

Article original / Original article

L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats

The effect of oxidative stress induced by lead acetate on the glutathione enzymatic system in rats

Saad Saka^{1*}, Ahlem Bahi², Wassila Aouacheri²

¹ Laboratoire d'Écophysiologie Animale, Département de Biochimie, Faculté des Sciences de la Vie, Université Badji Mokhtar, Algérie

² Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquée, Département de Biochimie, Faculté des Sciences de la Vie, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie

Résumé – Objectif : Ce travail porte sur l'étude de l'effet toxique de l'acétate de plomb sur l'activité du système de défense de glutathion chez les rats. **Méthodes :** Cette étude a été réalisée sur 40 rats mâles (*Albinos wistar*) qui ont été répartis en quatre groupes. Pendant une semaine, trois lots de rats ont été traités par une injection intrapéritonéale (ip) par trois doses différentes d'acétate de plomb (25, 50, 100 mg/kg) de poids corporel; un lot témoin a été traité (ip) uniquement par un soluté isotonique de chlorure de sodium. **Résultats :** L'injection des rats par l'acétate de plomb a provoqué une variation des paramètres biochimiques et biologiques exprimée notamment par une augmentation du rapport hépato-corporel, surtout chez les rats recevant des doses importantes. Les concentrations sériques en glucose, urée, créatinine, acide urique, phosphatases alcalines et amino transférases (ASAT et ALAT) ont augmenté significativement. La concentration des protéines sériques a diminué chez les rats traités par les doses élevées par rapport aux témoins. L'auto-oxydation lipidique exprimée par la concentration de malondialdéhyde (MDA) a également augmenté chez les rats traités. Enfin, les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel détoxifiant du système enzymatique de glutathion exprimé par la diminution de la concentration de glutathion tissulaire (GSH) et l'augmentation des activités des enzymes liées au glutathion (glutathion S-transférase, glutathion peroxydase et glutathion réductase) chez tous les lots traités. **Conclusion :** Au regard des ces résultats, une relation étroite a été signalée entre la diminution de la concentration de GSH tissulaire et l'augmentation des activités de la GST, GPx et GR chez les rats traités par l'acétate de plomb. Ceci explique probablement le rôle du système de glutathion dans la détoxification des métabolites toxiques des polluants et donc la protection de la cellule vivante.

Mots clés : Stress oxydant, glutathion, glutathion peroxydase, glutathion réductase, glutathion S-transférase, acétate de plomb

Abstract – Objective : This work is mainly devoted to the study of the toxic effect of lead acetate on the activity of the glutathione defense system in rats. **Methods:** This study was carried out on 40 male rats (*Wistar Albino*) divided into four groups, three of which were treated with intraperitoneal injection (ip) of three different doses of lead acetate: (25, 50 and 100 mg/kg) of body weight; the control group was treated (ip) with physiological water only, for one week. **Results:** The injection of rats with lead acetate caused a change in the biochemical and biological parameters, indicated particularly by an increase in the hepatosomatic index, especially in rats treated with large doses. Moreover, the serum concentration of glucose, urea, creatinine, uric acid, alkaline phosphatases and aminotransferases (ASAT and ALAT) increased significantly compared with the control group, whereas the serum protein content decreased significantly in treated rats with high doses compared with control. The lipid auto-oxidation expressed as the concentration of malondialdehyde (MDA) was also increased in the treated rats. Finally, the results obtained highlight the detoxification potential of the glutathione enzymatic system expressed by the decrease in hepatic glutathione (GSH) and increased activities of enzymes related to glutathione (glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and glutathione reductase) in all treated groups. **Conclusion:** In view of these results, a close relationship was shown between the decreased levels of hepatic GSH and increased activities of GST, GPx and GR in rats treated with lead acetate. This probably explains the role of the glutathione system in the detoxification of toxic pollutant metabolites and thus protection of living cells.

Key words: Oxidative stress, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, lead acetate

Reçu le 9 juillet 2011, accepté après modifications le 10 septembre 2011

Publication en ligne le 13 octobre 2011

* Correspondance: Saad Saka, sakasadz@yahoo.fr

1 Introduction

La toxicité du plomb est connue depuis l'antiquité. Cependant, les travaux cliniques et physiopathologiques se sont longtemps cantonnés à l'étude de l'effet toxique de hautes concentrations de plomb. Les descriptions cliniques se limitaient aux symptômes classiques, rencontrés en pathologie professionnelle ou dans les intoxications graves d'origine alimentaire (encéphalopathie et paralysie pseudoradicale, coliques de plomb, insuffisance rénale et goutte, anémie réfractaire) [1].

