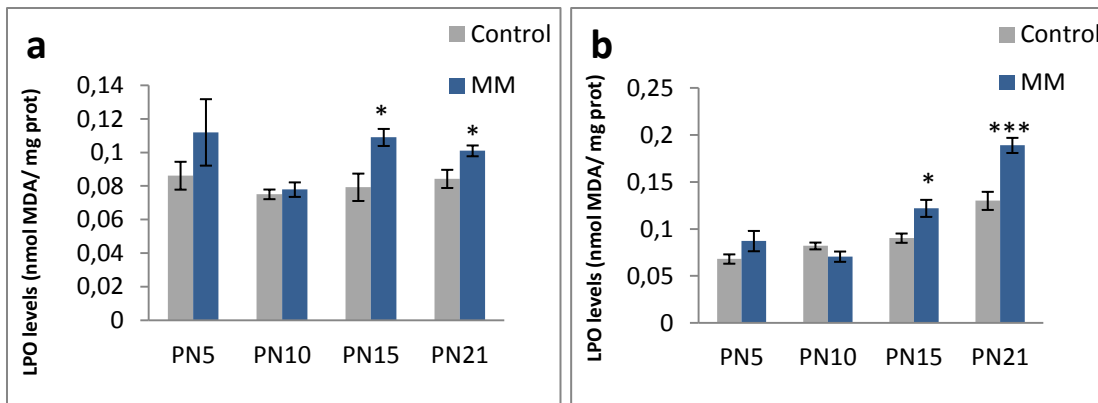


Figure 93 : Les taux de MDA dans le foie (a), et dans les reins (b), des rats traités pendant la gestation et la lactation avec le mélange des métaux. Le niveau de peroxydation lipidique a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe). *** $p < 0,001$, * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

f. Effets du mélange des métaux sur l'activité de l'AchE chez les rats

Au niveau du cerveau des rats de mères traitées, une diminution significative de l'activité de l'AchE a été observée respectivement au PN5 ($t = 6,939$, $p \leq 0,001$), et au PN10 ($t = 2,268$, $p = 0,047$) (figure 94).

A partir du PN15 nous avons analysé différentes structures cérébrales, l'analyse des résultats du test-t a révélé une diminution significative de l'AchE au niveau du cervelet ($t = 2,743$, $p = 0,021$) et des hémisphères cérébraux ($t = 3,255$, $p = 0,009$) au PN15 chez les rats traités. Cette différence disparaît au PN21 qui ne montre aucune différence entre le groupe traité et le contrôle.

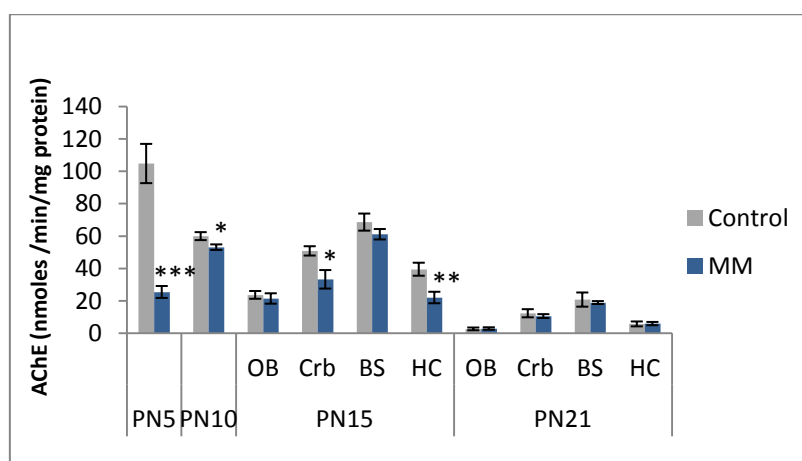


Figure 94 : Activités de l'AChE au niveau du cerveau (PN5, et PN10) et au niveau des différentes structures (PN15, et PN21) des rats traités en pré et postnatale par le mélange des métaux. L'activité spécifique était exprimée en nmolACh hydrolysée / min / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin (test t).

6-2/ Effets du mélange des métaux sur le stress oxydatif chez l'adulte

a. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la catalase (CAT) chez les rats adultes

L'activité de la catalase (CAT) a montré une diminution spectaculaire dans la majorité des structures cérébrales analysées, la plus forte diminution a été observée dans le cortex ($t = 4,040$, $p = 0,002$), le bulbe olfactif ($t = 3,862$, $p = 0,005$), le mésencéphale ($t = 4,216$, $p = 0,002$), et l'hippocampe ($t = 2,512$, $p = 0,031$).

Pour les autres structures, la diminution de l'activité de la CAT n'est pas statistiquement significative.

L'activité de la CAT au niveau des reins et au niveau du foie est diminuée de façon significative chez les rats traités par rapport aux témoins ($t = 4,198$, $p = 0,002$), ($t = 3,920$, $p = 0,003$).

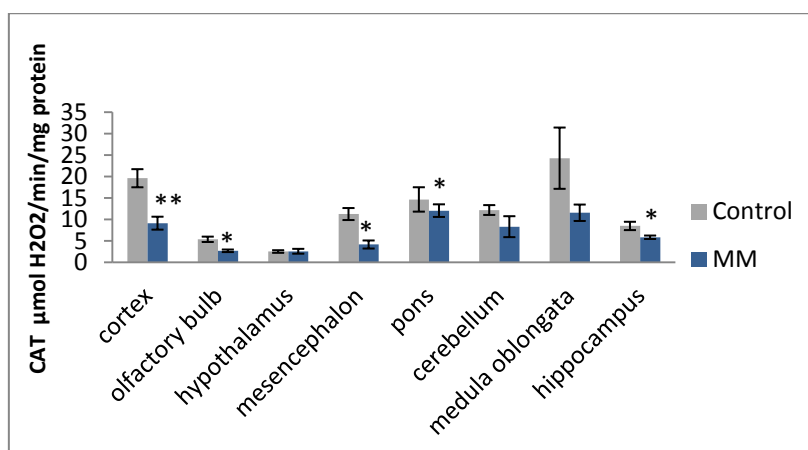


Figure 95 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de la catalase, chez les rats adultes.

Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$

** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

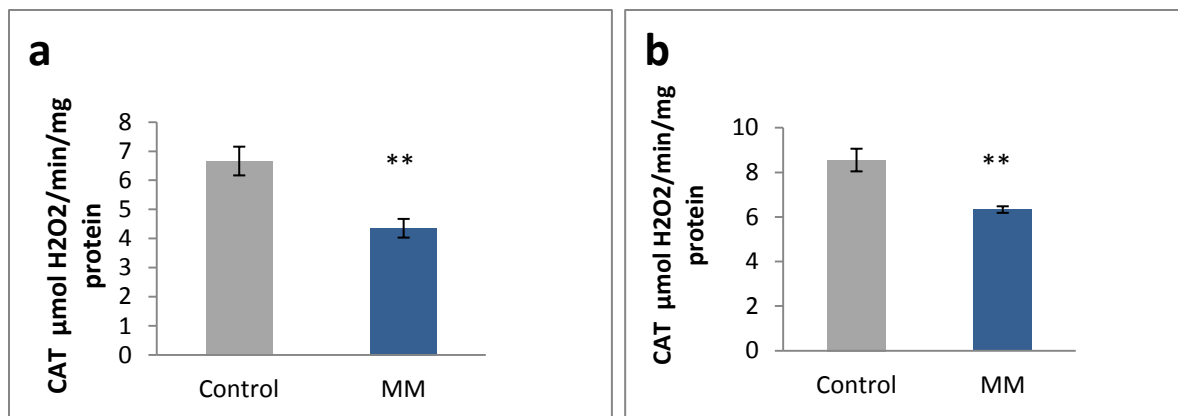


Figure 96 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de la catalase chez les rats adultes au niveau du foie (**a**) et des reins (**b**). Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6 / \text{groupe}$). ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

b. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPX) chez les rats adultes

L'activité de GPX a été caractérisée par une diminution dans les différentes structures cérébrales analysées. Ainsi, nous avons remarqué une diminution significative au niveau de l'hypothalamus ($t = 2,699$, $p = 0,027$), du mésencéphale ($t = 3,022$, $p = 0,013$), du pont ($t = 2,706$, $p = 0,022$), du bulbe rachidien ($t = 2,345$, $p = 0,041$), et de l'hippocampe ($t = 3,824$, $p = 0,003$).

Une diminution significative de l'activité de la GPX a également été observée au niveau des reins ($t = 7,780$, $p \leq 0,001$) et du foie ($t = 2,612$, $p = 0,026$), chez les rats traités par rapport aux témoins.

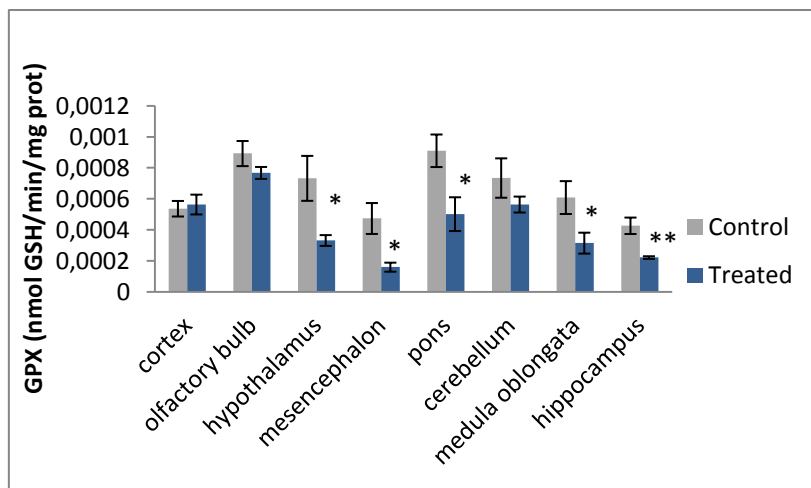


Figure 97 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de la GPX chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

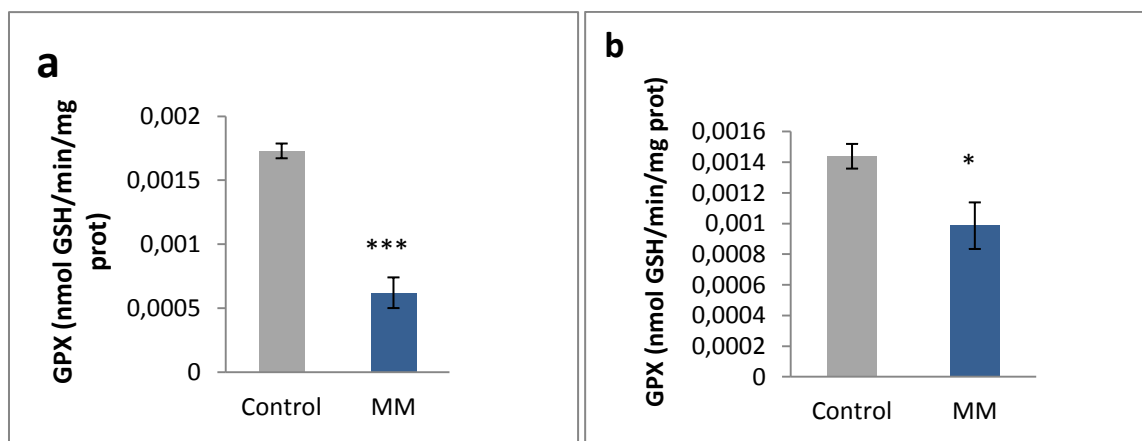


Figure 98 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de la GPX au niveau (a) du foie et au niveau (b) des reins. Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

c. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) chez les rats adultes

L'activité de la glutathion S-transférase (GST) a diminué presque dans toutes les structures cérébrales analysées. Les plus fortes baisses ont été observées dans le cortex ($t = 3,142$, $p = 0,010$) et l'hippocampe ($t = 2,678$, $p = 0,023$). Les diminutions observées dans les autres structures n'étaient pas statistiquement significatives chez les rats traités par rapport aux rats témoins.

Au niveau des reins et du foie, l'activité de la GST est également significative chez les rats traités au mélange des métaux par rapport aux témoins ($t = 2,463$, $p = 0,034$), ($t = 3,053$, $p = 0,012$).

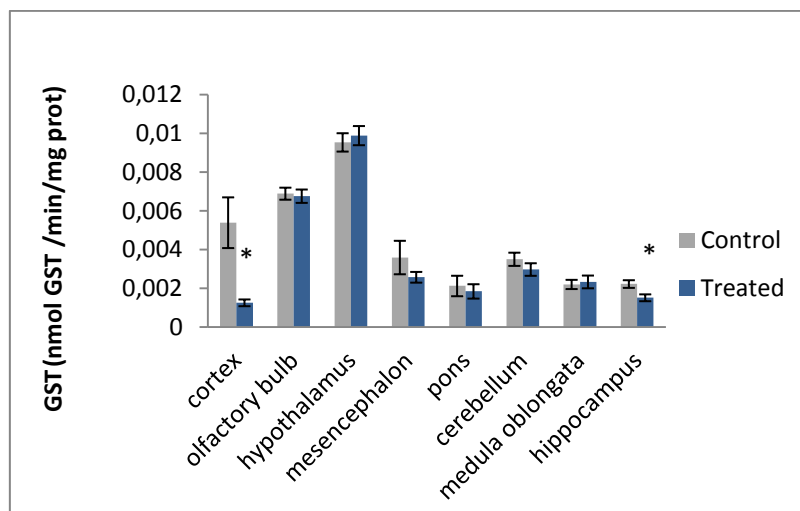


Figure 99 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de GST au niveau des structures cérébrales analysées chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport au groupe témoin.

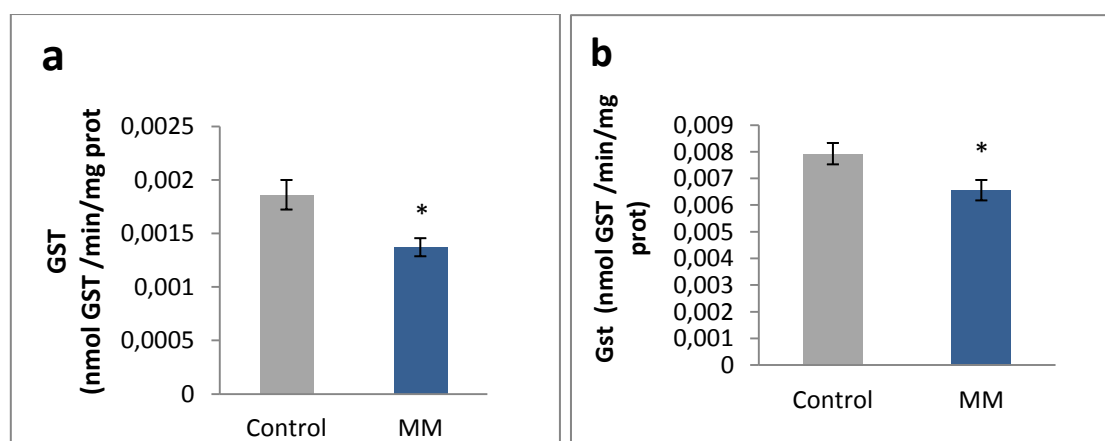


Figure 100 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de GST, au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

d. Effets du mélange des métaux sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) chez les rats adultes

Une diminution très significative de l'activité de la SOD était observée au niveau du cortex ($t = 6,519$, $p \leq 0,001$), au niveau de l'hypothalamus ($t = 2,951$, $p = 0,018$), chez les rats exposés comparés aux contrôles. Les autres structures du cerveau n'ont pas montré de différences significatives.

Au niveau des reins, l'activité de la SOD chez les rats traités est significativement inférieure par rapport au groupe témoin ($t = 4,299$, $p = 0,002$). De même au niveau du foie, on observe une diminution significative chez les traités en comparaison avec les témoins ($t = 9,987$, $p < 0,001$).

