

Introduction

L'aluminium est le métal le plus répandu sur la terre, il constitue 8% de l'écorce terrestre étant par ordre d'abondance le troisième élément de la nature après l'oxygène et le silicium (**Chappuis, 1991; Kintz, 1998**). Son utilisation augmente de plus en plus au cours de ces dernières décennies, actuellement, il se trouve dans une multitude de produits d'utilisation quotidienne (additifs et colorants alimentaires, certains médicaments d'usage courant « antiacides », produits cosmétiques « déodorants, crèmes solaires » et comme adjuvant dans les processus des traitements d'eau), ce qui augmente ses sources d'exposition et rendu son impact toxicologique impossible à ignorer (**Gourier-fréry et fréry, 2004; Mailloux et al., 2011**).

En absence de charge excessive, l'aluminium ne se trouve qu'à l'état de traces dans l'organisme humain et il ne semble pas avoir une fonction biologique essentielle. Par contre, à des doses élevées il est capable d'entraîner des effets nocifs en interférant avec le métabolisme basale induisant ainsi la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO). La surproduction de ces derniers au de la des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydatif qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies telles que l'athérosclérose, cancer, les maladies inflammatoires et le diabète... (**Bonnefont-Rousselot, 2007; Borg et Reeber, 2008**). Il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Cependant, il a été rapporté que la supplémentation avec les antioxydants réduit le stress oxydatif.

Les plantes constituent une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. Malgré son ancienneté, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutique, antioxydante et antimicrobienne des principes actifs des extraits provenant de diverses sources végétales continuent à avoir un très grand intérêt.

Nigella sativa appartient à la famille des Ranunculaceae est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde (**Llinares, 2005; Meziti, 2009**) et plus particulièrement chez les musulmans influencés par la parole prophétique. Le prophète Mohamed (prière et salut d'Allah soient sur lui) a dit: « utilisez dans vos soins la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ».

L'huile extrait des graines de cette plante est largement utilisée, dans la médecine traditionnelle depuis des siècles pour traiter les troubles broncho-pulmonaires, gastro-intestinaux et les maladies cardio-vasculaires (**Salem, 2005; Gali-Muhtasib et al., 2006**). Durant ces vingt dernières années, plusieurs équipes de chercheurs sont intéressées à l'étude de *Nigella sativa*. La plupart des indications revendiquées en médecine traditionnelle ont été confirmées par leurs études de plus, les même études soulignent que l'huile de nigelle a de nombreuses propriétés pharmaceutiques extraordinaire grâce à sa richesse en molécules actifs notamment la thymoquinone la nigellone et les composés phénoliques. Aussi, l'huile de nigelle peut être considérée comme agents antioxydant, anti-inflammatoire, immunomodulateur, antitumoral, antidiabétique et hypotenseur (**Gali-Muhtasib et al., 2006 ; Ahmad et al., 2013**).

Parallèlement, de nombreux travaux sont intéressés aux propriétés antioxydantes des composés aussi différents que les molécules bioactifs extrait des plants. En effet, ces travaux sont intéressés à une classe particulière correspond à des substances qui présentent la caractéristique chimique de posséder un groupement thiol (-SH) (**Abdel-Zaher et al., 2008; Ghibu et al., 2008; Yi et al., 2011**). **L'acide alpha lipoïque** encore dénommé acide thioctique ou acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque est l'un de ces composées. C'est un cofacteur enzymatique des acides α -cétonique, synthétisé en faible quantité par notre organisme. Il possède également des effets antioxydants, hypoglycémiants et anti-inflammatoires. De plus, il est capable de chélater les métaux lourds et de prévenir les symptômes de vieillissement. Il agit en milieu hydrophile comme en milieu hydrophobe. Afin d'optimiser toutes ses fonctions une supplémentation s'avère nécessaire. En revanche, son mécanisme d'action au niveau cellulaire n'est pas connu avec précision jusqu'à l'heure actuelle (**Caylak et al., 2008; Winiarska et al., 2008 Li et al., 2013**).

L'objectif de la présente étude consiste à déterminer l'effet toxique du **chlorure d'aluminium** et l'implication de ce dernier dans la genèse d'un stress oxydatif d'une part et d'évaluer l'effet antioxydant de l'huile de nigelle et/ou de l'acide alpha lipoïque d'autre part. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur des rats mâles adultes de la souche wistar soumis à un traitement par le chlorure d'aluminium en présence et en absence de l'huile de nigelle et/ou de l'acide alpha lipoïque.