Le plomb inorganique est essentiellement absorbé par l'appareil respiratoire et le tube digestif. Les études utilisant des isotopes (^{203}Pb ou ^{204}Pb) ont montré qu'environ 10 % du plomb ingéré sont absorbés, essentiellement dans l'intestin grêle, une partie du plomb absorbé pouvant subir un cycle entérohépatique [2]. Toutefois chez l'enfant, l'absorption du plomb pourrait atteindre 50 % [3]. L'absorption de plomb est en fait variable avec l'alimentation. Elle est augmentée au cours du jeûne, des régimes pauvres en protéines ou riches en graisses [4]. À l'inverse, des régimes enrichis en calcium et en phosphate diminuent son absorption [5]. Cependant, l'administration de la vitamine D stimule l'absorption du plomb, suggérant un mécanisme compétitif entre calcium et plomb [6], éventuellement par l'intervention de la CBP (*Calcium Binding Protéin*) dans le transport intestinal du toxique [7]. Le fer est un autre facteur important intervenant dans l'absorption du plomb. Ainsi, la carence martiale favorise l'absorption du toxique chez le rat [8], chez l'enfant et chez l'adulte, probablement par mécanisme compétitif sur la liaison de ces deux métaux à une protéine de transport spécifique. Ce même mécanisme pourrait aussi expliquer les interactions de l'absorption du plomb avec certains oligoéléments, tels le zinc et le sélénium [9]. L'absorption par voie pulmonaire dépend de la taille des particules [3, 10]. Le pourcentage de plomb ainsi absorbé dépend de leur solubilité, et de la fréquence respiratoire [11]. Globalement, on estime qu'environ un tiers du plomb est absorbé par inhalation, l'absorption pouvant atteindre 70 % sous l'effet de la température. Le plomb inorganique ne franchit pas la barrière cutanée saine [3].

La distribution est schématiquement tricompartmentale. Le premier compartiment, comprenant le pool sanguin et des tissus directement en équilibre avec celui-ci, possède une demi-vie de 35 jours. Le second compartiment est formé des tissus mous et possède lui aussi une demi-vie mais un peu plus longue (40 jours). Quant au troisième compartiment, il correspond au plomb lié à l'os et se distingue par une demi-vie très longue (10 à 20 ans) [12]. La fixation du plomb dans le tissu osseux dépend de l'environnement hormonal et nutritionnel. Au total, 95 % du stock de plomb est contenu dans les os. Cette concentration augmente progressivement avec l'âge [1]. Dans le sang, le plomb est fixé pour 95 % aux globules rouges, probablement du fait de son affinité pour les groupements thiols membranaires. Comme sa demi-vie est courte, le plomb sanguin reflète la quantité de plomb absorbée, et quand il y a excès il s'accumule et devient toxique. Le passage du toxique dans le cerveau est

relativement faible, où il s'accumule préférentiellement dans la substance grise et dans les ganglions de la base. Le passage transplacentaire est facile, dès la 12^e semaine, la plombémie du fœtus étant comparable à celle de la mère. Chez celui-ci le plomb se fixe essentiellement dans le cerveau, le rein, et le cœur [13].

Chez l'homme, la voie d'excrétion principale est le rein. La concentration urinaire est proportionnelle au plomb plasmatique, de sorte que la quantité de plomb filtrée reste faible puisque l'énorme majorité du plomb sanguin est fixée aux hématies [14]. La quantité de plomb contenue dans les fèces reflète plus le plomb non absorbé par l'intestin que le plomb excrété par voie biliaire [15].

L'intoxication aiguë par le plomb inorganique est rare et s'accompagne généralement de violentes douleurs intestinales (coliques de plomb) assorties de constipation et des troubles neuropsychiques. Elle peut avoir lieu aussi après absorption volontaire d'un sel de plomb ou lors d'une intoxication accidentelle. Elle ne peut résulter que d'une ingestion massive ou d'une administration parentérale. Elle ne doit pas être confondue avec les manifestations paroxystiques de l'intoxication chronique. Les signes cliniques d'exposition répétée au plomb (intoxication chronique) sont peu spécifiques car les symptômes demeurent pour la plupart du temps discrets et insidieux. Les principales pathologies sont très variées et dissemblables. On relève à titre d'exemple les syndromes abdominaux, l'encéphalopathie, les neuropathies périphériques, les atteintes neurologiques, les atteintes rénales, l'hypertension artérielle, le cancer, les troubles reproductifs, les effets hématologiques (troubles de la synthèse de l'hème avec anémie, hématies à granulations basophiles) [16, 17].