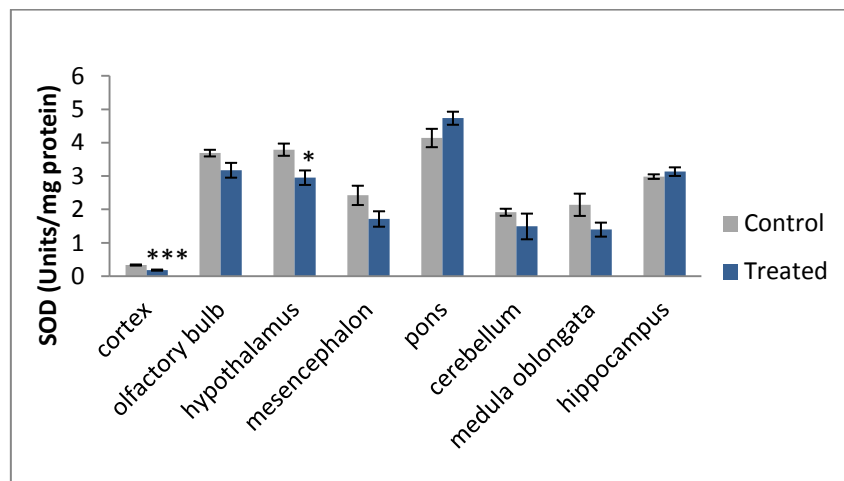


Figure 101 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de la SOD au niveau des structures cérébrales analysées chez les rats adultes. Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

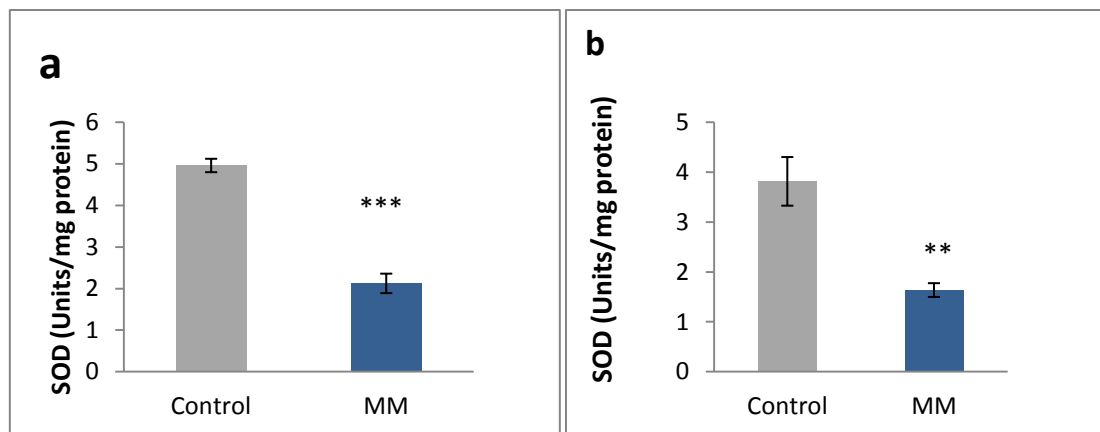


Figure 102 : Effets du mélange des métaux sur l'activité de la SOD, au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins. Toutes les données sont présentées comme la moyenne \pm S.E.M. ($n = 6$ / groupe). * $p < 0,05$ *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

e. Effet du mélange des métaux sur la peroxydation lipidique (MDA) chez l'adulte

Pour estimer la peroxydation lipidique, l'activité du MDA a été mesurée dans huit structures cérébrales, à savoir le cortex cérébral, le bulbe olfactif, l'hypothalamus, l'hippocampe, le mésencéphale, le pont, le cervelet et le bulbe rachidien des rats traités avec les trois métaux étudiés (Cd, Pb, Al) et leurs contrôles correspondants. L'activité a été significativement augmentée dans le groupe traité dans de nombreuses structures, telles que le cortex cérébral ($t = -10,286$, $p \leq 0,001$), le mésencéphale ($t = -3,107$, $p = 0,011$), le pont ($t = -3,782$, $p = 0,004$), et le bulbe rachidien ($t = -5,128$, $p \leq 0,001$), comparé au groupe témoin. L'activité a également augmentée dans le cervelet et l'hippocampe, mais n'a pas atteint un niveau significatif.

Au niveau du foie, l'estimation de la peroxydation lipidique est significativement augmentée chez le groupe traité en comparaison avec le groupe témoin ($t = -2,580$, $p = 0,027$), ainsi qu'au niveau des reins l'activité a significativement augmentée dans le groupe traité par rapport au groupe témoin ($t = -6,191$, $p \leq 0,001$).

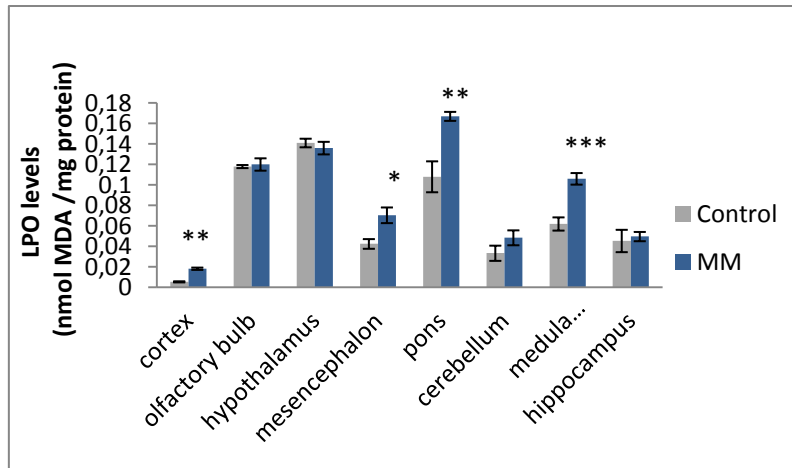


Figure 103 : Les taux de MDA au niveau de différentes structures cérébrales analysées des rats adultes traités avec le mélange des métaux. Le niveau de peroxydation lipidique du tissu cérébral des rats a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe).

*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

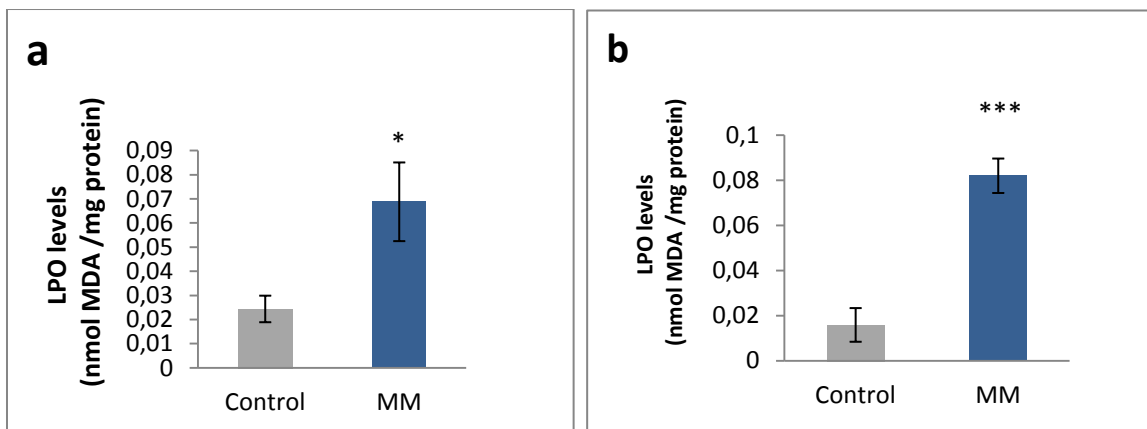
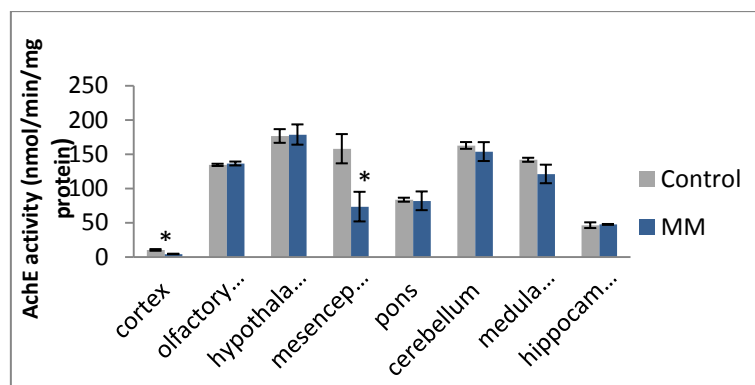


Figure 104 : Les taux de MDA chez les rats adultes traités avec le mélange des métaux au niveau (a) du foie, et au niveau (b) des reins. Le niveau de peroxydation lipidique a été exprimé en nmol / mg de protéine (moyenne \pm SEM, $n = 6$ par groupe), $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ par rapport au groupe témoin.

f. Effets du mélange des métaux sur l'activité de l'acétyl cholinestérase (AChE) chez les rats adultes

Parmi les huit structures cérébrales analysées, une diminution significative de l'activité AChE a été observée dans le cortex, le mésencéphale, le cervelet et le bulbe rachidien. Cependant, le test-t a révélé que l'inhibition n'était significative qu'au niveau du cortex ($t = 4,582$,

$p = 0,004$) et du mésencéphale ($t = 2,780$, $p = 0,050$), chez les rats traités par rapport aux contrôles.



*Figure 105 : Activités AChE dans différentes structures cérébrales des rats adultes traités avec le mélange des métaux. L'activité spécifique a été exprimée en nmol / minute / mg de protéine (moyenne \pm E.M., $n = 6$ par groupe). Test t : * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ est différent du groupe témoin.*

7/ Effet du mélange des métaux sur la prise alimentaire chez les rats adultes.

a. Effets du mélange des métaux sur le poids corporel

Au cours de la première semaine de la prise alimentaire, il n'y a pas d'effet du mélange des métaux sur le poids corporel des rats traités par rapport aux témoins, une diminution significative du poids corporel est observée au cours de la deuxième semaine chez les rats traités au mélange des métaux par rapport à ceux non exposés ($t = 3,946$, $p = 0,002$), cette significativité continue au cours de la troisième semaine ($t = 3,026$, $p = 0,011$).

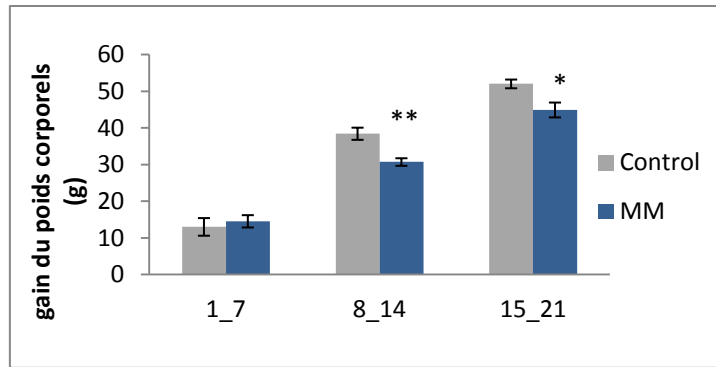


Figure 106 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur la prise de poids corporel. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. dans 21 jours de l'expérience ** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

b. Effets du mélange des métaux sur la consommation d'eau

La consommation d'eau au cours de la prise alimentaire est diminuée chez les rats traités en comparaison avec le groupe contrôle, mais cette diminution n'est pas statistiquement significative.

Tableau 14 : effets de l'administration du mélange des métaux sur la consommation d'eau.

	Ctrl	MM
Consommation d'eau chez les rats male adulte :		
Eau fraiche	3,127 \pm 0,425	2,241 \pm 0,58

Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. dans 21 jours.

c. Effets du mélange sur la prise alimentaire

La prise alimentaire diminue chez le groupe traité par le mélange des métaux dès la première semaine mais de manière non significative, cette diminution évolue au cours de la deuxième semaine de manière significative ($t = 2,771$, $p = 0,017$), elle évolue au cours de la troisième semaine pendant laquelle la prise alimentaire est devenue significativement faible chez les rats exposés au mélange des métaux par rapport aux contrôles ($t = 2,822$, $p = 0,015$).

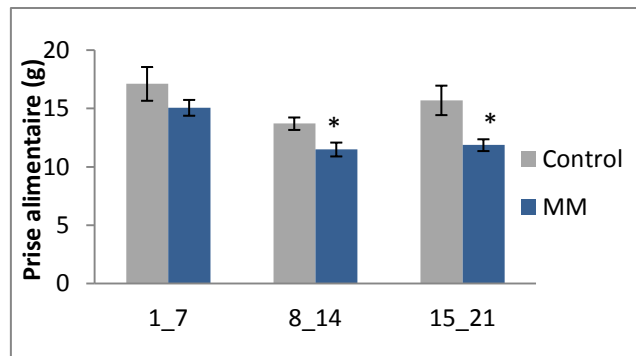


Figure 107 : Effets de l'administration du mélange des métaux sur la prise alimentaire durant les 21 jours de l'expérience. Les valeurs sont des moyennes \pm S.E.M. * $p < 0,05$ par rapport au groupe témoin.

DISCUSSION

Discussion générale

Un grand enjeu de la toxicologie environnementale concerne la problématique des effets des mélanges de substances chimiques auxquels l'homme peut être exposé à travers l'alimentation et l'environnement au sens large. Le problème de chronicité et des faibles doses est un sujet également très important. L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer expérimentalement les risques neurotoxiques potentiels induits par l'exposition au Cd ou à un mélange de métaux (Cd, Pb, Al) à différents stades de développement et de maturation du SNC. Le développement de ce dernier passe par plusieurs stades avant d'atteindre sa maturation. L'une des étapes cruciales se situe entre la gestation jusqu'aux 3 à 4 semaines après la naissance (Dobbing et Sands, 1966). C'est la période de « Brain growth spurt » (BGS). Cette dernière est caractérisée par une augmentation rapide de la taille du cerveau et du début de la synaptogénèse, de la prolifération neuronale et de la myélinisation (Davisson et Dobbing, 1966). Au cours de cette période de développement, le SNC est souvent plus vulnérable aux agressions toxiques que celui de l'adulte. En effet, il est intéressant de noter que l'exposition aux produits neurotoxiques pendant la gestation ou à l'enfance induit une variété de troubles neurodéveloppementaux et neurologiques (Costa et coll 2008).

Comme mentionné ci-dessus, le but ultime de la présente étude a été d'étudier les effets de l'exposition prénatale et postnatale au CdCl₂, et au mélange des métaux (Cd, Pb, Al) pris à faible dose, dans l'eau de boisson au cours de la phase de gestation et pendant la période de lactation sur les aspects de développement physique et fonctionnel des nouveaux nés, sur leur comportement ainsi que sur leur statut oxydatif, et dans un deuxième temps d'évaluer la persistance de ces effets à l'âge adulte suite à une longue période d'exposition.

Les résultats qui en ont été issus indiquent clairement que l'exposition à une faible dose de CdCl₂, et au mélange des métaux, au cours de ces périodes a conduit à une immaturation et à des anomalies fonctionnelles chez les nouveaux nés, ainsi que chez l'adulte.

Effet sur le comportement maternel

A notre connaissance aucune étude n'a évalué auparavant l'effet du cadmium seul ou du mélange des trois métaux (Cd, Alu et Pb) sur le comportement maternel.

Nos résultats ont montré que certains paramètres non maternels ont été affectés chez les femelles gestantes sous l'effet de l'exposition continue au cadmium pendant la gestation. En effet, les femelles gestantes traitées ont un score d'auto-toilettage significativement supérieur à celui des témoins. De même, la consommation de nourriture et d'eau ont augmenté chez le groupe des traités au Cd par rapport aux témoins. Pour les autres activités non maternelles, nous n'avons pas noté de différences significatives.

Pour le mélange des métaux seul l'auto-toilettage a été affecté par l'exposition des rats au mélange de métaux. Les autres activités non maternelles (consommation de nourriture et d'eau) n'ont pas montré de différences significatives entre le groupe témoin et celui traité par le mélange.