Le présent travail est réparti en deux parties. La première partie, bibliographique, rassemble une synthèse des données actuelles concernant l'aluminium, le stress oxydatif, la nigelle (*Nigella sativa*) et l'acide alpha lipoïque.

La deuxième partie, expérimentale, consiste à évaluer le pouvoir antioxydant et la teneur en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins) de l'huile de nigelle in vitro. Elle consiste également à étudier les effets modulateurs de la supplémentation en huile de nigelle et/ou en acide alpha lipoïque afin d'atténuer les dégâts oxydatifs au niveau sanguin et tissulaire des rats traités par le chlorure d'aluminium en évaluant :

- ✓ Les paramètres physiologiques (poids corporel, consommation d'aliment et poids relatifs de certains organes).
- ✓ Les paramètres biochimiques et hématologiques.
- ✓ L'exploration du statut antioxydant et de la peroxidation lipidique (MDA).
- ✓ Les changements histologiques au niveau de certains organes (foie, reins, cerveau....).

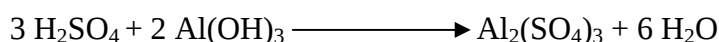
Enfin, nous discuterons l'ensemble des résultats obtenus dans cette étude, et on suggère quelques perspectives à ce travail de recherche.

CHAPITRE I : L'ALUMINIUM

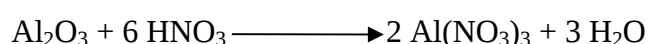
1. Définition

L'aluminium du latin « alumen », qui signifie léger, est le métal le plus répandu sur la terre, il constitue 8% de l'écorce terrestre étant par ordre d'abondance le troisième élément de la nature après l'oxygène et le silicium (**Chappuis, 1991; Kintz, 1998**). On ne l'y trouve cependant pas à l'état libre mais combiné à d'autres éléments sous forme des sels et d'oxydes. Les composés les plus fréquents sont les aluminés et les hydroxydes provenant essentiellement de la bauxite, les silicates provenant de l'argile et des micas, et des formes hydrosolubles complexées aux sulfates « alum », nitrates, chlorures en présence de matières organiques dissoutes. Ces derniers sont produits industriellement par différents réactions chimiques (**Bounias, 1999; Vargel, 1999**).

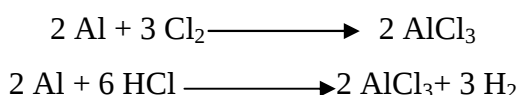
- **Sulfate d'aluminium $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$** : formé par la combinaison de l'acide sulfurique (H_2SO_4) et l'hydroxyde d'aluminium $[\text{Al}(\text{OH})_3]$. Il est disponible sous différentes formes solides.



- **Nitrate d'aluminium $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$** : est un sel de l'acide nitrique et de l'aluminium qui peut être préparé par action de l'acide nitrique sur le métal ou bien par action de l'acide nitrique sur le trioxyde de dialuminium. Il existe sous forme d'un hydrate cristallin.



- **Chlorure d'aluminium AlCl_3** : produit suit à une réaction directe entre les éléments aluminium et le chlore ou bien l'acide chlorhydrique. Il existe sous forme d'un hydrate cristallin.



L'aluminium est un élément non essentiel pour l'homme. Contrairement, il est un composant fondamental des roches, du sol et des eaux souterraines. L'acidité facilite la dissolution, la mobilisation ainsi que l'absorption de l'aluminium (**Bounias, 1999; Dorey, 2008**).

2. Propriétés physicochimiques

L'aluminium est un métal léger gris argenté brillant, n'a pas d'odeur ni de saveur, qui présente des propriétés physicochimiques particulièrement importantes. Son symbole chimique est Al portant le numéro 13 dans la classification périodique des éléments (avec 27 protons et neutrons, 13 électrons répartie sur 3 orbites avec 3 électrons de valence) il n'a pas d'isotopes. C'est un métal de faible densité $2,7 \text{ g/cm}^3$, avec une masse atomique de 27 g/mol , son point de fusion est de 660°C et son point d'ébullition est de 2467°C (**Kintz, 1998; Vargel, 1999**). Il s'agit d'un métal amphotère qui réagit avec les acides et les bases formant ainsi des sels stables à $\text{pH} \leq 3$ et des aluminates à $\text{pH} \geq 11$. Il est quasiment soluble en milieu acide, cette solubilité diminuée avec l'augmentation du pH, il est totalement insoluble à pH neutre (**Chappuis, 1991; Vargel, 1999**).