Le plomb modifie les propriétés de nombreuses protéines cytosoliques et membranaires en se liant de façon réversible avec les groupements thiols (-SH) ou par déplacement d'autres métaux, notamment au niveau de la biosynthèse de l'hème. Il inhibe ainsi des enzymes et particulièrement celles de la voie de biosynthèse de l'hème comme l'acide aminolévulinique déshydratase (ALAD) et la ferrochélatase. En conséquence, il diminue la durée de vie des hématies et modifie le métabolisme du fer par diminution de la capacité de fixation et provoque des troubles de maturation des réticulocytes responsables de la présence d'hématies à granulations basophiles [12].

Le cycle d'oxydoréduction du glutathion fait intervenir deux enzymes essentielles: la glutathion réductase (GR) (EC: 1.6.4.2) qui transforme le glutathion oxydé (GSSG) en sa forme réduite (GSH) et la glutathion peroxydase (GPx) (EC: 1.11.1.9), qui active la réaction de transformation des hydroperoxydes en alcools primaires. Ce système enzymatique contient également la glutathion S-transférase (GST) qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les substances étrangères (xénobiotiques, carcinogènes et composés électrophiles, etc.) avec la formation des métabolites glutathion-conjugués [18]. Le glutathion est un tripeptide connu par son rôle important dans la détoxification des composés toxiques électrophiles et les xénobiotiques par des réactions de conjugaison catalysées par la glutathion S-transférase avec la formation d'acides mercapturiques [19].

La GPx est la seule sélénio-enzyme dans les cellules des mammifères, sa molécule contient quatre atomes de sélénium dans le centre actif sous forme de sélénio-cystéine. Elle catalyse les réactions de réduction des peroxydes organiques et inorganiques, en utilisant le glutathion réduit comme donneur de protons, ce qui provoque l'oxydation de glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) et la production d'alcool primaire non toxique [20, 21]. Afin de maintenir un équilibre de l'état d'oxydoréduction de glutathion (GSH/GSSG), la GR qui est une enzyme flavoprotéique cytosolique, catalyse les réactions de réduction du glutathion oxydé (GSSG) en forme réduite (GSH) en présence du co-enzyme NADPH + H⁺ [22]. En d'autres termes, la GR régule et maintient le rapport GSH/GSSG normal, qui est estimé à 100/1 [23]. La fonction importante de cette enzyme contre le stress oxydatif est de protéger la cellule vivante de l'accumulation du glutathion oxydé, des protéines-SSG et d'autres composés disulfures [20]. Le glutathion réduit et la glutathion réductase jouent un rôle important dans la protection des cellules qui ne peuvent pas synthétiser des macromolécules, telles que les fibres des lentilles de l'œil et des érythrocytes matures. Le GSH est essentiel pour la déformation et la flexibilité des globules rouges car il assure la stabilisation des groupements thiols de la membrane cellulaire, de l'hémoglobine et des enzymes cellulaires [24]. L'oxydation du glutathion réduit par la GPx est liée à la réduction de glutathion oxydé par la GR, ceci est important dans la définition de l'état d'oxydoréduction du glutathion. La régulation du rapport GSH/GSSG est une fonction importante pour les deux enzymes et il est très élevé dans les organes de détoxification tels que le foie, les reins et les intestins [25].

Le but de cette recherche est d'étudier le rôle du système redox du glutathion tissulaire après le traitement par un polluant toxique. Pour cela des rats mâles ont été traités pendant sept jours avec trois doses différentes (25, 50 et 100 mg/kg) d'acétate de plomb. L'intérêt de ceci est de clarifier le métabolisme de ce polluant métallique dans l'organisme, notamment au niveau des organes cibles.

2 Matériel et méthodes

2.1 Animaux

Quarante rats mâles (*Albino wistar*) ont été fournis par l'*institut Pasteur d'Alger*, âgés de 10 semaines, avec un poids

moyen de 250 ± 10 g. Les rats ont été exposés à une photopériode journalière de 12 h et une température ambiante de (21 ± 3 °C). Ils ont été nourris par un régime alimentaire standard, l'eau est quotidiennement renouvelée. Après la période d'accoutumance, les animaux ont été répartis au hasard en quatre groupes de dix rats chacun. Le traitement des rats a été réalisé pendant une semaine par injection intrapéritonéale (ip) en administrant 0,5 mL de chaque dose (25, 50 et 100 mg/kg du poids corporel) d'acétate de plomb dilué dans le soluté isotonique de chlorure de sodium. Les rats témoins ont été traités par voie ip avec 0,5 mL uniquement. Vingt-quatre heures après l'arrêt du traitement, le prélèvement du sang et des organes a été fait après la décapitation des rats pour servir le dosage des différents paramètres.