Les résultats du comportement maternel montrent clairement que Les mères exposées au mélange de métaux passaient plus de temps à faire le toilettage des ratons que le groupe témoin. Cependant, même si elles passaient moins de temps dans le nid, à transporter la progéniture, ces résultats restent non significatifs.

Cependant, ces résultats montrent que la monoexposition métallique au Cd ne n'affecte pas ce comportement entre le groupe traité et le groupe témoin concernant le comportement maternel

Pour l'allaitement maternel, seul le groupe traité au mélange a montré des différences significatives, en effet nous avons constaté que les mères traitées au mélange passaient plus de temps en allaitement passif que le groupe témoin. Les femelles traitées au Cd ne montraient pas de différences significatives avec les témoins.

Nous avons analysé le poids corporel ainsi que la consommation d'eau pendant la gestation et l'analyse des résultats ne montre aucune différence significative entre le groupe traité au Cd et le groupe témoin. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature (Salvatori et coll., 2004).

Pour le test de récupération, les femelles traitées au mélange ou au Cd mettaient plus de temps à récupérer et à ramener tous les ratons dans le nid par rapport aux contrôles.

Les femelles gestantes traitées au mélange des métaux avaient un poids significativement inférieur par rapport aux témoins. Une diminution du poids corporel a également été observée après un traitement au chlorure d'Aluminium (Ghorbel et coll., 2016).

De même, la consommation d'eau a été affectée significativement par l'exposition au mélange pendant le stade gestationnel. Des résultats similaires ont été rapportés pour le plomb (Bunn, et coll., 2001) et pour l'aluminium (Ghorbel, et coll., 2016), pouvant donc pointer le rôle de ces éléments dans cette diminution.

L'ensemble des résultats démontre clairement que le comportement maternel reste fortement sensible à l'effet des métaux lourds en trace, que ce soit en mode individuel ou sous forme de mélange, arguant fortement de la sensibilité de la période de gestation et à un second degré de lactation.

Effet sur les paramètres morphologiques

Effet de la mixture des métaux sur les paramètres morphologiques

Des études chez des rongeurs ont montré que, pendant la grossesse, le stress maternel dû à la contention, au bruit, à la lumière et à la chaleur peut être associé à des effets indésirables chez la mère et être préjudiciable au développement embryonnaire / fœtal et postnatal (Golub et coll., 1976. Miller et coll., 2002. Nishio et coll., 2001). En outre, il est également bien connu que l'exposition à certains métaux pendant la gestation peut également causer des toxicités pour le développement (Domingo et al, 2004), une exposition prénatale à 100 mg / kg / jour d'Al, seul ou associé à un stress de contention, induit une diminution du poids corporel à partir du douzième jour postnatal et des retards d'éruptions des incisives, maturation sexuelle, (descente testiculaire). Au cours des dernières décennies, plusieurs études concernant les métaux ont confirmé que la mixture de différents métaux induit une diminution du poids corporel chez le rat (Su et coll., 2017. Colomina et coll., 2005), ce qui va dans le même sens que la présente étude qui montre un effet du mélange des 3 métaux sur les paramètres morphologiques ; avec une diminution du poids corporel des nouveaux nés (PN12, PN15), un retard significatif dans l'explosion des incisives ainsi que pour la maturation sexuelle.

L'exposition au Cd pendant la gestation et la lactation, affecte également négativement le poids corporel des rats. En effet, le poids corporel du groupe de rats traités exposés au chlorure de cadmium pendant la gestation et la lactation, mesuré au cours des jours PN5, PN12, PN15 et PN17, était significativement inférieur à celui du groupe témoin. L'organisation mondiale de la santé (OMS) (2001) a confirmé que le poids à la naissance des nouveau-nés était nettement plus bas après l'exposition maternelle au cadmium.

Cette différence de poids peut être corrélée à la concentration élevée de cadmium dans le placenta et au fait que les rates gestantes donnant des nouveau-nés de faible poids présentent

un taux élevé de cadmium dans le placenta (Llanos et coll., 2009). L'exposition prénatale à 50 ppm de cadmium induit une diminution significative du poids corporel des rats par rapport aux rats non exposés (Ronco et coll., 2009), mais pas une diminution chez les rats exposés à 30 ppm (Ronco et coll., 2009), ce qui indique que la relation entre l'exposition au Cd et le poids à la naissance dépend directement de la dose d'exposition ainsi que la voie d'administration.

Par ailleurs, aucune différence de poids corporel au PN21 n'a été observée entre les rats expérimentaux, des résultats similaires ont été rapportés par d'autres études impliquant des animaux traités au cadmium (Kamel et coll., 2011).

De plus, la diminution du poids à la naissance causée par une exposition au cadmium est probablement une conséquence de la présence d'une fente palatine, qui est une malformation externe provoquée par une exposition au cadmium au cours de l'embryogenèse. La présence d'une fente palatine peut nuire à l'allaitement des rats, qui affecte de manière indirecte le développement corporel au cours de cette période (Salvatori et coll., 2004). Les paramètres physiques évalués ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative concernant le détachement des oreilles, le nombre de jours d'ouverture des yeux, et l'apparition des poils. De même Kamel et coll (2011), ont observé qu'il n'y avait pas de différence significative concernant l'apparition des poils, le détachement des oreilles et l'ouverture des yeux, chez les rats traités par rapport aux contrôles, par contre il y avait des différences significatives entre les groupes concernant l'éruption des incisives.

Dans d'autres études, il a été stipulé qu'au stade embryonnaire le cadmium pouvait provoquer un blocage lors de l'éruption des dents et de la racine (Hamada et coll 1989). Katsuta et coll (1996) ont étudié les effets du cadmium sur les dents molaires et incisives et ont observé une réduction du pigment de fer dans les cellules améloblastes et des lésions au niveau de l'organe d'émail des incisives.

La diminution de la longueur corporelle de la progéniture exposée au Cd au cours de la gestation et de la lactation, y compris chez les mâles et les femelles, était nettement inférieure à celle observée chez les témoins. Ces résultats concordaient avec des résultats récents de Xue et coll (2015), qui rapportent que le Cd pourrait avoir un lien avec le développement fœtal ou la croissance postnatale.

Par contre, des données contradictoires ont été rapportées lorsque des souris gestantes recevaient du chlorure de cadmium dans de l'eau de boisson pendant l'allaitement, du PN1 au PN17, en contradiction avec nos données, ces études indiquent qu'il n'y avait pas de différences significatives entre le groupe témoin et le groupe exposé au Cd pour le poids corporel durant la période postnatale chez les mâles (Petersson et coll 2004), ces différences peuvent être liés aux périodes d'exposition.

Il a été montré qu'une exposition prénatale à 100 mg / kg / jour d'Al, seul ou associé à un stress de contention, induit une diminution du poids corporel à partir du PN12, un retard d'éruptions des incisives et de maturation sexuelle (descente testiculaire). Au cours des dernières décennies, plusieurs études faites sur les métaux ont confirmées que le mélange de plusieurs métaux induit la diminution du poids corporel chez le rat (Hong et coll 2017, Teresa et coll 2005), ce qui va dans le sens des résultats de la présente étude, qui met en évidence un effet net de l'exposition au mélange des 3 métaux sur les paramètres morphologiques, matérialisé par une diminution du poids corporel des nouveaux nés (PN12, PN15), ainsi qu'un retard significatif dans l'explosion des incisives et de la maturation sexuelle.

Effet sur les tests de neurodéveloppement

Les résultats du présent travail ont mis en évidence un retard global dans le réflexe inné comme conséquence à l'exposition pré- et néonatale au mélange de métaux (Cd, Pb et Al) ou au Cd seul. En effet, nous avons noté un retard prononcé dans le réflexe de redressement et celui de géotaxie.

Le réflexe de la géotaxie négative serait lié à la position anormale de la tête et du corps qui sont sous le contrôle du système vestibulaire et postural (Adams et coll 1985). Ceci pourrait donc être lié à un retard de maturation de ce système (Rainires et Spear 2010).

De même, un déficit dans le réflexe de redressement a été observé chez les animaux traités, ce réflexe évalue les aspects liés aux fonctions vestibulaires et ou proprioceptives (Scher et coll 2006). Ce type d'altération a été montré comme un déficit accompagnant un retard du développement du cervelet (Aruga et coll 1998). Il faut noter dans ce sens que des altérations des activités enzymatiques du système anti-oxydant comme la SOD ou encore la GST et l'AChE ont été mises en évidence au niveau du cervelet au même titre qu'une augmentation de la peroxydation lipidique. Ces données pourraient être à l'origine de ce retard observé, du moins partiellement. Sur le même trend, les animaux traités se distinguent aussi par un retard concernant le test de chute avec choix des cages. Ce type de retard pourrait être relatif à des perturbations de la maturation des fonctions sensorimotrices associées au développement nerveux (Santillan et coll 2010). Nous avons utilisé le test de natation pour évaluer la coordination motrice et l'équilibre chez les traités et les témoins. Nous avons constaté que les rats traités avaient des scores supérieurs aux témoins, montrant en ce sens une hyperactivité. L'origine de cette hyperactivité pourrait être recherchée au niveau de la diminution de l'activité de l'AChE cérébelleuse durant la période postnatale. Cette diminution entraîne une présence accrue d'acétylcholine qui entraîne par la suite une potentialisation de

l'activité locomotrice. Cet effet observé pour le mélange pourrait être dû entre autres, à l'addition des effets des trois métaux mais aussi probablement à l'effet déterminant du plomb, bien connu pour générer la présence de troubles du comportement de l'enfant comme l'impulsivité et l'inattention (Needelman et coll 1979, Winnecke et coll 1983, Hansen et coll 1989, Bergomi et coll 1989, Silva et coll 1988, Thompson et coll 1989, Needleman et coll 1996) et même à l'âge adulte (Bellinger et coll., 1994). Globalement, il semble y avoir un lien entre l'exposition au mélange des métaux et l'hyperactivité ou le déficit de l'attention. En 1988 par Silva et coll, ont confirmés que la présence d'une plombémie élevée est associée directement aux difficultés de lecture, aux problèmes d'attention et d'hyperactivité chez les enfants âgés de 11 ans issus d'un milieu plutôt favorisé. A charge de cette allégation, l'augmentation des niveaux d'AChE chez les rats exposés uniquement au Cd, montrant par conséquent une baisse de l'activité locomotrice. En effet, les résultats révèlent la présence d'un déficit au niveau de la progéniture exposée au Cd par rapport au groupe témoin, mise en évidence par le test du «swimming development» avec diminution du score d'angle de nage, de la direction et celui pour l'utilisation des pattes. Il faut noter que l'ontogenèse de la natation renseigne sur le développement de la coordination neuromotrice et de la capacité de nager (Kihara 1991).

Effet sur le comportement après sevrage et à l'âge adulte

D'après nos données, il est évident que l'administration de cadmium pendant la gestation et la lactation a entraîné une réduction significative des carreaux centraux traversés par le groupe traité au Cd, et l'inverse pour les carreaux périphériques. Cependant, quelques études ont lié l'augmentation de l'activité locomotrice à l'hyperactivité chez les rats exposés au Cd de la naissance à 30 jours après la naissance, et qu'une faible dose d'exposition au Cd chez le rat a entraîné une hyperactivité importante au bout de 30 jours de la vie postnatale, suivie d'un

coma chez le rat adulte (Rastogi et Coll 1971). Cet effet du Cd, serait cette fois-ci dû à une bioaccumulation du métal.

Comme nous l'avons mentionné auparavant, l'ensemble des résultats montrent que les animaux exposés en période pré et néonatale, juvénile et /ou adulte augmente le niveau d'anxiété exprimé par une diminution du temps passé dans le centre du champ ouvert et une augmentation de l'indice d'anxiété comme le montre les données du test du labyrinthe en croix surélevé, la présente étude montre que l'exposition prénatale au Cd a produit un pourcentage d'anxiété plus élevé chez la progéniture exposée comparée au contrôle, avec une réduction dans le pourcentage du temps passé dans les bras ouverts, ainsi que le pourcentage d'entrées dans les mêmes observés dans le groupe Cd. Mervat et coll (2011) avaient déjà démontré, dans certaines expériences récentes avec la même dose d'exposition, que le chlorure de cadmium entraînait une augmentation significative du niveau d'anxiété chez la progéniture exposée à la gestation et à la lactation. Plusieurs études indiquent que l'anxiété est régulée par les systèmes gabaergique (GABA) et sérotoninergique (5-HT). À cet égard, une augmentation de l'activité du GABA diminue l'anxiété, et une diminution de la neurotransmission de la 5-HT entraîne des effets anxiolytiques (Gray et coll 1984, Chopin et coll 1987). Comme mentionné précédemment, l'exposition chronique au Cd chez l'homme provoque des maux de tête, des troubles du sommeil, des modifications du comportement alimentaire et des déficits de la mémoire, des éléments de preuve indiquent que le GABA et la 5-HT participent, du plus en plus dans la régulation de ces fonctions du SNC (McEntee et coll 1991). Il semble donc probable que l'exposition au Cd entraîne des modifications des systèmes GABA et 5-HT susceptibles d'être responsables de ces effets.

D'autre part, le temps de latence au début du test d'enfouissement des billes reflète les niveaux d'activité exploratoire des animaux et leur motivation pour effectuer un comportement inné (Jirkof et coll 2013) a été aussi utilisé pour étudier l'aspect motivationnel

et il apparaît clair dans notre cas que les rats exposés au Cd sont moins motivés à explorer le milieu du dispositif. Les paramètres de ce test sont reconnus comme mesurant le comportement répétitif, et sa performance est influencée par d'autres facteurs tels que la motivation, l'anxiété et le rythme circadien (Jirkof et coll 2013). Par ailleurs, il a été démontré que les performances d'enfouissement des billes étaient directement liées aux comportements répétitifs (LA et coll 2009), qui sont couramment observés dans plusieurs troubles psychologiques, tels que l'autisme et la schizophrénie (Jirkof et coll 2013, Angoa-Pérez et coll 2013).

A l'âge adulte les rats qui continuent à avoir le Cd dans l'eau de boisson expriment une augmentation du pourcentage d'anxiété par rapport aux témoins qui est expliqué par la diminution dans le pourcentage du temps passé dans les bras ouverts, ces résultats sont en accordance avec Gonçalves et coll (2012) qui ont montré que les rats exposés au Cd à différentes faibles doses à l'âge adulte présentent une augmentation du comportement d'anxiété. De même pour le champ ouvert, les rats exposés au Cd passent plus de temps dans la périphérie que dans le centre par rapport à ceux non exposés, cependant des études récentes ont rapporté que le dysfonctionnement du comportement est lié directement à l'exposition au cadmium (Gagnaire et coll 2011). Une augmentation de l'activité locomotrice après l'administration de cadmium a été rapportée (Rastogi et coll 1977, Wong et coll 1982, Kaoud et coll 2010), ainsi que l'hypoactivité consécutive suite à une exposition au Cd (De'si et coll 1999). Notre résultats de l'activité locomotrice chez le rat après une administration de cadmium peut être expliquée par un indice de dépression, car selon Chkhartishvili et coll (2011) une diminution de l'activité locomotrice dans le champ ouvert a été associée à des symptômes de type dépression chez le rat. Pour les performances de la mémoire dans notre étude une diminution du pourcentage de reconnaissance et d'alternation a été observée, ce qui suggère une altération de l'apprentissage et de la formation des traces mnésiques. Les mêmes

résultats ont été exploités dans des études récentes, concernant des rats intoxiqués par voie orale avec du Cd ou des pommes de terre cultivés avec du Cd et qui ont montré une altération de la cognition (Goncalves et coll 2010, 2012).

D'autre part, nos résultats sur le mélange des métaux, indiquent que l'administration du mélange des 3 métaux pendant la gestation et la lactation a entraîné une réduction significative dans le temps de passage dans les carreaux centraux par le groupe traité aux métaux, et l'inverse pour le temps de passage dans les carreaux périphériques. Cependant, dans le labyrinthe en croix surélevé, une augmentation significative de l'anxiété a été observé chez le groupe traité par rapport au groupe témoin, et qui persiste à l'âge adulte. Selon cette affirmation, des études récentes, ont déjà montré que le mélange de différents métaux entraînait une augmentation significative du niveau d'anxiété chez la progéniture exposée à la gestation et à la lactation (Mervat et coll 2011, Leret et coll 2003).