3. Effets toxiques de l'aluminium

La dose létale (DL_{50}) de l'Al varie de 0,14 à 6,20 g d'Al/Kg du poids corporel, ses effets toxiques relèvent essentiellement d'exposition chroniques contrairement à sa toxicité aiguë qu'est très faible (**Gourier-fréry et fréry, 2004**). Les effets de l'intoxication aluminique sont principalement observés au niveau du système nerveux, du système osseux et du système sanguin (**Kintz, 1998; Dorey, 2008**).

3.1. Effets hématologiques

L'aluminium agit en compétition avec le fer sur les sites de fixation à la transferrine inhibant ainsi la synthèse de l'hémoglobine. Aussi il perturbe l'érythropoïèse par action direct, en diminuant la durée de vie des érythrocytes et d'hématocrite avec attente de la lignée rouge (microcyte et hémoglobine) ce qui provoque l'apparition d'une anémie microcytaire hypochrome. De plus, l'Al empêche les plaquettes sanguines de s'agglomérer pour former le caillot et augmentant ainsi le temps de saignement. Ces effets sont réversibles à l'arrêt de l'exposition et lors de traitement par les chélateurs de l'aluminium (**Gourier-fréry et fréry, 2004; Mailloux et al., 2011**).

3.2. Effets osseux

L'aluminium est susceptible d'entraîner une déminéralisation osseuse suite à une déplétion phosphorée accompagnée d'une perturbation métabolique de la vitamine D_3 (**Chappuis, 1991; Kintz, 1998**). De plus l'intoxication aluminique est caractérisée par:

- La présence des dépôts aluminiques le long du front de minéralisation.
- Une réduction de la vitesse de calcification et une augmentation de l'épaisseur des travées ostéoïdes (**Dorey, 2008**).

Les mécanismes d'actions évoqués pour illustrer l'impact de l'Al dans toutes ces perturbations semblent faire intervenir à la fois:

➤ **Des effets aluminiques directs**

- Formation des sels basiques insolubles entre l'Al et le phosphate dans le tube digestif ce qui entraînent une augmentation de l'excrétion fécale du phosphate et par conséquent diminution de son excrétion urinaire, ainsi que son absorption intestinale provoquant une hypophosphatémie.
- L'Al agit sur le squelette en réduisant fortement la formation de l'os, activant la déminéralisation osseuse et produisant ainsi une ostéomalacie résistante au traitement par la vitamine D ou ses métabolites. Elle s'exprime le plus souvent par des douleurs et des arthralgies, puis surviennent des fractures osseuses spontanées, des déformations osseuses sévères et une myopathie des muscles proximaux qui peut devenir invalidante.
- L'Al constitué un obstacle à l'incorporation de calcium dans l'hydroxyapatite (**Chappuis, 1991; Bounias, 1999; Larwerys et Lison, 2007**).

➤ **Des effets aluminiques indirects**

- L'aluminium réagir par interférence avec la parathormone (**Gourier-fréry et fréry, 2004**).

3.3. Effets neurologiques

Les cellules nerveuses présentent une sensibilité particulière à l'Al (**Berthon, 2002; Dorey, 2008**). Il est donc reconnu comme un facteur neurotoxique responsable de différentes maladies neurodégénératives entre autres:

- L'encéphalopathie: considérée comme l'une des premières manifestations révélatrices de la toxicité aluminique. L'encéphalopathie associée dans une première phase des troubles de la parole et de l'écriture avec lenteur de l'élocution, dystonie et dyspraxie, puis apparaissent des trémulations, des myoclonies diffuse, une myofasciite a macrophage, une dyspraxie des mouvements de type cérébelleux, l'épilepsie et troubles de la mémoire ainsi que de la concentration et des troubles psychiatriques (trouble de la personnalité, dépression, troubles paranoïdes, hallucination, des épisodes confusionnelles avec perte de la conscience pouvant conduire au décès) (**Chappuis, 1991; Kintz, 1998; Gourier-fréry et fréry, 2004**).
- L'Alzheimer: se caractérise par une dégénérescence neurofibrillaire (présence d'agrégat constitués de paires hélicoïdales de filaments appariés) (**Bounias, 1999; Berthon, 2002**).