2.2 Méthodes

Les dosages biochimiques sont réalisés en utilisant des prêts à l'emploi (coffrets Spinreact utilisés pour le dosage des paramètres glucose, protéines totales, urée, acide urique, créatinine, phosphates alcalines et aminotransférases). Le glutathion tissulaire est dosé par spectrophotométrie selon la méthode de Weeckbeker et Cory [26]. La malondialdéhyde (MDA) est dosé spectrophotométriquement selon la méthode de Esterbauer *et al.*, [27]. Les activités enzymatiques liées au glutathion (GST, GPx, GR) sont déterminées selon les méthodes de Habig *et al.* [18], Flohe et Gunzler [28], Horn [29] respectivement. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type ($m \pm SD$). Les données de nos résultats ont été exprimées par la moyenne de différents essais ($n = 10$) plus ou moins l'écart type et l'analyse statistique a été réalisée au moyen du logiciel MINITAB (version 13.31), (XLSTAT, 2008). Le modèle utilisé est une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs.

3 Résultats

3.1 Étude physiologique

La variation du poids des différents organes rapportés à 100 g de poids corporel chez les rats témoins et traités par trois doses différentes d'acétate de plomb (25, 50 et 100 mg/kg) pendant une semaine, montre une augmentation significative du rapport hépato-corporel, réno-corporel et spléno-corporel chez les trois lots traités (tableau I).

Tableau I. Variations des rapports hépato-corporel, réno-corporel et spléno-corporel chez les rats témoins et traités avec 25, 50 et 100 mg/kg d'acétate de plomb durant une semaine.

Rapports (%)	Témoins (n = 10)	25 mg/kg (n = 10)	50 mg/kg (n = 10)	100 mg/kg (n = 10)
Hépato-corporel	1,97 ± 0,15	4,82 ± 0,18**	8,06 ± 0,54**	8,19 ± 0,47***
Réno-corporel	0,24 ± 0,01	1,09 ± 0,06**	1,29 ± 0,03***	1,24 ± 0,06***
Spléno-corporel	0,2 ± 0,03	0,42 ± 0,03*	0,89 ± 0,09*	0,94 ± 0,01***

* ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$): différence significative par rapport aux témoins.

3.2 Étude biochimique

Les résultats observés après le dosage sérique de glucose, des protéines, de l'urée, de l'acide urique, de la créatinine, des ASAT, ALAT et des phosphatases alcalines (PAL) sont illustrés au tableau II. Les résultats indiquent une diminution significative de la concentration des protéines chez les lots traités par les doses élevées. Cependant, la concentration des autres paramètres étudiés a augmenté significativement et d'une façon proportionnelle à la dose d'acétate de plomb administrée chaque fois tout en comparant au lot témoin.

3.3 Étude toxicologique

L'évaluation de la toxicité d'acétate de plomb est exprimée par le dosage du glutathion intracellulaire au niveau des différents organes cibles avec ces enzymes liées (GPx, GR, GST), ainsi que le dosage de la MDA hépatique. La concentration du glutathion tissulaire a diminué significativement au niveau de tous les organes étudiés : le foie, les reins et les testicules. Cette diminution est proportionnelle aux doses du polluant administré et spécialement au niveau des organes cibles tels que le foie et les testicules. En revanche, l'auto-oxydation des lipides exprimée par la concentration de la MDA a augmenté significativement, surtout chez les rats traités avec les doses plus élevées (50 et 100 mg/kg d'acétate de plomb) (tableau III). Le

changement significatif des activités des enzymes du glutathion est observé après une semaine de traitement au niveau des groupes traités avec les trois doses (25, 50 et 100 mg/kg) de ce polluant et ceci comparativement au groupe témoin traité par le soluté isotonique de chlorure de sodium (tableau IV). L'augmentation de l'activité enzymatique de la GPx est remarquée chez les trois groupes traités, tandis que l'activité des GR et GST n'a augmenté que chez les lots traités par les doses élevées d'acétate de plomb. Cette augmentation est proportionnelle aux doses administrées d'acétate de plomb.