Le mécanisme par lequel le mélange des métaux est capable de modifier le comportement reste à établir. Selon Leret et coll (2003) ce mécanisme passerait via la sérotonine et les neurones dopaminergiques de l'hippocampe. Ces deux systèmes sont impliqués dans la régulation des CRF (Corticotropin-releasing hormone) qui jouent un rôle important dans les systèmes impliqués dans le comportement de l'anxiété. Le système sérotoninergique joue un rôle central dans la modulation de l'anxiété (Voig et coll 1998), et une augmentation des niveaux de 5-HT dans l'hippocampe est associée à un effet anxiogène. En outre, il existe un contrôle sérotoninergique du développement des systèmes contrôlant l'anxiété. D'autre part les différentes susceptibilités des structures du cerveau à l'intoxication aux métaux pourraient également être liées à la différence dans la formation et la maturation des différentes structures du cerveau. Plusieurs preuves suggèrent une association entre le dysfonctionnement hippocampique et les déficiences comportementales observées chez des animaux de

laboratoire après une exposition néonatale au Pb (Kuhlmann et coll 1997, Lasley et coll 1993).

Le traitement par les trois métaux a montré une altération de la mémoire dans le test de la reconnaissance des objets ainsi qu'une diminution du pourcentage d'alternance dans le test de labyrinthe en Y, qui est comparativement diminué par rapport aux témoins. La déficience observée peut être liée à une possible action inhibitrice du plomb sur les neurones immatures de l'hippocampe, en interférant avec la formation de synapses et par conséquent pourrait avoir contribué à des déficits au niveau de la formation de la mémoire. A noter que les synapses des granules dentés de l'hippocampe se stabilisent après 6 à 8 heures d'apprentissage (Doyle et coll 1992).

Effet sur le statut oxydatif

Très peu d'auteurs ont choisi d'effectuer des expériences similaires sur le système nerveux central en développement et les données sont lacunaires concernant les études faites sur les différentes structures cérébrales chez l'adulte ainsi que chez les nouveau-nés. A notre connaissance, notre investigation forme en ce sens, la première étude spécifiquement consacrée à la neurotoxicité au cours du développement suite à une intoxication au Cd ou au mélange des métaux sur les activités enzymatiques cérébrales (en corrélation avec les tests neurocomportementaux).

La majorité des études antérieures portant sur ces enzymes (CAT, GPX, GST, SOD) dans le cerveau entier de rats nouveau-nés ou adultes exposés au cadmium *in vivo*, ou *in vitro*, ont révélé une diminution de leur activité (Ahammadsahib et coll 1987, Antonio et coll 2003, Pari et coll 2007, Zhang et coll 2009), bien qu'il existe des données opposées (augmentation de l'activité) *in vivo* et *in vitro* (Carageorgiou et coll 2004-2005, Liapi et coll 2013) (suivant les doses administrées ou les voies d'administration). Néanmoins, l'étude au niveau des structures bien précises de la réponse de ces enzymes dans le système nerveux central de rats

traités au Cd peuvent révéler des profils contradictoires de réponses enzymatiques par rapport à ceux observés dans des homogénats de cerveau entier. Ceci prévaut aussi pour l'activité de l'acétylcholinestérase.

Le profil développemental des taux de GSH et de GPx dans le cerveau des nouveaux nés a montré des fluctuations considérables, qui peuvent refléter leurs besoins à différents stades de développement. Une telle variation ontogénique dans le cerveau du rat a également été rapportée par Shivakumar (1991). En outre, les données ont également révélé un déclin des activités de la SOD cérébrale et de la CAT avec l'âge. Amita et coll (1995) explique que cette modification a été liée à la concentration de cadmium et suggère que le rythme d'absorption de cadmium ne pourrait pas correspondre à la croissance cérébrale rapide au cours de cette période. La mise en place d'une barrière hémato-encéphalique et d'une exposition plus faible au Cd par le lait pendant la période de lactation pourraient être des facteurs responsables de ces observations. Amita et coll (1995) suggèrent aussi que la réduction du poids corporel chez les nouveaux nés peut être aussi un facteur de ces changements au niveau du stress oxydatif ce qui indique que l'effet toxique du Cd pourrait être plus délétère en cas d'exposition pendant la période de gestation. Un poids corporel normalisé au cours des périodes ultérieures (PN21) suggère une récupération impressionnante pendant le développement postnatal. Bien qu'il soit tout à fait possible que certaines modifications non spécifiques du cerveau surviennent chez les rats traités au Cd aux premiers jours en raison d'une réduction du poids corporel. D'autre part des niveaux altérés de GSH, de GPx, de SOD et de CAT dans le cerveau ont été rapportés chez des rats sous-alimentés et atteints de malnutrition protéique (Gill KD et coll 1989). Dans ce contexte, notre étude expérimentale fournit une vue spécifique à la région cérébrale des changements des activités enzymatiques cérébrales en conséquence à la neurotoxicité au Cd au cours du développement.

Pour l'activité de l'AChE, nos données démontrent qu'aux derniers âges étudiés (PN15, PN21), le bulbe olfactif et le cervelet sont particulièrement les structures touchées par la neurotoxicité développementale induite par le Cd, chez les ratons des mères exposées au Cd pendant la gestation et la période de lactation, ce qui est conforme avec Vasileios et coll (2013), qui ont démontré la même chose pour le cervelet.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que le traitement au Cd induit une augmentation de la peroxydation (LPO) des lipides dans le cerveau, pendant toutes les périodes de lactation. Les résultats de la présente étude sont conformes à ceux de Amita et coll (1995), qui indiquent qu'aux jours postnataux PN1, PN7, PN14 et PN21, une augmentation de l'activité de MDA après une exposition au Cd pendant le période de gestation et de lactation.

L'exposition maternelle au chlorure de Cd dans l'eau de boisson pendant la gestation et la lactation entraîne des modifications importantes des activités de l'AChE dans le cervelet et le bulbe olfactif, ainsi qu'une diminution de l'activité antioxydant telle que la CAT, la GPX, la GST et la SOD. Selon la présente étude, l'exposition des mères enceintes à une faible dose de Cd par voie orale peut entraîner des modifications de la défense anti-oxydante, au niveau du système cérébral au cours de la période critique du développement, ce qui peut avoir des conséquences graves plus tard dans l'âge adulte. A cet âge précisément, l'exposition au cadmium (5mg /l), a provoqué des altérations neurocomportementales qui pourraient être liées aux épuisements des mécanismes de défense antioxydants (Bouayed et coll 2009), ce qui perturbe le redox cellulaire et conduit au stress oxydatif. En effet, une augmentation des niveaux de LPO et une diminution dans les niveaux de GST, de SOD, de CAT et de GPx ont été observés. La diminution des niveaux d'enzymes anti oxydants peuvent être attribués à l'accumulation de Cd dans le tissu cérébral qui conduit à la consommation du pool GSH (Onyema et coll 2006). L'épuisement du contenu en GSH désactive les enzymes

antioxydants, et le Cd a été démontré pouvant se lier au groupe sulfhydryle (-SH) des enzymes oxydatifs, ce qui conduit à leur inhibition (Renugadevi et coll 2009).

Le Cd induit des altérations neuropathologiques et neurochimiques dans le cerveau, ce qui provoque de graves dommages, y compris l'encéphalopathie, la neuropathie périphérique. De plus, l'exposition au Cd modifie la névroglie corticale et les cellules pyramidales et granulaires (Afifi et coll 2016). En outre le Cd diminue l'attention, altère la mémoire et les fonctions olfactives (Wang et coll 2013). Par conséquent, les cellules sont déformées et rétrécies en raison de dommages au fonctionnement de la structure, de biosynthèse de protéines cellulaires, d'acides nucléiques, de certaines enzymes et de divers neurotransmetteurs (Afifi et coll 2016). Un autre aspect important à discuter ici est l'effet du Cd sur le système cholinergique, qui joue un rôle crucial dans la régulation de l'apprentissage, la mémoire, et l'organisation corticale du mouvement (Mesulam et coll 2002). Dans la présente étude, l'exposition au Cd a diminué l'activité de l'AChE dans le cortex cérébral, le cervelet et le bulbe rachidien par contre pour l'hypothalamus, le bulbe olfactif, le mésencéphale, l'hippocampe et le pont, il n'y avait pas de différences entre les deux groupes, ce qui est en accord avec les résultats publiés par Goncalves et coll (2010) pour le cervelet des rats exposés au Cd (2 mg / kg) qui a montré une diminution de la l'activité AchE. Idem pour les travaux de Fátima et coll (2014) qui ont montré qu'après une exposition au cd à la dose de 2,5 mg/kg il y a une diminution de l'activité AchE au niveau du cortex cérébral mais pas au niveau du cervelet. Cependant, les doses de Cd étaient différentes à celles utilisées dans notre étude, et la période expérimentale d'exposition à ce métal était inférieure à celle de cette étude.

Il est important de souligner que les résultats décrits dans la littérature, liés aux effets du Cd sur l'activité de l'AChE sont controversés (Carageorgiou et coll 2004, Luchese et coll 2006). Certaines études ont montré que le cadmium pouvait influencer l'activité de l'AChE de

manière différente après une administration à court et à long terme (Carageorgiou et coll 2004, Fasitsas et coll 1991, Carageorgiou et coll 2005).

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets du cadmium sur l'activité AChE. Casalino et coll (1997) suggèrent que le Cd peut modifier l'activité AChE par le déplacement des ions métalliques du site actif ou par la désactivation directe du site de l'enzyme. En outre, Appleyard et coll (1994) suggèrent de leur part, que l'inactivation de l'enzyme AChE pourrait être le résultat de l'occupation de ses sites actifs par des métaux lourds. Il est important de noter qu'une inhibition de l'activité AChE causée par le cadmium peut conduire à une hydrolyse du neurotransmetteur ACh dans la synapse et potentiellement une quantité anormale de ce neurotransmetteur peut provoquer une sur-activation des récepteurs cholinergiques et générer par la suite des effets toxiques possibles (Walker et coll 2001). D'autre part, il a été rapporté que l'activation d'AChE conduit à une dégradation rapide de l'ACh et à une stimulation ultérieure des récepteurs ACh entraînant des effets indésirables sur les fonctions du système cognitif (Tougu et coll 1996, Soreq et coll 2001).

Concernant le groupe du mélange des métaux il y a une diminution dans toutes les activités étudiées (CAT, GPX, GST, SOD) en ce qui concerne la période du développement (PN5, PN10, PN15, PN21). En effet la majorité des études antérieures portant sur ces enzymes (CAT, GPX, GST, SOD) dans le cerveau entier de rats nouveau-nés ou adultes exposés au mélange des métaux *in vivo*, ont révélé une diminution de leur activité (Yu-mei et coll 2009, Xiaobo et coll 2013, Anushruti et coll 2015).

Pour l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) nos données démontrent que l'inhibition à l'âge de 5 jours est plus forte que l'âge de 10 jours, ainsi qu'au PN15 avec une inhibition au niveau du cervelet (Ghorbel et coll 2016) et au niveau des hémisphères cérébraux mais à l'âge de 21 jours il n'y avait plus de différences significatives, en concordance avec les travaux de Yu-Mei et coll (2009), ayant mesuré l'activité de l'acétylcholinestérase chez les nouveaux nés

(PN0 et PN21) des rats femelles traités pendant la gestation par un mélange de Cd+Pb, ils ont mis en évidence une diminution de l'activité de l'AChE, le mécanisme de cette altération de la fonction cholinergique par les métaux n'est pas clair. Il a été généralement accepté que les métaux désactivent les cholinestérases en se liant à leur site anionique (Simkiss et coll 1993, Guilhermino et coll, 1998), empêchant ainsi l'acétylcholine de se lier à la cholinestérase puis sa dégradation par la suite. En outre d'autres études suggèrent que différents métaux peuvent inhiber l'AChE distinctement à cause de leur propriétés uniques, telles que la taille ionique, la capacité de formation de complexe, l'électro-négativité, et la réduction potentiel (Guilhermino et coll 1998, Grippo et coll 2003). Dans la présente étude, une importante diminution de l'activité de l'AChE a été observée chez groupes expérimentaux par rapport aux témoins, et l'activité de l'AChE était significativement faible dans le groupe du mélange des métaux que dans le groupe Cd (métal individuel), ce qui est cohérent avec les conclusions précédentes (Antonio et coll 2003).

Vu la vulnérabilité des neurones cholinergiques aux métaux, des études ont été menées pour comprendre l'impact des métaux sur les récepteurs cholinergiques, l'activité de l'AChE et d'autres paramètres associée à l'intégrité des fonctions cholinergiques. En accordance avec nos résultats Abdalla et coll (2014) ont révélé une diminution dans l'activité de l'AChE dans le cortex cérébral et aucune modification du striatum lors d'une exposition au Cd chez le rat.

Effet sur la prise alimentaire

Notre étude montre que le poids corporel diminue suite à une exposition au Cd parallèle à une baisse de la prise alimentaire en comparaison avec le groupe non exposé, en revanche l'effet du Cd sur l'évolution du poids corporel au cours de la prise alimentaire a été signalé dans plusieurs travaux. Yuhas et coll (1977), ont montré que l'exposition des rats au Cd dans l'eau de boisson durant 13 semaines n'a pas d'effet sur le poids corporel. Par contre dans plusieurs

autres travaux, une perturbation importante de l'évolution du poids sous effet du Cd a été notée (Itokawa et coll 1974, Kawamura et coll 1978, Takashima et coll 1978). Certains auteurs ont attribué cette perturbation à la diminution de la prise alimentaire, c'est à dire que les rats contaminés présentent des comportements anorexiques (Pond et coll 1975, Cousins et coll 1977, Itokawa et coll 1974). En accord avec les travaux de Takashima et coll (1978) effectués sur des rats, d'autres résultats de Messaoudi et coll (2002) ont montré clairement que chez les Meriones shawi, le Cd entraîne une baisse corporelle qui est liée directement aux effets toxiques de ce métal.

D'autre part l'exposition au mélange des 3 métaux provoque une diminution du gain du poids corporel, au cours de la prise alimentaire ainsi qu'une réduction de la prise de l'eau chez les rats adultes exposés au mélange par rapport aux témoins. Des études faites chez l'homme indiquent que, l'absorption gastro-intestinale du plomb est augmentée lorsque les composés de plomb sont ingérés en l'absence de nourriture, la prise de nourriture est également connue pour réduire l'absorption de nombreuses autres substances, y compris une variété d'antibiotiques, de sédatifs et d'autres médicaments (Goodman et coll 1971) d'autre part une réduction de l'apport alimentaire chez le rat est en rapport avec l'augmentation de la proportion du plomb ingéré dans le corps (Quarterman et coll 1976).

A partir de la combinaison toxicologique des métaux, notamment avec des concentrations très faibles, on peut dire que la compétition d'absorption entre ces métaux ainsi que l'interaction entre eux peuvent expliquer parfois l'effet non observable de la toxicité (Wu et coll 2012, Smith et coll 2012). D'autre part, cette compétition entre les métaux démontrée par plusieurs auteurs peut expliquer l'effet antagoniste en cas de mélange en comparaison avec l'exposition à un métal individuel (Pillai et coll 2002 , 2003 , 2010, Nampoothiri et coll 2008). En effet pour mieux comprendre l'interférence entre les métaux, il y a plusieurs études qui se focalisent sur le sujet d'absorption des métaux au niveau de l'intestin. La plupart des études

réalisées suggèrent que l'absorption des métaux, surtout en cas de Pb et de Cd au niveau de l'intestin, se fait en compétition avec des oligo-éléments à savoir le fer (Fe^{2+}) et le calcium (Ca^{2+}). Effectivement, des expériences *in vivo* chez le rat indiquent que le Cd^{2+} interfère avec l'absorption intestinale de Fe^{2+} , à cause de leur similarité ionique, et suggérant que ces deux ions métalliques pourraient utiliser les mêmes voies de transport (Bunn et coll 1966, Hamilton et coll 1974, Hill et coll 1963, Leon et coll 1985, Schafer et coll 1984).