- Troubles des fonctions psychomotrices: ont été également mis en évidence, manifestant principalement par des troubles de l'humeur à type d'irritabilité et de fatigue avec troubles de l'attention, des troubles de la motricité (coordination motrice), de la mémoire et de l'organisation visuospatiale (perturbation des tests visuels) (**Gourier-fréry et fréry, 2004; Larwerys et Lison, 2007**).
- Changement histopathologique: dans le cerveau caractériser par une vacuolisation cytoplasmique et/ou nucléaire avec dégénérescence neuronale (**Berthon, 2002; Larwerys et Lison, 2007**).

En effet, différents mécanismes sont évoqués pour expliquer la neurotoxicité de l'Al:

➤ **Mode d'action direct**

- Provoque la dégénérescence neurofibrillaire par modification des protéines du cytosquelette des neurones avec formations, accumulation et agrégation d'âmes insolubles de la protéine β -amyloïde, de la protéine tau et d'autres protéines neurofibrillaires (**Larwerys et Lison, 2007**).
- Provoque la dégénérescence des astrocytes ce qui accélère la mort de tissus nerveux qu'ils nourrissent. De plus, l'Al agit en suscitant l'apoptose (les cellules nobles du cerveau, les neurones réagissent très rapidement à l'apoptose) (**Larwerys et Lison, 2007**).
- Perturbe la communication intercellulaire entre les cellules gliales notamment les astrocytes ce qui entraîne un déséquilibre de l'homéostasie (échange d'ions et de certains métabolites, recaptage des neurotransmetteurs ainsi que le passage des hormones) nécessaire au bon fonctionnement du système nerveux (**Berthon, 2002**).

➤ **Mode d'action indirect:** l'Al agit sur l'activité des différents enzymes neurocellulaires:

- Inhibition de l'acétylcholinestérase de façon non compétitive, entraînerait des perturbations de la neurotransmission cholinergique (**Chappuis, 1991; Larwerys et Lison, 2007**).
- Inhibition de l'activité hexokinase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase dans le cerveau suite à une combinaison entre l'Al et ATP (**Chappuis, 1991**).
- Inhibition du transport de la L-glutamine et de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) ainsi que d'autres amines neurotransmettrices des synaptosomes suite à une interférence avec la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ et la $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{ATPase}$ aboutissant donc à l'altération des phénomènes de captation et largage de ces acides aminés neurotransmettrices et autres neurotransmetteurs par la membrane neuronale présynaptique. Ce qui entraîne leurs accumulations dans certaines régions du cerveau (**Larwerys et Lison, 2007**).

- Inhibition de la dihydroptéridine réductase entraînant une chute de la concentration en tétrahydrobioptérine et par voie de conséquence de la tyrosine et des neurotransmetteurs au niveau du cerveau **(Chappuis, 1991; Berthon, 2002)**.
- Inhibition des enzymes de réplication nucléaire entraînant une inhibition de la transcription de l'ADN en ARN suite à une fixation facultative de l'Al sur l'ADN **(Larverys et Lison, 2007; Dorey, 2008)**.
- Perturbation de l'homéostasie calcique intracellulaire suite à l'interférence au niveau de la Ca^{2+} ATPase enzyme majeur dans l'extrusion du calcium. La perturbation des systèmes de régulation du Ca^{2+} intercellulaire peut causer des lésions neuronales irréversibles **(Berthon, 2002)**.
- Changement dans la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE): augmentation de la perméabilité au sucrose, à la thyroxine, au cortisol, à la prolactine, à l'hormone de croissance et à l'hormone lutéinisante **(Chappuis, 1991; Berthon, 2002)**.

3.4. Autres effets

L'Al provoque une fibrose (ou aluminose) voire une granulomatose accompagnée d'une alvéolite à lymphocytes T auxiliaires similaire à la béryllose en cas d'exposition massive. Une protéinase alvéolaire, une pneumonie interstitielle chronique une symptomatologie d'asthme et d'hyperréactivité bronchique de type irritatif (connue de longue date sous le nom de « potroom asthma »). Ces effets sont observés suite à une irritation directe du système respiratoire par le métal **(Kintz, 1998; Gourier-fréry et fréry, 2004; Dorey, 2008)**.

D'autre part, l'Al a une influence sur la motilité par inhibition des contractions intestinales (induit par l'acétylcholine) induisant ainsi des cas de constipation **(Bounias, 1999; Dorey, 2008)**. De plus, l'Al interfère avec le métabolisme de certains acides aminés présents dans le sang et provoque des changements structuraux des lipoprotéines. Aussi, il perturbe le métabolisme des graisses et favorise l'obésité **(Berthon, 2002; Fxley, 2003)**.