4 Discussion

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de la concentration du glucose sérique chez les rats traités par les trois doses étudiées d'acétate de plomb. Ceci est directement lié aux effets néfastes d'acétate de plomb sur le pancréas et plus exactement sur l'excrétion d'insuline par les îlots de Langerhans [30].

Dans toutes les agressions par les xénobiotiques le métabolisme hépatique des protéines est modifié vers la production des systèmes de défense et vers la néoglucogenèse. La dégradation des composés protéiques hépatiques, peut expliquer l'augmentation de l'urée et de la créatinine sérique chez les rats traités,

Tableau II. Concentrations des paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités avec 25, 50 et 100 mg/kg d'acétate de plomb durant une semaine.

Paramètres	Témoins (n = 10)	25 mg/kg (n = 10)	50 mg/kg (n = 10)	100 mg/kg (n = 10)
Glucose (g/L)	0,92 ± 0,05	1,08 ± 0,04	1,27 ± 0,03*	1,36 ± 0,03**
Protéines (g/L)	7,58 ± 0,43	4,96 ± 0,48	4,08 ± 0,2***	2,73 ± 0,18***
Urée (g/L)	0,285 ± 0,02	0,339 ± 0,01	0,466 ± 0,019***	0,576 ± 0,015***
Acide urique (mg/L)	29,3 ± 0,9	32,6 ± 0,6	42,9 ± 1,6*	51,2 ± 2,4**
Créatinine (mg/L)	12,8 ± 2,2	24,9 ± 0,8**	35,0 ± 1,0***	47,2 ± 1,9***
ASAT (U/L)	78,1 ± 4,66	99,96 ± 3,12	130,77 ± 2,26***	169,33 ± 4,81***
ALAT (U/L)	28,74 ± 1,39	42,54 ± 1,13**	66,32 ± 0,75***	151,5 ± 9,72***
PAL (U/L)	58,04 ± ,25	64,57 ± 1,10	152,90 ± 15,10*	196,1 ± 24,20*

* (P < 0,05); ** (P < 0,01); *** (P < 0,001): différence significative par rapport aux témoins.

Tableau III. Concentration du glutathion (nM/mg protide) et du MDA tissulaire (nM/mg protide) chez les rats témoins et traités avec 25, 50 et 100 mg/kg d'acétate de plomb durant une semaine.

Organes	Témoins (n = 10)	25 mg/kg (n = 10)	50 mg/kg (n = 10)	100 mg/kg (n = 10)
GSH hépatique	43,8 ± 1,95	32,2 ± 1,07*	25,5 ± 0,89***	22,7 ± 0,96***
GSH rénal	51,0 ± 2,73	34,7 ± 0,81**	24,4 ± 0,81***	20,6 ± 0,21***
GSH testiculaire	55,7 ± 0,01	45,2 ± 0,09**	35,3 ± 0,01***	24,3 ± 0,09***
MDA hépatique	1,06 ± 0,01	1,23 ± 0,04	2,88 ± 0,08***	3,70 ± 0,11***

* (P < 0,05); ** (P < 0,01); *** (P < 0,001): différence significative par rapport aux témoins.

Tableau IV. Activités spécifiques des enzymes antioxydantes du glutathion (GPx, GR et GST) chez les rats témoins et traités avec 25, 50 et 100 mg/kg d'acétate de plomb durant une semaine.

Enzymes	Témoins (n = 10)	25 mg/kg (n = 10)	50 mg/kg (n = 10)	100 mg/kg (n = 10)
GPx ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protéine)	0,45 \pm 0,005	0,57 \pm 0,01**	0,66 \pm 0,005***	0,79 \pm 0,02***
GR (U/l)	3,62 \pm 0,24	4,46 \pm 0,11	5,42 \pm 0,21*	6,77 \pm 0,08***
GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protéine)	0,15 \pm 0,008	0,19 \pm 0,001	0,24 \pm 0,001*	0,35 \pm 0,008***

* ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$): différence significative par rapport aux témoins.