D'autre part un autre mécanisme potentiel impliqué dans l'absorption du Cd^{2+} dans les entérocytes est le transporteur de Zn. Il a été supposé que le Cd^{2+} imite le Zn^{2+} (similitude des charges) et est transporté dans les entérocytes via un transporteur de Zn^{2+} (hZTL1). Ce transporteur, qui est présent dans la membrane plasmique luminale des entérocytes, est responsable du transport entrant de Zn^{2+} dans ces cellules (Cragg et coll 2001). Compte tenu de cela, il est possible que le Cd^{2+} puisse se substituer au Zn^{2+} sur le site de hZTL1 pour avoir accès au compartiment intracellulaire des entérocytes. D'autres hypothèses suggèrent que le Pb^{2+} peut pénétrer dans les cellules à travers un ou plusieurs différents canaux calciques (Ca^{2+}) exprimés dans diverses cellules du corps. Cette pénétration serait due à la similarité au niveau des rayons ioniques entre le Pb^{2+} (1.19) et celui du Ca^{2+} (1.00), se substituant ainsi au Ca^{2+} sur le site des transporteurs de Ca^{2+} (Kerper et coll 1997a et 1997b, Reuter 1983, Simons 1993, Simons et coll 1987), cela peut expliquer certains effets atténués observés chez le groupe traité par le mélange des métaux, en comparaison avec le groupe traité par un métal individuel dans la présente étude.

Conclusion

Notre travail avait pour objectif principal d'évaluer, sur un modèle animal, les effets toxiques à court et à long terme d'un mélange de métaux lourds à savoir le Cd, le Pb et l'Al et de le comparer à l'effet d'une monoexposition au Cd et nous avons analysé l'impact de cette intoxication sur le système nerveux en développement et immature. Ainsi, nous avons étudié le développement moteur et sensoriel, le comportement individuel et les changements biochimiques au niveau des différentes structures cérébrales. L'étude des trois périodes d'exposition à savoir la période de gestation, l'allaitement, l'adolescence et l'âge adulte a permis de comparer la sensibilité et la vulnérabilité du système nerveux à la toxicité en fonction des périodes étudiées.

L'exposition pré- et post-natale au Cd ou bien au mélange de métaux via l'organisme maternel est fortement toxique aussi bien pour les mères gestantes que pour la descendance chez les rats. Il en résulte une altération du comportement maternel bien mise en évidence par une diminution de paramètres testés tels que le ramassage de ratons ou encore la construction des nids. Ce sont là autant d'indices révélateurs de reprotoxicité principalement.

Chez la descendance, les métaux étudiés sont responsables d'un retard global des réflexes innés et d'un déficit de développement moteur, témoignant d'un état de toxicité développementale.

Il est à noter que l'exposition à ces métaux que ce soit en périodes gestationnelle, postnatale et adulte, est capable d'induire des modifications comportementales et cognitives. Les animaux expérimentés, ont présenté en effet, une diminution de l'activité locomotrice, de l'apprentissage et de la mémoire. De plus, les animaux exposés ont montré un comportement anxieux et dépressif.

Aux niveaux cérébral, hépatique et rénal, les métaux ont induit une panoplie de changements biochimiques et neurochimiques témoignant d'un déséquilibre du système de défense anti-oxydant, générant une cascade des espèces réactives de l'oxygène qui pourraient être impliquées dans les altérations comportementales et cognitives qui ont été mises en évidence.

Au final, l'ensemble de ces résultats permet de conclure au potentiel toxique et particulièrement neurotoxique des métaux étudiés, bien qu'administrés à de faibles doses. L'effet période reste un élément déterminant pour le profil toxicologique des métaux et l'effet mélange est encore plus marqué comparé à la monoexposition.

Perspectives

Il faudra faire suite à cette étude en analysant les effets des autres métaux en exposition individuelle (Pb et Al), ainsi que dans le cas de mélange de deux métaux (Al et Cd / Al et Pb / Pb et Cd), pour mieux comprendre le mécanisme d'interaction entre les métaux.

Afin de cerner davantage le rôle de la période d'exposition dans la toxicité induite par ces métaux sur le SNC en développement. Il serait donc intéressant que l'exposition aux femelles soit limitée à la période de gestation.

Par ailleurs, notre travail suggère que le passage de Cd à l'intérieur de la cellule par un mécanisme impliquant le calcium, le fer ou même le zinc, donc il serait par exemple intéressant d'étudier de façon plus approfondie le rôle du zinc qui, à certaines concentrations, intervient dans la réparation de l'ADN, dans l'expression des Métallothioneines et dans la lutte contre le stress oxydant, en présence de ce métal.

Le rôle du système cholinergique dans la toxicité induite par ces métaux pourrait être exploré de manière plus approfondie, en réalisant un dosage cérébral de l'acétylcholine notamment au niveau des zones impliquées dans le contrôle de la locomotion et de la mémoire.

Il serait intéressant d'étudier l'expression du transporteur du glutamate au niveau des différents tissus analysés afin de rendre compte du statut du glutamate au vu de son excitotoxicité comme neurotransmetteur mais également du fait qu'il est partie constitutive du glutathion.

Références bibliographiques

- Gupta A, and Shukla G. S, 1996. Ontogenic profile of brain lipids following perinatal exposure to cadmium. *Journal of Applied Toxicology* 16: 227–233.
- Lafuente A, M´arquez N, Piquero S, and I Esquifino A, 1999. Cadmium affects the episodic luteinizing hormone secretion in male rats: possible age-dependent effects. *Toxicology Letters* 104: 27–33.
- Zarros A, Kalopita K, Tsakiris S, and Baillie G S, 2013. Can acetylcholinesterase activity be considered as a reliable biomarker for the assessment of cadmium-induced neurotoxicity. *Food and Chemical Toxicology* 56: 406–410.
- Ronco AM, Urrutia M, Montenegro M, Llanos MN, 2009. Cadmium exposure during pregnancy reduces birth weight and increases maternal and foetal glucocorticoids. *Toxicology Letters* 188: 186–191.
- Abdalla FH, Schmatz R, Cardoso AM, Carvalho FB, Baldissarelli J, de Oliveira JS, Rosa MM, Nunes MAG, Rubin MA, da Cruz IB, 2014. Quercetin protects the impairment of memory and anxiogenic-like behavior in rats exposed to cadmium: possible involvement of the acetylcholinesterase and Na⁺ , K⁺ -ATPase activities. *Physiol Behav* 135:152–167
- Aebi H, 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105: 121-126.
- Afifi OK, Embaby AS, 2016. Histological Study on the Protective Role of Ascorbic Acid on Cadmium Induced Cerebral Cortical Neurotoxicity in Adult Male Albino Rats. *Microscopy and Ultrastructure* 4 :36-45. <http://doi.org/10.1016/j.jmau.2015.10.001>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) 2005. Toxicological profile for lead. (Draft for Public Comment). Atlanta, GA: U.S. *Department of Health and Human Services, Public Health Service*; pp.43–59.
- Ahammadsahib KI, Ramamurthi R, Dusaiah D, 1987. Mechanism of inhibition of rat brain (Na⁺–K⁺)-stimulated adenosine triphosphatase reaction by cadmium and methyl mercury. *J Biochem Toxicol* 2:169–180
- Alberts P, Ögren V, Sellström Å, 1985. Cadmium inhibition of [3 H]acetylcholine secretion in guinea-pig ileum myenteric plexus. *Acta Physiol Scand* 124:313–316.

- Alexia T, April B, Nghiem B, Deanna, Lisa A, Yuva P, Richard P, 2009. Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. *Psychopharmacology* 204:361–373.
- Alfrey AC, Hegg A, Craswell P, 1980. Metabolism and toxicity of aluminum in renal failure. *American Journal of Clinical Nutrition* 33: 1509-16
- Alloway BJ, 2013. Bioavailability of elements in soil. *Essentials of medical geology*. 351–73.
- Allwood MC, Sizer T, Driscoll DF, Ball PA, 1999. Aluminium in parenteral nutrition ad mixtures: an unnecessary risk. *Nutrition* 15: 958–959.
- Altenburger R, Backhaus T, Boedeker W, Faust M, Scholze M, 2013. Simplifying complexity: mixture toxicity assessment in the last 20 years. *Environ Toxicol Chem* 32:1685–1687.
- Altenburger R, Backhaus T, Boedeker W, Faust M, Scholze M, Grimme LH, 2000. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environ Toxicol Chem* 19:2341–2347.
- Altmann P, Dhanesha U, Hamon C, Cunningham J, Blair J, Marsh F, 1989. Disturbance of cerebral function by aluminium in haemodialysis patients without overt aluminium toxicity. *Lancet* 2: 7-12.
- Alvito P, Alvares Alf, Shigeru S, Karl E, Anderson, Attallah K, 1995. Lead intoxication: Effects on cytochrome P-450-mediated hepatic oxidations.
- Amita G, Alka G and Girja S Sh, 1995. Development of brain free radical scavenging system and lipid peroxidation under the influence of gestational and lactational cadmium exposure Neurotoxicology Research Group. *Chem Biol Interact* 165:127–37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2006.11.007>.
- Andersen O, Nielsen JB, Nordberg GF, 2004. Nutritional interactions in intestinal cadmium uptake possibilities for risk reduction. *Biometals* 17:543-7.
- Andersen H R, Nielsen J B, and Grandjean P, 2000. Toxicologic evidence of developmental neurotoxicity of environmental chemicals. *Toxicology* 144: 121-127.
- Angoa-Pérez M, Kane M, Briggs J, Francescutti DI, and Kuhn, 2013. Marble burying and nestlet shredding as tests of repetitive, compulsive-like behaviors in mice. *Visualized* 24: 50978.
- Anna F , Barbara K , Ottó P , Nuria D , Cristina R , David R , Diana B , Krisztina B , Roser N , Dóra Z, 2012. Maternal neglect with reduced depressive-like behavior and

blunted c-fos activation in Brattleboro mothers, the role of central vasopressin. *Hormones and Behavior* 62: 539–551.

- Antonio M T, Corredor L, Leret M L, 2003. Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicol Lett* 143:331-40.
- Anushruti A, Nagendra Kumar R, Sachin T, Sanghamitra B, 2015. Exposure to As-, Cd-, and Pb-Mixture Induces Ab, Amyloidogenic APP Processing and Cognitive Impairments via Oxidative Stress-Dependent Neuroinflammation in Young Rats, *Toxicological sciences* 143: 64–80.
- Appleyard ME, 1994. Non-cholinergic functions of acetylcholinesterase. *Biochem Soc Trans* 22:749–55.
- Arivazhagana b, Panneerselvam C, 2002. Neurochemical changes related to ageing in the rat brain and the effect of DL- α -lipoic acid . *Experimental Gerontology* 37 :1487–1492
- Askin DP, Volkmann M, 1997. Effect of personal hygiene on blood lead levels of workers at a lead processing facility. *Am Ind Hyg Assoc* 58:752–753.
- ATSDR , 1999. Toxicological Profiles for aluminium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S department of Health and Human Services, *Public Health Services*.
- ATSDR, 2008. Toxicological profiles for Cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>.
- Ognjanović BI, Pavlović SZ, Maletić SD, Ikić RV, Tajn A, RADOJIČIĆ RM, SAIČIĆ ZS, PETROVIĆ VM, 2003. Protective Influence of Vitamin E on Antioxidant Defense System in the Blood of Rats Treated with Cadmium. *Physiology* 52: 563-570.
- Baer K.N, and Benson W.H. (1987) - Influence of chemical and environmental stressors on acute cadmium toxicity. *J Toxicol Environ Health*, 22, 1, 35-44.
- Balistrieri LS, Mebane CA (2014) Predicting the toxicity of metal mixtures. *Sci Total Environ* 466:788–799.
- Bao. Q.-S, C.-Y. Lu, H. Song (2009) “Behavioural development of school-aged children who live around a multi-metal sulphide mine in Guangdong province, China: a cross-sectional study,” *BMC Public Health*, vol. 9, article 217.

- Barnhart S. and Rosenstock L. (1984) - Cadmium chemical pneumonitis. *Chest*, 86, 5, 789-791.
- Barrett H.M. and Card B.Y. (1947) - Studies on the toxicity of inhaled cadmium; the acute lethal dose of cadmium oxide for man. *J Ind Hyg Toxicol*, 29, 5, 286-293.
- Basile A, Sorbo S, Conte B, Cobianchi RC, Trinchella F, Capasso C, Carginale V (2012) Toxicity, accumulation, and removal of heavy metals by three aquatic macrophytes. *Int J Phytorem* 14:374–387.
- Basinger M.A., Jones M.M., Holscher M.A. and Vaughn W.K. (1988) - Antagonists for acute oral cadmium chloride intoxication. *J Toxicol Environ Health*, 23, 1, 77-89.
- Behrend, L., Henderson, G., and Zwacka, R. M. (2003). Reactive oxygen species in
- BELLINGER D, DIETRICH KN. (1994) Low-level lead exposure and cognitive function in children. *Pediatr Ann* , 23: 600-605
- BELLINGER D, HU H. TITLEBAUM L, NEEDLEMAN H. (1994) Attentional correlates of dentin and bone lead levels in adolescents. *Arch Environ Health* , 49: 98-105
- Bellinger DC. (2004). Lead. *Pediatrics* 113: 1016–1022.
- BERGOMI M, BORELLA P. FANTUZZI G. VIVOLI G. STYRLONI N et coll. (1989) Relationship between lead exposure indicators and neuropsychological performance in children. *Dev Med Child Neurol*, 31: 181-190
- Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD (2000) The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 1:11-21.
- Beyer J, Petersen K, Song Y, Ruus A, Grung M, Bakke T, Tollefsen KE (2013) Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: a discussion paper. *Mar Environ Res* 96:81–91.
- Bismuth C. (2000) *Toxicologie clinique. Médecine-Sciences*. Ed. Flammarion,; P : 1092.
- Bismuth C. et al. (2000) *Plomb, Toxicologie Clinique*, Paris: Flammarion Médecine-sciences, , p.638-55
- Bjorling-Poulsen, M., Andersen, H. R., and Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environ Health* 7, 50.
- Bonithon-Kopp.c , G. Huel, and C. Grasmick, (1986)“Effects of pregnancy on the inter-individual variations in blood levels of lead, cadmium and mercury,” *Biological Research in Pregnancy and Perinatology*, vol. 7, no. 1, pp. 37–42,.

- Brain PF, Kurishinal H, Whiting K, Restall CJ. (1994) An ethopharmacological approach to behavioral teratology. In: Cooper SJ, Hendrie CA, editors. Ethology and psychopharmacology. New York: John Wiley & Sons Ltd.; p. 224–39.
- Branca JJV, Morucci G, Maresca M, Tenci B, Cascella R, Paternostro F, Ghelardini C, Gulisano M, Di Cesare Mannelli L, Pacini A (2018) Selenium and zinc: Two key players against cadmium-induced neuronal toxicity. *Toxicol In Vitro* 48:159-169.
- Brent JA. (2006). Review of: “Medical Toxicology”. *Clin Toxicol* 44: 355–355.
- BRIGNON J.M, L. MALHERBE, C. CANTUARIAS-VILLESSUZANNE, (30/01/2017) *INERIS*,
- Brusewitz S. (1984) - Aluminum University of Stockholm Institute of Physics. Report No.. P : 11-18.
- Buckler H.M., Smith W.D. and Rees W.D. (1986) - Self poisoning with oral cadmium chloride. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 292, 6535, 1559-1560.
- Cadenas, E., 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu. Rev. Biochem.* 58, 79–110.
can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* ;110:627–39.
- Carageorgiou H, Tzotzes V, Pantos C, Mourouzis C, Zarros A, Tsakiris S (2004) In vivo and in vitro effects of cadmium on adult rat brain total antioxidant status, acetylcholinesterase, (Na⁺,K⁺)-ATPase and Mg²⁺-ATPase activities: protection by L-cysteine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 94:112–118
- Carageorgiou H, Tzotzes V, Sideris A, Zarros A, Tsakiris S (2005) Cadmium effects on brain acetylcholinesterase activity and antioxidant status of adult rats: modulation by zinc, calcium and L-cysteine co-administration. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 97:320–324
- Carobrez, A. P., and Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 1193- 1205.
- Carpenter DO, Arcaro K, Spink DC (2002) Understanding the human health effects of chemical mixtures. *Environ Health Perspect* 110: 25–42.
- Carrière V, Chambaz Jet Rousset M. (2001) . Intestinal responses to xenobiotics. Session 4: Xenobiotics and Gene Expression. *Toxicology in Vitro* p 373-378.