4. Aluminium et stress oxydatif

Dans les organismes vivants l'Al provoque un état de stress oxydatif par la production des radicaux libres. En effet, suite de sa liaison aux groupes phosphates des phospholipides, l'aluminium favorise la désorganisation et la discontinuité de la membrane plasmique favorisant ainsi le passage de certaines espèces chimiques telle que les ions métalliques (Fe^{+2} par exemple) qui peuvent initier le processus radicalaire par le biais de la réaction de Fenton.

Les radicaux formés réagissent avec tous les composés cellulaires (lipides, protéines, ADN) modifiant leurs structures et leurs fonctions biologiques. De plus, l'aluminium inhibe l'activité de plusieurs enzymes antioxydantes, il peut même diminuer le taux du GSH (**Berthon, 2002; Fxley, 2003**).

5. Toxicocinétique

5.1. Exposition

A l'exception des cas d'exposition pulmonaire dans un contexte professionnel, l'exposition à l'Al est essentiellement alimentaire (les additifs alimentaires comme les colorants, les antiagglomérants, les affermissants, les épaississants, les stabilisants ou correcteur d'acidité...) et médicamenteuse (les médicaments antiacides, les pansements gastro-intestinaux, les vaccins, les liquides de dialyse et la nutrition parentérale prolongée, ainsi que des céramiques et ciments à base d'Al pour des implants en dentisterie, chirurgie maxillo-faciale et orthopédique).

De plus, l'utilisation de l'Al dans la fabrication d'un grand nombre de produits cosmétiques, constitue également une source d'exposition (Figure 1) (**Bounias, 1999; Gourier-fréry et fréry, 2004; Mailloux et al., 2011**).

5.2. Absorption

L'Al peut pénétrer dans l'organisme humain par voie respiratoire, par la peau et les muqueuses, par voie digestive et par voie parentéral. Quelle que soit la voie de contact l'Al est très faiblement absorbé. L'absorption s'effectuerait essentiellement au niveau du tractus digestif. Le lieu d'absorption est différent selon les auteurs, selon **Feinroth, (1982)** elle s'effectuerait au niveau du jéjunum et de l'iléon, **Alfrey, (1986)** suggère que l'absorption se situerait essentiellement au niveau de l'estomac et du duodénum proximal.

En revanche, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer l'absorption et la rétention de l'Al. Elle dépend de la spéciation du composé (c'est à dire la forme chimique sous la quelle l'Al est présent dans le milieu: il est à noté, que la liaison de l'Al avec certains acides organiques « acide citrique... » augmente son absorption. Tandis que, la présence de phosphate, de fluorure et d'acide silicique diminue l'absorption d'Al, suite à la formation des complexes peu solubles), de la solubilité du composé dans le milieu biologique considéré, elle même dépendante du pH du milieu, ainsi que de la granulométrie du composé (le pourcentage d'Al qui passe dans le sang diminue si la dose ingérée augmente) (**Suntherland et Greger, 1998; Berthon, 2002**).

5.3. Métabolisme et distribution

Immédiatement après son absorption, l'Al s'associe aux protéines sériques essentiellement à la transferrine (80%), mais également à l'albumine (10%) et à d'autres protéines de bas poids moléculaire. Le transport sanguin de l'Al vers les organes cibles dans les quelles il est stocké, s'effectue par l'intermédiaire de ces protéines (**Berthon, 2002; Gourier-fréry et fréry, 2004; Viala et Botta, 2005**). L'Al s'accumule privilégiement dans certains tissus, il s'agit principalement :

- Du foie: au niveau des hépatocytes qui semble assez bien tolérer l'accumulation du l'Al.
- Du cerveau: l'Al arrive à traverser la barrière hémato-encéphalique pour venir s'accumuler dans le cerveau. En plus, il est capable d'endommager cette barrière permettant ainsi la perméabilité d'autres substances indésirables.
- De l'os: l'Al se dépose le long du front de minéralisation ainsi qu'au niveau des lignes cimentantes avec concentration aluminique ponctuelle extracellulaire sous forme de microcristaux.
- Des parathyroïdes: l'Al se concentre dans les polyphagosomes et les mitochondries (**Gourier-fréry et fréry, 2004; Viala et Botta, 2005; Mailloux et al., 2011**).

Le métabolisme de l'aluminium est conditionné par la spéciation de l'aluminium, le pH du milieu et l'affinité de l'élément aux protéines de transport.