- Casalino E, Sblano C, Landriscina C (1997) Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 346(2): 171–179
- Chance, B., Sies, H., and Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological reviews* 59, 527-605.
- Charles J, Crini G, Degiorgi F, Sancey B, Morin-Crini N, Badot P-M (2014) Unexpected toxic interactions in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) exposed to binary copper and nickel mixtures. *Environ Sci Pollut Res* 21:1099–1111.
- Chedid F., Fudge A., Teubner J., James SL., Simmer K. (1991) Aluminium absorption in infancy. *J. Paediatr. Child Health.* 27. P: 164-166.
- Chen J et al (2013) Comparison of two mathematical prediction models in assessing the toxicity of heavy metal mixtures to the feeding of the nematode (*Caenorhabditis elegans*). *Ecotoxicol Environ Safe* 94: 73–79.
- Chen L, Xu B, Liu L, Luo Y, Zhou H, Chen W, Shen T, Han X, Kontos CD, Huang S (2011) Cadmium induction of reactive oxygen species activates the mTOR pathway, leading to neuronal cell death. *Free Radic Biol Med* 50 (5):624-632. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.032
- Choong G, Liu Y, Templeton DM (2014) Interplay of calcium and cadmium in mediating cadmium toxicity. *Chem Biol Interact* 211:54- 65.
- Cleveland LM, Minter ML, Cobb KA, Scott AA, German VF. (2008). Lead hazards for pregnant women and children: Part 1: immigrants and the poor shoulder most of the burden of lead exposure in this country. Part 2 how exposure happens, whom it affects, and the harm it can do. *Am J Nurs* 108: 40–49; quiz 50.
- Costa, L. G., Aschner, M., Vitalone, A., Syversen, T., and Soldin, O. P. (2004).
- COUSINS, R., K.S. SQUIBB, S.L. FELDMAN, A. DE BARI et B.L. SILBON, (1977). - Bio-medical responses of rats to chronic exposure to dietary cadmium fed in ad libitum and equalized regimes. *J. Toxicol. Environ. Res.*, 2: 929-943.
- Crapo, J. D., Oury, T., Rabouille, C., Slot, J. W., and Chang, L. Y. (1992). Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89, 10405-9.

- D. R. Abernethy, A. J. DeStefano, T. L. Cecil, K. Zaidi, and R. L. Williams, (2010) - "Metal impurities in food and drugs," *Pharmaceutical Research*, vol. 27, no. 5, pp. 750–755,.
- Davison AG, Fayers PM, Taylor AJ, Venables KM, Darbyshire J, Pickering CA, et al. (1988) Cadmium fume inhalation and emphysema. *Lancet*;1(8587):663–7.
- Day J.P., Barker J., King R.V., Miller J and al. (1994) Biological chemistry of aluminium studied using Al and accelerator mass spectrometry. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*; 92. P: 463-468.
- Del Pino J, Zeballos G, Anadon MJ, Capo MA, Díaz MJ, García J, Frejo MT (2014) Higher sensitivity to cadmium induced cell death of basal forebrain cholinergic neurons: a cholinesterase dependent mechanism. *Toxicology* 325:151–159
- Delattre J, Beaudoux J-L, Bonnefont-Rousselot D. (2005) Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques*. Paris : Lavoisier,.
- Desi, L. Nagymajtenyi, and H. Schulz, (1998) - "Behavioural and neurotoxicological changes caused by cadmium treatment of rats during development," *Journal of Applied Toxicology*, vol. 18, no. 1, pp. 63–70,.
- Desideri, A., and Falconi, M. (2003). Prokaryotic Cu,Zn superoxide dismutases. *Biochemical Society transactions* 31, 1322-5.
Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol*
- Dinman B.D., E. Bingham, B. Cohrssen, Ch. Powell. (2001)Aluminium In Patty's toxicology 5ème Ed. J. Wiley. 2. P : 353-415.
- DIRECTIVE DÉLÉGUÉE 2014/15/UE DE LA COMMISSION du 18 octobre 2013, *Journal officiel de l'Union européenne*
- Domínguez-Cortinas G, Díaz-Barriga F, Martínez-Salinas RI, Cossío P, Pérez-Maldonado IN (2013) Exposure to chemical mixtures in Mexican children: high-risk scenarios. *Environ Sci Pollut Res* 20: 351–357.
- Dopp E, von Recklinghausen U, Diaz-Bone R, Hirner A, Rettenmeier A (2010) Cellular uptake, subcellular distribution and toxicity of arsenic compounds in methylating and non-methylating cells. *Environ Res* 110:435–442.
- Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM. (1992) Intraventricular infusions of anti-neural cell adhesion molecules in a discrete posttraining period impair consolidation of a passive avoidance response in the rat. *J Neurochem.*;59(4):1570–3,

- Dwivedi C (1983) Cadmium-induced sterility: possible involvement of the cholinergic system. *Arch Environ Contam Toxicol* 12(2):151–156.
- E. Herba, D. Pojda-Wilczek, S. M. Pojda, A. Plech, and R. Brus, (2001) - “The effect of serotonin on flash visual evoked potential in the rat prenatally exposed to cadmium,” *Klinika Oczna*, vol. 103, no. 2-3, pp. 81–84,.
- E. L’opez, S. Figueroa, M. J. Oset-Gasque, and M. P. Gonz’alez, (2003) - “Apoptosis and necrosis: two distinct events induced by cadmium in cortical neurons in culture,” *British Journal of Pharmacology*, vol. 138, no. 5, pp. 901–911,.
- E. P. Rico, D. B. Rosemberg, M. R. Senger et al., (2006) - “Methanol alters ectonucleotidases and acetylcholinesterase in zebrafish brain,” *Neurotoxicology and Teratology*, vol. 28, no. 4, pp. 489– 496,.
- Elliott HL, Macdougall AI, Haase G, Cumming RL, Gardiner PH, Fell GS. (1978) Plasmapheresis in the treatment of dialysis encephalopathy [letter]. *Lancet*; 2(8096). P: 940-1.
- Ellman G.L., Courtney K.D., ANDRES V., Featherstone R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7: 88-95.
- Environment Agency (EA) (2009): Contaminants in soil: Updated collation of toxicological data and intake values for humans. Cadmium. Science report: SC050021 / TOX 3. Environment Agency. Bristol, Uk.
- Expertise Collective INSERM, (1999) Plomb dans l’environnement. Quels risques pour la santé ? Paris: éditions INSERM;., 461p extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human dermal fibroblasts. *The Biochemical journal* 298 (Pt 2), 347-52.
- F. Salvatori, C.B. Talassi , S.A. Salzgeber , H.S. Spinosa, M.M. Bernardi, (2004) Embryotoxic and long-term effects of cadmium exposure during embryogenesis in rats, *Neurotoxicology and Teratology* 26 673 – 680
- FAO/WHO, (1988) - “Evaluation of certain food additives and contaminants (Thirty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives),” WHO Technical Report Series No. 776, WHO, Geneva, Switzerland,.
- Fasitsas CD, Theocharis SE, Zoulas D, Chrissimou S, Deliconstantinos G. (1991) Time-dependent cadmium-neurotoxicity in rat brain synaptosomal plasma membranes. *Comp Biochem Physiol C* ;100:271–5.

- Fátima H. Abdalla ,b, Roberta Schmatz , Andréia M. Cardoso , Fabiano B. Carvalho ,
- Flarend R. Et al. (2001) A preliminary study of the dermal absorption of aluminium from antiperspirants using aluminium-26. *Food Chem Toxicol*; 39(2). P: 163-8.
- Flohe L., Gunzler W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*. 105: 114-121.
- Flora SJ, Flora G, Saxena G. (2007). Mishra, M. Arsenic and lead induced free radical generation and their reversibility following chelation. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 53: 26–47.
- Flora SJS, Flora G, Saxena G. (2006). Environmental occurrence, health effects and management of lead poisoning. (In: Jose, S. C, Jose, S., eds. *Lead*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.). pp. 158–228.
- Flora SJS. (2002). Nutritional components modify metal absorption, toxic response and chelation therapy. *J Nut Environ Med* 12: 53–67.
- Flora SJS. (2011) Arsenic induced oxidative stress and its reversibility. *Free Rad Biol Med* 51: 257–281.
- François Testud (1997) ; pathologie toxique en milieu de travail. P : 111
- Fullmer CS, (1990) Intestinal lead and calcium absorption : effect of 1.25-dihydroxycholecalciferol and lead status, *Proc Soc Exp Biol Med.*; 194:258-64
- G. S. Shukla and S. V. Chandra, (1987) - “Concurrent exposure to lead, manganese, and cadmium and their distribution to various brain regions, liver, kidney, and testis of growing rats,” *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 16, no. 3, pp. 303–310,.
- Garnier R.(2005), *Toxicité du plomb et de ses dérivés*, EMC (Elsevier Masson SAS) *Pathologie Professionnelle et de l’Environnement*,; p. 67-88
- Garrel, C., Ceballos-Picot, I., Germain, G., and Al-Gubory, K. H. (2007). Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2alpha-induced luteal cell death in vivo. *Free radical research* 41, 251-9.
- Gasem M. Abu-Taweel , Jamaan S. Ajarem , Mohammad Ahmad, (2012) Neurobehavioral toxic effects of perinatal oral exposure to aluminum on the developmental motor reflexes, learning, memory and brain neurotransmitters of mice offspring, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 101 49–56.
- Giaginis C, Gatzidou E, Theocharis S (2006) DNA repair systems as targets of cadmium toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 213:282-290.

- Gill KD, Pal R & Nath R. (1989) Effect of cadmium on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in undernourished weanling rat brain. *Pharmacology and Toxicology*; 65: 73-7.
- Ginsberg, G., Hattis, D., and Sonawane, B. (2004). Incorporating pharmacokinetic differences between children and adults in assessing children's risks to environmental toxicants. *Toxicol Appl Pharmacol* 198, 164-183.
- Gkanti V, Stolakis V, Kalafatakis K, Liapi C, Zissis KM, Zarros A, Tsakiris S (2014) Postnuclear supernatants of rat brain regions as substrates for the in vitro assessment of cadmium-induced neurotoxicity on acetylcholinesterase activity. *Biol Trace Elem Res* 158(1):87–89
- Goncalves JF, Fiorenza AM, Spanevello RM, Mazzanti CM, Bochi GV, Antes FG, et al. (2010) N-acetylcysteine prevents memory deficits, the decrease in acetylcholinesterase activity and oxidative stress in rats exposed to cadmium. *Chem Biol Interact* ;186:53–60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2010.04.011>.
- Goodman, I., and Gilman. (1971) *Pharmacological Basis of Therapeutics*. London: MacMillan, , p. 5.
- Gourier-Fréry et Fréry (2004) *EMC-Toxicologie Pathologie* 1. P : 79–95
- Grandjean, P., and Landrigan, P. J. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 368, 2167-2178. Adinolfi, M. (1985). The development of the human blood-CSF-brain barrier. *Dev Med Child Neurol* 27, 532-537.
- Grant LD. (2008). Lead and compounds. *Environmental Toxicants* (John Wiley & Sons, Inc.). pp. 757–809.
- Grippo M A, Heath A G (2003). The effect of mercury on the feeding behaviour of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicol Environ Saf* 55, 187-198.
- Guilhermino L, Barros P, Silva M C, et al. (1998). Should the use of inhibition of cholinesterases as a specific biomarker for
- H. Korpela, R. Loueniva, E. Yrjanheikki, and A. Kauppila, (1986) - “Lead and cadmium concentrations in maternal and umbilical cord blood, amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes,” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 155, no. 5, pp. 1086–1089,.
- H. Nishio, S. Kasuga, M. Ushijima, Y. Harada, (2001) Prenatal stress and postnatal development of neonatal rats—sex-dependent effects on emotional behavior and learning ability of neonatal rats, *Int. J. Dev. Neurosci.* 19 37 – 45.

- Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. (1974). Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249: 7130-7139.
- Halliwell B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* 13: 1-32.
- Hamada, S. (1989) Study of trace elements in bovine permanent teeth germ. *Kanagawa Shigahu*, 24(1):24-37,.
- Hana KubovB, Renata HaugvicovB, Lucie SuchomelovB, and Pavel Mare,(2000) Does Status Epilepticus Influence the Motor Development of Immature Rats?, *Epilepsia*, 41(Suppl. 6):S64-S69.
- Hansen o, trillingsgaard a, beese 1, lyngbye t, grandjean pa. (1989) Neuropsychological study of children with elevated dentine lead level. Assessment of the effect of lead in different socio-economic groups. *Neurotoxicol Teratol* , 11: 205-2013
- Harris, A. L., and Hochhauser, D. (1992). Mechanisms of multidrug resistance in cancer treatment. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)* 31, 205-13
- Harris, E. D. (1992). Regulation of antioxidant enzymes. *Faseb J* 6, 2675-83.
- Hartwig A, Asmuss M, Blessing H, Hoffmann S, Jahnke G, Khandelwal S, Pelzer A, Burkle A (2002) Interference by toxic metal ions with zinc-dependent proteins involved in maintaining genomic stability. *Food Chem Toxicol* 40:1179-1184.
- Hayashi H, Takayama K (1978) Inhibitory effects of cadmium on the release of acetylcholine from cardiac nerve terminals. *Jpn J Physiol* 28(3):333–345
- Heard MJ et al. (1983)Uptake of lead by humans and effect of minerals and food, *Sci Total Environ.*; 30:245-53
- Hermes-Lima, M., 2005. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Storey, K.B. (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, pp. 319–368.
- Hermes-Lima, M., Zenteno-Savín, T., (2002). Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp Biochem Phys C* 133, 537-556.
- Houlot R. (1984). *Techniques d’histopathologie et de cytopathologie*. Ed. Maloine. 19-21, 225-227.
- I. Esquifino, N. M´arquez, E. Alvarez-Demanuel, and A. Lafuente, (1999) - “Effects of chronic alternating cadmium exposure on the episodic secretion of prolactin in male

rats,” *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 12, no. 4, pp. 205–210,.

- I. Messaoudi et r. Ben chaouacha-chekir, (2002) Fixation du cadmium (Cd) par differents tissus et ses effets sur le poids corporel et la calcemie chez un rongeur Gerbillide, *Meriones sham sham* , 66, n° 4, : 553-562.
- Imen Ghorbel , Ibtissem Ben Amara, Naourez Ktari, Awatef Elwej , Ons Boudawara, Tahia Boudawara, Najiba Zeghal, (2011) Aluminium and Acrylamide Disrupt Cerebellum Redox States, Cholinergic Function and Membrane-Bound ATPase in Adult Rats and Their Offspring, *Biol Trace Elem Res* DOI 10.1007/s1-016-0716-1 . interactions 160, 1-40.
- IPCS (1995) Environmental health criteria 165, Inorganic Lead, (International Programme on Chemical Safety), Geneva: WHO;, 300p
- Itokawa, y., a. Tomoko et r. Tabei, (1974). - Renal and skeletal lesions experimental Cadmium poisoning. *Arch. Environ. Health*. 28: 149-154.
- J. F. Goncalves, A. M. Fiorenza, R. M. Spanevello et al., (2010) - “N-acetylcysteine prevents memory deficits, the decrease in acetylcholinesterase activity and oxidative stress in rats exposed to cadmium,” *Chemico-Biological Interactions*, vol. 186, no. 1, pp. 53–60,.
- J. F. Goncalves, F. T. Nicoloso, P. da Costa et al., (2012) - “Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 50, no. 10, pp. 3709–3718,.
- J.L. Domingo, A. Domingo, M.T. Colomina, (2004) Influence of maternal stress on metal-induced pre- and postnatal effects in mammals: a review, *Biol. Trace Elem. Res.* 98 193 – 208
- Jacob, C., Knight, I., and Winyard, P. G. (2006). Aspects of the biological redox chemistry of cysteine: from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. *Biol Chem* 387, 1385-97.
- Jacopo Junio Valerio Branca, Gabriele Morucci, Alessandra Pacini, (2019) Cadmium-induced neurotoxicity: still much ado, *NEURAL REGENERATION RESEARCH*, 13(11):1879-1882. doi:10.4103/1673-5374.239434.
- Järup L, Persson B, Edling C, Elinder CG. (1993)- Renal function impairment in workers previously exposed to cadmium. *Nephron* ;64:75–81.
- Jean PILETTE, (2004) European Forum for Vaccine Vigilance..P : 22-11.