5.4. Elimination

L'excrétion de l'Al s'effectue soit par voie urinaire soit par la matière fécale. La voie d'élimination majoritaire dépend de la voie d'exposition et de la forme chimique du métal. La partie d'Al qui n'a pu passer la barrière intestinale pour arriver dans le sang est excrétée par les matières fécales suite à son passage par le cycle entérohépatique. Tandis que, la partie qui a passée la barrière intestinale est excrétée par les reins. Cette excrétion est effectuée suite à une filtration glomérulaire de l'Al qu'est ensuite réabsorbé au niveau des cellules du tube contourné proximal. Au sein des lysosomes l'Al est insolubilisé sous forme de phosphate, ensuite il est excrété dans la lumière urinaire. Le temps de demie vie d'élimination de l'aluminium est dépendant de la durée d'exposition (**Suntherland et Greger, 1998 ; Berthon, 2002; Gourier-fréry et fréry, 2004**).

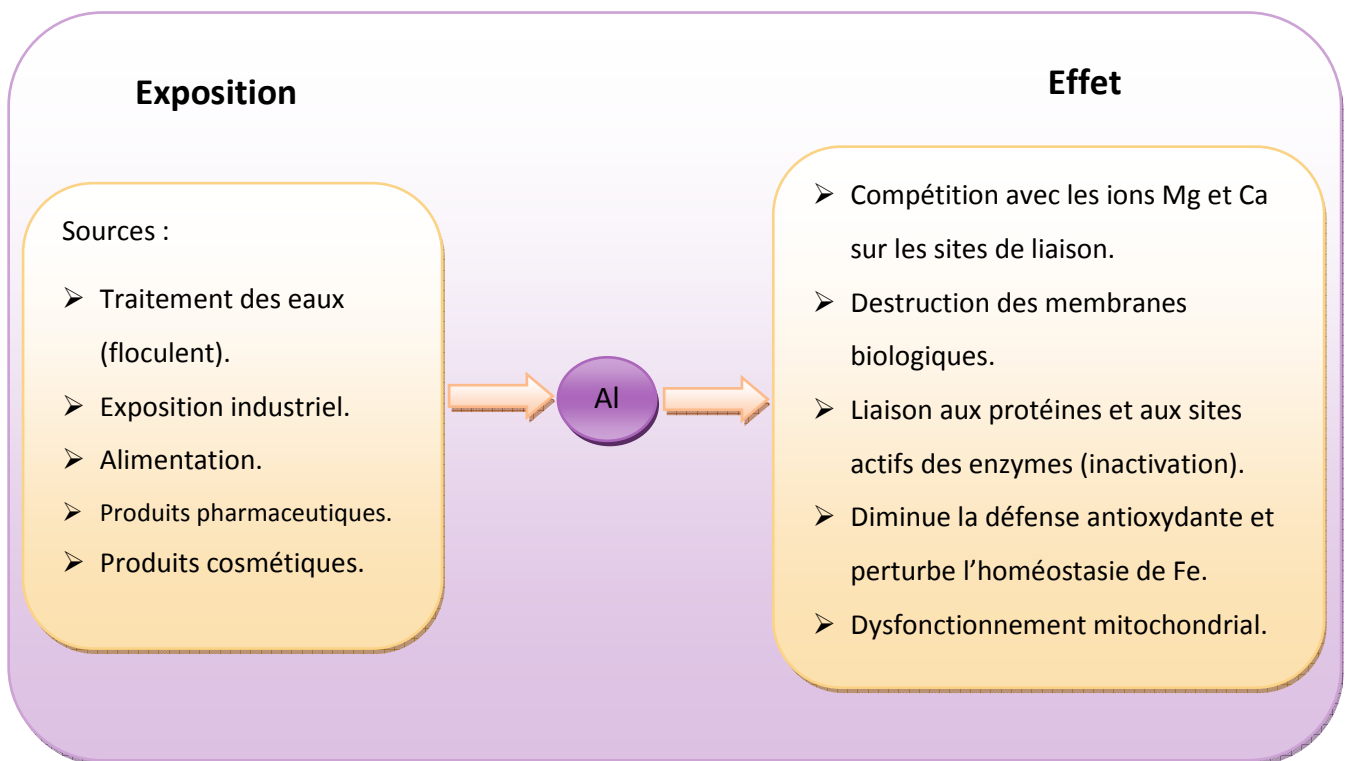


Figure 1: Sources d'exposition à l'aluminium et leurs principaux effets toxicologiques (Mailloux *et al.*, 2011).