- Jirkof, P., Fleischmann, T., Cesarovic, N., Rettich, A., Vogel, J., & Arras, M. (2013). Assessment of postsurgical distress and pain in laboratory mice by nest complexity scoring. *Laboratory Animals*, 47(3), 153–161.
- Jomova K, Valko M (2011) Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 283:65-87.
- Jucimara Baldissarelli , Juliane Sorraila de Oliveira , MichelleM. Rosa , Matheus Augusto Gonçalves Nunes , Maribel A. Rubin , Ivana B.M. da Cruz , Fernanda Barbisan , Valderi L. Dressler , Luciane B. Pereira , Maria Rosa C. Schetinger , VeraM.Morscha, Jamile F. Gonçalves , Cinthia M. Mazzanti, (2014) Quercetin protects the impairment of memory and anxiogenic-like behavior in rats exposed to cadmium: Possible involvement of the acetylcholinesterase and Na⁺,K⁺-ATPase activities, *Physiology & Behavior*, 135 152–167.
- Kaehny WD, Hegg AP, Alfrey AC. (1977) Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminum-containing antacids. *New England Journal of Medicine*. 296(24) P :1389-90.
- Katsuta, O.; Hiratsuka, H.; Matsumoto, J.; Tsuchitani, M. & Umemura. T. (1996) Cadmium-induced dental lesions in ovariectomized rats. *Toxicol. Pathol.*, 24(4):451-7,.
- Kawamura, j., o. Yoshida, k. Nishino et y. Itokawa, (1978). - Disturbances in kidney functions and Calcium and Phosphate metabolism in Cadmium - poisoned rats. *Nephron*. 20: 101-110.
- Khosla S.N., Nand N. And Khosla P. (1988) - Aluminum phosphide poisoning. *J Trop Med Hyg*, 91, 4,P : 196-198.
- Kihara, T. (1991). Effects of the prenatal ochratoxin A exposure on behaviors of rat offspring. *Acta Med. Kinki Univ*. 16, 1–22.
- Kihara, T. (1991). Effects of the prenatal ochratoxin A exposure on behaviors of rat offspring. *Acta Med. Kinki Univ*. 16, 1–22.
- Klein GL. (1995) Aluminium in parenteral solutions revisited again-. *Am J Clin Nutrition*. 61.P :449–568.
- Kostial K., Kello D., Jugo S., Rabar I. and Maljkovic T. (1978) - Influence of age on metal metabolism and toxicity. *Environ Health Perspect*, 25, 81-86.
- Kotsonis F.N. and Klaassen C.D. (1978) - The relationship of metallothionein to the toxicity of cadmium after prolonged oral administration to rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 46, 39-54.

- Kousba, A. A., Sultatos, L. G., Poet, T. S., and Timchalk, C. (2004). Comparison of chlorpyrifos-oxon and paraoxon acetylcholinesterase inhibition dynamics: potential role of a peripheral binding site. *Toxicol Sci* 80, 239-248.
- Kuhlmann, A.C., McGiothan, J.L., Guilarte, T.R., (1997). Developmental lead exposure causes spatial learning deficit in adult rats. *Neurosci. Lett.* 233, 101/104.
- Kumar A, Dogra S, Prakash A. (2009) Protective effect of curcumin (*Curcuma longa*), against aluminium toxicity: possible behavioral and biochemical alterations in rats. *Behav Brain Res*;205:384–90.
- Kumar R, Agarwal AK, Seth PK (1996) Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium. *Toxicol Lett* 89:65-69.
- Kumar S. (2002) Aluminium-induced changes in the rat brain serotonin system. *Food Chem Toxicol*;40:1875–8
- L. Bucio, V. Souza, A. Albores et al., (1995) - “Cadmium and mercury toxicity in a human fetal hepatic cell line (WRL-68 cells),” *Toxicology*, vol. 102, no. 3, pp. 285–299,.
- L. Friberg, (1983) “Cadmium,” *Annual Review of Public Health*, vol. 4, pp. 367–373,.
- L. Jarup, A. Rogenfelt, and C. G. Elinder, (1983) - “Biological half-time of cadmium in the blood of workers after cessation of exposure,” *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, vol. 9, no. 4, pp. 327–331,.
- L.A. and Paylor, R. (2009) Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. *Psychopharmacology (Berl)*, 204, 361-373.
- L’opez . E, C. Arce, M. J. Oset-Gasque, S. Cañadas, and M. P. Gonz’alez, (2006) “Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 40, no. 6, pp. 940–951.
- Lafuente and A. I. Esquifino, (1999) - “Cadmium effects on hypothalamic activity and pituitary hormone secretion in the male,” *Toxicology Letters*, vol. 110, no. 3, pp. 209–218,.
- Lasley, S.M., Polan-Curtain, J., Armstrong, D.L., (1993). Chronic exposure to environmental levels of lead impairs in vivo induction of long-term potentiation in rat hippocampal dentate. *Brain Res.* 614 (1 /2) 347/351.

- Lauwerys R.R, Hoet P. (2001) Industrial chemical exposure : Guidelines for biological monitoring. Lewis publishers. 3rd Ed; P : 638.
- Lauwerys R.R. (1990) - Cadmium. Paris, Masson, pp. 136-149.
- Lauwerys RR, Hoet P. (2001) Industrial chemical exposure: Guidelines for biological monitoring. London: Lewis publishers;. P : 638.
- Lee DS, Garland JA, Fox AA. (1994) Atmospheric concentrations of trace elements in urban areas of the United Kingdom. Atmosph Environ. 28. P : 2691–2713.
- Lefcourt A.M , Meisinger J .J, (2001)« Effet of adding alum or zeolite to dairy slurry on ammonia volatilization and chemical composition » 84(8):1814-21.
- Lessler M. A., Lead and lead poisoning from Antiquity to Modern Times, Ohio J. Sci. 1988, 88, 78-84
- Letzel S, Schaller KH, Angerer J, Drexler H, Weber A, Schmid K, et al. (1996) Biological monitoring of occupational aluminium powder exposure. Occup Hyg;3. P:271–280.
- Lowry Oliver h, nira j. Rosebrough, a. Lewis farr, and rose j. Randall (1951) protein measurement with the folin phenol reagent
- Lucas P.A., Jariwalla A.G., Jones J.H., Gough J. and Vale P.T. (1980) - Fatal cadmium fume inhalation. Lancet, 2, 8187, 205.
- Luchese C, Zeni G, Rocha JB, Nogueira CW, Santos FW. (2007) Cadmium inhibits deltaaminolevulinate dehydratase from rat lung in vitro: interaction with chelating
- M. Mendez-Armenta and C. Rios, (2007) - “Cadmium neurotoxicity,” Environmental Toxicology and Pharmacology, vol. 23, no. 3, pp. 350–358,.
- M. N. Mead, (2010) - “Cadmium confusion do consumers need protection?” Environmental Health Perspectives, vol. 118, no. 12, pp. A528–A534,.
- M. R. Senger, D. B. Rosemberg, E. P. Rico et al., (2006) - “In vitro effect of zinc and cadmium on acetylcholinesterase and ectonucleotidase activities in zebrafish (Danio rerio) brain,” Toxicology in Vitro, vol. 20, no. 6, pp. 954–958,.
- M. T. Antonio, L. Corredor, and M. L. Leret, (2003) - “Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium,” Toxicology Letters, vol. 143, no. 3, pp. 331–340,.
- M. Teresa Colomina a,b, Jose L. Roig a, Margarita Torrente a,b, Paloma Vicens a,b, Jose L. Domingo Hong Su , Zhou Li , Samuel Selorm Fiati Kenston , Hongbo Shi , Yafei Wang , (2005) Concurrent exposure to aluminum and stress during pregnancy in

rats: Effects on postnatal development and behavior of the offspring *Neurotoxicology and Teratology* 27 565 – 574

- M.S. Golub, J.L. Domingo, (1996) What we know and what we need to know about developmental aluminum toxicity, *J. Toxicol. Environ. Health* 48 585 – 597.
- M.W. Miller, W.L. Nyborg, W.C. Dewey, M.J. Edwards, J.S. Abramowicz, A.A. (2002) Brayman, Hyperthermic teratogenicity, thermal dose and diagnostic ultrasound during pregnancy: implications of new standards on tissue heating, *Int. J. Hypertherm.* 18 361 – 384.
- Mahaffey KR et al. (1986) Blood lead levels and dietary calcium intake in 1- to 11-year-old children : the Second National Health and Nutrition Examination Survey, 1976 to 1980, *Pediatrics.*; 78:257-62
- Maiorino, M., Chu, F. F., Ursini, F., Davies, K. J., Doroshow, J. H., and Esworthy, R. S. (1991). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is the 18-kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines. *The Journal of biological chemistry* 266, 7728-32
- Makoto Nakagawa, Makoto Ohgoh, Yukio Nishizawa, and Hiroo Ogura, (2004) Dopaminergic Agonists and Muscarinic Antagonists Improve Lateralization in Hemiparkinsonian Rats in a Novel Exploratory Y-Maze .*the journal of pharmacology and experimental therapeutics* Vol. 309, No. 2
- Marcus AH, Schwartz J., (1987) Dose-response curves for erythrocyte protoporphyrin vs blood lead: effects of iron status. *Environ Res.*; 44:221-7
- Marsano F, Boatti L, Ranzato E, Cavaletto M, Magnelli V, Dondero F, Viarengo A (2010) Effects of mercury on *Dictyostelium discoideum*: proteomics reveals the molecular mechanisms of physiological adaptation and toxicity. *J Proteome Res* 9:2839–2854.
- Mates, J. M., and Sanchez-Jimenez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci* 4, D339-45.
- Mates, J. M., Segura, J. M., Perez-Gomez, C., Rosado, R., Olalla, L., Blanca, M., and
- Mcdermott JR, Smith AI, Ward MK, Parkinson IS, Kerr DN. (1978) Brain-aluminium concentration in dialysis encephalopathy. *Lancet*; 1(8070). P: 901-4.
- Menon, S. G., and Goswami, P. C. (2007). A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene* 26, 1101-9.

- Mesulam MM, Guillozet A, Shaw P, Levey A, Duysen EG, Lockridge O. (2002) Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., and Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical biology & medicine* 17, 235-48.
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., and Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical biology & medicine* 17, 235-48.
- Miguel N. Llanos, Ana María Ronco, (2009) Fetal growth restriction is related to placental levels of cadmium, lead and arsenic but not with antioxidant activities, *Reproductive Toxicology* 27 88–92.
- Miquel G., (2000-2001) - Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, Rapport d'information n°26, Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques,
- Moore MR et al. (1980) The percutaneous absorption of lead-203 in humans from cosmetic preparations containing lead acetate, as assessed by whole-body counting and other techniques, *Food Cosmet Toxicol.*; 18:399-405
- Mortensen, S. R., Hooper, M. J., and Padilla, S. (1998). Rat brain acetylcholinesterase activity: developmental profile and maturational sensitivity to carbamate and organophosphorus inhibitors. *Toxicology* 125, 13-19.
- Nation . J. R, D. K.Miller, and G. R. Bratton, (2000) “Dietary cadmium exposure alters characteristics of training, substitution, and tolerance when morphine is used as a discriminative stimulus,” *NeuroToxicology*, vol. 21, no. 4, pp. 553–567,.
- National institute for occupational safety and health (NIOSH) 1995. Report to Congress on workers' home contamination study conducted under The Workers' Family Protection Act (29 U.S.C. 671a), U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, Cincinnati, no 95-123.
- National research council. (1993) *Measuring Lead Exposure in Infants, children and other sensitive populations*. Washington, DC: National Academy Press,
- Naujokas MF, Anderson B, Ahsan H, Aposhian HV, Graziano JH, Thompson C, Suk WA (2013) The broad scope of health effects from chronic arsenic exposure: update on a worldwide public health problem. *Environ Health Perspect* 121:295–302.

- Navas-Acien A, Guallar E, Silbergeld EK, Rothenberg SJ. (2007). Lead exposure and cardiovascular disease--a systematic review. *Environ Health Perspect* 115: 472–482.
- Nayak P. (2002) Aluminium : Impacts and Disease. *Environmental Research Section A*; 89.P :101-115.
- Needleman H., Lead poisoning, *Annu Rev Med.* 2004; 55: 209–22
- Needleman hl, gunnoe c, leviton a, reed r. Peresie h et coll. (1979) Deficits in psychologic and classroom performance of children with elevated dentine lead levels. *N Engl J Med* , 300: 689-695
- Needleman hl, riess ja, tobin mj, biesecker ge, greenhouse jb. (1996) Bone lead levels and delinquent behavior. *JAMA* , 275: 363-369
- Nemmiche S (2017) Oxidative signaling response to cadmium exposure. *Toxicol Sci* 156:4-10.
- neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxico Lett* 143, 331-340.
- Nordberg GF, Nogawa, K, Nordberg M, Friberg LT. (2007). Cadmium, In: Nordberg, G.F., Fowler, B.A., Nordberg, M., Friberg, L. (Eds.), *Handbook of Toxicology of Metals*, 3ème édition. Elsevier Publishers, Amsterdam, chapitre 23, p 445-480.
- Nordberg GF, Nordberg M. (1987) - Different binding forms of cadmium--implications for distribution and toxicity. *J UOEH* ;9 Suppl:153-64.
- Nriagu, J. O., 1983. *Lead and Lead Poisoning in Antiquity*. Wiley, New York, 437 pp.
- O’Mahony D, Denton J, Templar J, O’Hara M, Day JP, Murphy S, et al. (1995) Bone aluminium content in Alzheimer’s disease. *Dementia*;6. P: 69–72.
- Oberley, T. D., and Oberley, L. W. (1997). Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histology and histopathology* 12, 525-35.
- OHKAWA h, NOBUKO OHISHI, AND KUNIO YAGI (1979) Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY* 95, 35-1-358 .
- Okuda. B, Y. Iwamoto, H. Tachibana, M. Sugita et al., “Parkinsonism after acute cadmium poisoning,” *Clinical Neurology and Neurosurgery*, vol. 99, no. 4, pp. 263–265, 1997.
- Olsson IM, 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, 12,110.

- OMS IPCS (1997) - Environmental Health Criteria 194: Aluminum. World Health Organisation, International Programme on chemical Safety.
oncogenic transformation. Biochemical Society transactions 31, 1441-4.
- ONG CN, LEE WR. (1980) Distribution of lead 203 in human peripheral blood in vitro. Br J Med, 37 : 78-84
- Onyema OO, Farombi EO, Emerole GO, Ukoha AI, Onyeze GO (2006) Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. Indian J Biochem Biophys 43 (1):20-24 organophosphate and carbamate pesticides be questioned? Biomarkers 3(2), 157-163.
- Pari, L., & Murugavel, P. (2007). Diallyl tetrasulfide improves cadmium induced alterations of acetylcholinesterase, ATPases and oxidative stress in brain of rats. Toxicology, 234(1-2), 44–50.
- Patrick L. (2006) Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. Altern Med Rev 11: 114–127;.
- Patwardhan J.R. and Finckh E.S. (1976) - Fatal cadmium-fume pneumonitis. Med J Aust, 1, 25, 962-966. peroxidase is a selenoenzyme distinct from the classical glutathione peroxidase as evident from cDNA and amino acid sequencing. Free radical research communications 14, 343-61.
- Petersson Grawe K, Teiling-Gardlund A, Jalkestén E, Oskarsson A (2004) Increased spontaneous motor activity in offspring after maternal cadmium exposure during lactation. Environ Toxicol Pharmacol 17:35–43
- Pimentel D, Cooperstein S, Randell H, Filiberto D, Sorrentino S, Kaye B, Nicklin C, Yagi J, Brian J, O'Hern J (2007) Ecology of increasing diseases: population growth and environmental degradation. Hum Ecol 35:653–668.
- POND, W.G. et E.F. WALKER, (1975). - Effect of dietary Ca and Cd level of pregnant rats on reproduction and on dam and progeny tissue mineral concentrations. P roc. Soc. Exp. Biol.Med., 148:665-668.
- Priest ND, Talbot RJ, Newton D, Day JP, King SJ, Fifield LK. (1998) Uptake by man of aluminium in a public water supply. Human & Experimental Toxicology. 17(6). P: 296-301.
- Prüss-Ustün A, Vickers C, Haefliger P, Bertollini R (2011) Knowns and unknowns on burden of disease due to chemicals: a systematic review. Environ Health 10:9.

- Qin L-T, Liu S-S, Zhang J, Xiao Q-F (2011) A novel model integrated concentration addition with independent action for the prediction of toxicity of multi-component mixture. *Toxicology* 280:164–172.
- Quarterman, j., n. Morrison and w. Humphries. (1976) The effects of dietary lead content and food restriction on lead retention in rats. *Environ. Res.* 12: 180,.
- R. B. Rastogi, z. Merali and r. L. Singhal (1971) cadmium alters behaviour and the biosynthetic capacity FOR CATECHOLAMINES AND SEROTONIN IN NEONATAL RAT BRAIN, *Journal of Neurochemistry*,. Vol. 28. pp. 789-794.
- R. Pal, R. Nath, and K. D. Gill, (1993) - “Influence of ethanol on cadmium accumulation and its impact on lipid peroxidation and membrane bound functional enzymes (Na⁺, K⁺-ATPase and acetylcholinesterase) in various regions of adult rat brain,” *Neurochemistry International*, vol. 23, no. 5, pp. 451–458,.
- RABINOWITZ MB, WANG JD, SOONG WT. (1992) Children's classroom behavior and lead in Taiwan. *Bull Environ Contamin Toxicol* , 48: 282-288
- Rahman, I., Biswas, S. K., and Kode, A. (2006). Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *European journal of pharmacology* 533, 222-39.
- Rastogi SK. (2008). Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Indian J Occup Environ Med* 12: 103–106.
- Renugadevi J, Prabu SM (2009) Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology* 256 (1-2):128-134. doi:10.1016/j.tox.2008.11.012
- Rice, D., and Barone, S., Jr. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect* 108 Suppl 3, 511-533.
- Roberts E. (1986) Alzheimer's disease may begin in the nose and may be caused by aluminosilicates. *Neurobiol Aging* Nov-Dec; 7(6). P: 561-7. Review.
- Rodier, P. M. (1995). Developing brain as a target of toxicity. *Environ Health Perspect* 103 Suppl 6, 73-76.
- Rodilla V, Miles AT, Jenner W, Hawksworth GM. (1998) - Exposure of cultured human proximal tubular cells to cadmium, mercury, zinc and bismuth: toxicity and metallothionein induction. *Chem Biol Interact*;115:71-83.
- Romana Šlamberov´a*, Petra Charousov´a, Marie Pometlov´a, (2005) Maternal behavior is impaired by methamphetamine administered

- Rose CS, Heywood PG, Costanzo RM. (1992) Olfactory impairment after chronic occupational cadmium exposure. *J Occup Med*;34:600–5.
- S. Pacini, M. G. Fiore, S. Magherini et al., “Could cadmium be responsible for some of the neurological signs and symptoms of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome,” *Medical Hypotheses*, vol. 79, no. 3, pp. 403–407, 2012.
- S. Yoshida, (2001) - “Re-evaluation of acute neurotoxic effects of Cd²⁺ on mesencephalic trigeminal neurons of Brain Research the adult rat,” vol. 892, no. 1, pp. 102–110,.
- Saleh HA, El-Aziz GA, El-Fark MM, El-Gohary M. (2009). Effect of maternal lead exposure on craniofacial ossification in rat fetuses and the role of antioxidant therapy. *Anat Histol Embryol* 38: 392–399.
- Sanchez-Jimenez, F. M. (1999). Antioxidant enzymatic activities in human blood cells
- Sandbichler AM, Hockner M (2016) Cadmium protection strategies a hidden trade-off? *Int J Mol Sci* 17:E139.
- Schaller KH, Letzel S, Angerer J. Seiler HG, Sigel A, Sigel E, editors. (1994) Aluminium. In: *Handbook on metals and clinical and analytical chemistry*. New York: Marcel Dekker;. P : 217–226.
- Schapiro, S., Salas, M., and Vukovich, K. (1970). Hormonal effects on ontogeny of swimming ability in the rat: Assessment of central nervous system development. *Science* 168, 147–151.
- Schuckelt, R., Brigelius-Flohe, R., Maiorino, M., Roveri, A., Reumkens, J., Strassburger, W., Ursini, F., Wolf, B., and Flohe, L. (1991). Phospholipid hydroperoxide glutathione
- Schutte R, Nawrot TS, Richart T, Thijs L, Vanderschueren D, Kuznetsova T, et al. (2008) - Bone resorption and environmental exposure to cadmium in women: a population study. *Environ Health Perspect*;116:777–83.
- Seidal K., Jorgensen N., Elinder C.G., Sjogren B. and Vahter M. (1993) - Fatal cadmium induced pneumonitis. *Scand J Work Environ Health*, 19, 6, 429-431.
- Shargorodsky J, Curhan SG, Henderson E, Eavey R, Curhan GC (2011) Heavy metals exposure and hearing loss in US adolescents. *Arch Otolaryngol* 137:1183–1189
- SHARPE, L., W. PEACOCK, R. COOKE AND R. HARRIS. (1950) The effect of phytate and other food factors on iron absorption. *J. Nutr.* 41: 433,.

- Shaw CA, Petrik MS. (2009) Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J Inorg Biochem*;103:1555–62.
- Shepherd, J. K., Grewal, S. S., Fletcher, A., Bill, D. J., and Dourish, C. T. (1994). Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated "zero-maze" as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology (Berl)* 116, 56-64.
- Shimizu M. and Morita S. (1990) - Effects of fasting on cadmium toxicity, glutathione metabolism, and metallothionein synthesis in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 103, 1, 28-39.
- SILVA P. HUGHES P. WILLIAMS S. FAED J. (1988) Blood lead, intelligence, reading attainment and behavior in eleven year old children in Dunedin, New Zealand. *J Child Psy Psychi All Discipl* ,29:43-52
- Simkiss K, Daniels S, Smith R H (1993). Effects of population density and cadmium toxicology on growth and survival of blowflies. *Environ Pollut* 81, 41-45.
- Slotkin, T. A. (2004). Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. *Toxicol Appl Pharmacol* 198, 132-151.
- Slotkin, T. A. (2008). If nicotine is a developmental neurotoxicant in animal studies, dare we recommend nicotine replacement therapy in pregnant women and adolescents ? *Neurotoxicol Teratol* 30, 1-19.
- Soreq H, Seidman S (2001) Acetylcholinesterase – new roles for an old actor. *Nat Rev Neurosci* 2:294–302
- Soreq H, Seidman S. (2001) Acetylcholinesterase—new roles for an old actor. *Nat Rev Neurosci*;2:294–302. <http://dx.doi.org/10.1038/35067589>.
- Spofforth J. (1921) Case of aluminium poisoning. *Lancet*; 2. P:1301
- Stackelberg PE, Gibs J, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, Lippincott RL (2007) Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Sci Total Environ* 377:255–272.
- Stauber JL, Davies CM, Adams MS, Buchanan SJ. (1998) Bioavailability of aluminium in Alun-treated drinking water and food. *Water Services Association of Australia. Research Report*.203.
- Stocker R, Keaney Jr. JF. (2004) Role of oxidative modification in atherosclerosis. *Physiol Rev* ; 84 : 1381-478.
- Stralin, P., and Marklund, S. L. (1994). Effects of oxidative stress on expression of

- T. L. Bunn, P. J. Parsons, E. Kao, and R. R. Dietert, (2001) Exposure to Lead during Critical Windows of Embryonic Development: Differential Immunotoxic Outcome Based on Stage of Exposure and Gender TOXICOLOGICAL SCIENCES 64, 57–66
- Takahide Kihara, Takuya Matsuo, Michiko Sakamoto, Yoshiko Yasuda, Yoshitame Yamamoto, and Takashi Tanimura (2000), Effects of Prenatal Aflatoxin B1 Exposure on Behaviors of Rat Offspring , TOXICOLOGICAL SCIENCES 53, 392–399.
- TAKASHIMA. M.. K. NISHINO et Y. ITOKAWA, (1978). - Effect of cadmium administration on growth, and tissue accumulation of cadmium and histological alterations in calcium- sufficient rats: an equalized feeding study. Toxicol appl Pharnwc.. 45: 591-598.
- Teraoka H. (1981) Distribution of 24 elements in the internal organs of normal males and the metallic workers in Japan Arch Environ Health; 36. P :155-164.
- Testud F. (1998) , Mértaux 4ème partie : plomb, thallium, vanadium, zinc, Pathologie toxique en milieu de travail, , p.159-78
- The EFSA Journal (2008) .754 .P : 3-4
- Thiriart-Delon H., Steffan J., Nicolas D., (1994) Enquête de dépistage du saturnisme infantile d'origine hydrique dans les Vosges, Santé Publique (Bucur); 3:263-73
- Thomson g. Raab g. Hepburn w. Hunter r. Fulton m, laxen d. (1989) Blood lead levels and children's behavior: results from the Edinburgh lead study. J Child Psych Allied Discip ,30:515-528
- Tollett V, Benvenuti E, Deer L, Rice T (2009) Differential toxicity to Cd, Pb, and Cu in dragonfly larvae (Insecta: Odonata). Arch Environ Con Tox 56:77–84.
- Tougu V, Kesvatera T. (1996) Role of ionic interactions in cholinesterase catalysis. Biochim Biophys Acta;1298:12–30.
- Townshend R.H. (1982) - Acute cadmium pneumonitis: a 17-year follow-up. Br J Ind Med, 39, 4, 411-412.
Toxicol 44, 87-110.
- Trepanier G, Furling D, Puymirat J, Mirault ME (1996) Immunocytochemical localization of seleno-glutathione peroxidase in the adult mouse brain. Neuroscience 75:231-243.
- Usai C, Barberis A, Moccagatta L, Marchetti C (1999) Pathways of cadmium influx in mammalian neurons. J Neurochem 72:2154-2161.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology* 39, 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological*
- Valkonen S, Aitio A. (1997) Analysis of aluminium in serum and urine for the biomonitoring of occupational exposure. *Science of the Total Environment*; 199(1-2). P:103-110.
- Van Oostdam J.C., Zwanenburg H., Harrison J.R. (1990) Canadian perspectives on aluminium. *Environ. Geochem. Health.*; 12. P :71-74.
- Voigt, J.P., Rex, A., Shor, R., Fink, H., (1998). Hippocampal 5-HT and NE release in the transgenic rat TGR (mREN2) related to behaviour on the elevated plus-maze. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 9, 279/285
- Vorhees, C. V., Brunner, R. L., and Butcher, R. E. (1979a). Psychotropic drugs as behavioral teratogens. *Science* 205, 1220–1225.
- Vorhees, C. V., Butcher, R. E., Brunner, R. L., and Sobotka, T. J. (1979b). A developmental test battery for neurobehavioral toxicity in rats: A preliminary analysis using monosodium glutamate calcium carrageenan, and hydroxyurea. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 50, 267–282.
- Vyskocil, a., c. Viau et j. Brodeur 1992. « Recherche, validation et mesure de certains indicateurs pouvant permettre l'amélioration du projet de règlement pour le retrait préventif des travailleurs exposés au plomb », Rapport présenté à la Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST) et déposé le 2 septembre.
- W. I. Manton and J. D. Cook, (1984) - "High accuracy (stable isotope dilution) measurements of lead in serum and cerebrospinal fluid," *British Journal of Industrial Medicine*, vol. 41, no. 3, pp. 313–319.
- Walker CH. (2001) An ecotoxicology perspective. *Organic Pollutants*.
- Wang B, Du Y (2013) Cadmium and Its Neurotoxic Effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013:12. doi:10.1155/2013/898034
- Wang G, Fowler BA (2008) Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicol Appl Pharmacol* 233:92–99.

- Wester RC, Maibach HI, Sedik L, Melendres J, DiZio S, Wade M. (1992) - In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. *Fundam Appl Toxicol*;19:1-5.
- Winneke g. Kramer u. Brockhaus a, ewers u. Kujanek g et coll. (1983) Neuropsychological studies in children with elevated tooth-lead concentration: Part II. Extended study. *Int Arch Occup Environ Health* , 51: 231-252
- Wisniewska-Knypl J.M., Jablonska J. and Myslak Z. (1971) - Binding of cadmium on metallothionein in man : an analysis of a fatal poisoning by cadmium iodide. *Arch Toxicol*, 28, 46.
- World Health Organization (WHO) (2001): Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Fifty-fifth meeting of the joint FAO/WHO expert committee on feed additives, Toxicological monographs, WHO food additives series No 46. WHO. Geneva.
- Xin Song , Yuanliang Gu , Tabatha Barber , Joni Aldinger , Baobo Zou , Min Ding, Jinshun Zhao , ID and Xialu Lin (2017) Joint Toxicity of Different Heavy Metal Mixtures after a Short-Term Oral Repeated-Administration in Rats *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 14, 1164; doi:10.3390/ijerph14101164
- Xue Luo, Lianbing Li, Mingfu Ma, Renyan Li, (2015) Effects of low-dose cadmium exposure during gestation and lactation on development and reproduction in rats, , *Environmental Science and Pollution Research*
- Yousef. S, A. Adem, T. Zoubeidi, M. Kosanovic, A. A. Mabrouk, and V. Eapen, (2011) "Attention deficit hyperactivity disorder and environmental toxic metal exposure in the United Arab Emirates," *Journal of Tropical Pediatrics*, vol. 57, no. 6, Article ID fmq121, pp. 457–460.
- Youssef I, Florent-Bécharde S, Malaplate-Armand C, Koziel V, Bihain B, Olivier JL, Leininger-Muller B, Kriem B, Oster T, Pillot T (2008), N-truncated amyloid-beta oligomers induce learning impairment and neuronal apoptosis, *Neurobiol Aging*. 2008 Sep;29(9):1319-33.
- YUHAS. E.M.. T.S. MIYA et R.C. SCHNELL, (1977). - Influence of Cadmium on Calcium absorption from the rat intestine. *Toxicol appl. Pfiarmac.*, 43: 23-31.
- Zachara, B. A. (1992). Mammalian selenoproteins. *Journal of trace elements and electrolytes in health and disease* 6, 137-51.

- Zarros A, Kalopita K, Tsakiris S, Baillie GS (2013) Can acetylcholinesterase activity be considered as a reliable biomarker for the assessment of cadmium-induced neurotoxicity? *Food Chem Toxicol* 56:406–410
- ZHANG, Y.-M., LIU, X.-Z., LU, H., MEI, L., & LIU, Z.-P. (2009). Lipid Peroxidation and Ultrastructural Modifications in Brain after Perinatal Exposure to Lead and/or Cadmium in Rat Pups. *Biomedical and Environmental Sciences*, 22(5), 423–429.
- Zheng W (2001) Toxicology of choroid plexus: special reference to metal-induced neurotoxicities. *Microsc Res Tech* 52:89-103.