où les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine. Ainsi ces acides aminés formés peuvent se transformer sous l'action des aminotransférases sériques en composés carboxyliques tel que l'acide pyruvique [31]. Hammond *et al.* [32] ont montré l'existence d'une relation étroite entre la concentration de plomb sanguin et le niveau de l'urée et de la créatinine. Lorsque la concentration de plomb sanguin approche de 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ceci conduit à une augmentation sérique du taux d'urée et de la créatinine. Cette augmentation est consécutive de la dégradation des protéines totales. Fowler [33] a confirmé que l'insuffisance rénale chez des rats traités par l'acétate de plomb peut être interprétée par l'augmentation des concentrations d'urée et de la créatinine par rapport aux témoins. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Thylambal et Saroja [34] qui ont montré que les cellules rénales ne sont plus capables de contrôler le processus d'excrétion urinaire, car les reins sont parmi les organes les plus sensibles au plomb. En outre, Bonsignore *et al.* [35] ont présenté deux hypothèses concernant l'augmentation sérique d'acide urique. Selon la première, l'augmentation est due à l'effet direct du plomb sur le métabolisme de l'acide urique. Selon la seconde, elle est la résultante des troubles morphologiques au niveau des néphrons.

L'administration intra péritonéale des rats par le plomb provoque une diminution de la concentration d'hémoglobine accompagnée d'une augmentation de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et de la concentration de malondialdéhyde (MDA), ceci peut conduire à un état de stress oxydatif notamment au niveau des globules rouges [36]. Récemment, plusieurs travaux ont prouvé que l'exposition au plomb rend les globules rouges très sensibles aux différents oxydants, provoquant une hémolyse sanguine [37].

Le foie constitue une cible importante du plomb. Ce dernier possède une grande affinité pour les groupements thiols protéiques des membranes cellulaires hépatiques, ce qui conduit à des nécroses hépatiques et la sortie des aminotransférases dans le sérum. Ce résultat est confirmé par les travaux de Gurer et Ercal [38]. La détoxification des métabolites toxiques se fait par le scavenging (balayage) du glutathion réduit (GSH). Cependant, les quantités élevées des métabolites toxiques conduisent à un épuisement de glutathion hépatique suite à l'augmentation des radicaux libres. Ces oxydants entraînent une nécrose au niveau des cellules hépatiques induisant l'augmentation de la concentration des aminotransférases [37].

Upadhyay *et al.* [39] ont démontré que les rats nourris par des aliments contaminés par le plomb subissent un état de stress oxydatif lié à une élévation sérique des aminotransférases et des phosphatases alcalines (PAL). Ce phénomène est dû à l'accumulation des acides aminés tels que l'alanine et l'acide glutamique résultant de la dégradation des protéines somatiques. Ces acides aminés se transforment sous l'action des aminotransférases en corps cétoniques puis en glucose (néoglucogénèse). En conséquence l'élévation des aminotransférases sériques confirme le résultat précédent concernant l'hyperglycémie chez les rats traités par l'acétate du plomb.

Ces perturbations biochimiques sont indirectement liées à l'augmentation des rapports hépato-corporel, réno-corporel et spléno-corporel après le traitement par l'acétate de plomb. Ce résultat concorde totalement avec les travaux des Hammond *et al.* [32]. Ces derniers ont remarqué que les rats gavés d'acétate de plomb subissent une perte de poids corporel, en revanche les rapports hépato-corporel, réno-corporel et spléno-corporel sont largement augmentés. Ces organes sont des tissus cibles à l'intoxication au plomb, ce qui augmente leur taille [40].

L'effet de l'acétate de plomb sur la concentration du GSH tissulaire et les activités des enzymes antioxydantes (GPx, GR et GST) s'accompagne d'une augmentation des radicaux libres (ROS). Ces derniers ont initié la peroxydation lipidique [39], d'où nos résultats montrent une augmentation de la concentration de MDA hépatique, qui est un biomarqueur de la peroxydation lipidique. L'acétate de plomb a provoqué une diminution importante de la concentration de GSH au niveau des organes étudiés (foie, reins et testicules). Cette baisse de GSH peut être expliquée par sa participation dans les réactions de détoxification des ROS et des métaux lourds (le plomb présente une grande affinité via le groupement thiol du GSH), ou par l'inhibition de la glutathion synthétase (GS) par le plomb. L'augmentation sensible de l'activité enzymatique de la GPx et de la GR après le traitement par l'acétate de plomb peut être expliquée par la participation du glutathion réduit dans les réactions de réduction des peroxydes formés. Le glutathion réduit (GSH) transformé en sa forme oxydée (GSSG), entraîne alors la modification du ratio normal GSH/GSSG. En fait, la glutathion réductase restaure ce rapport à l'ordre de 100/1 par la réduction du GSSG en GSH [41]. En revanche, l'activité élevée de la GST chez les rats traités explique la participation de cette enzyme dans les réactions de conjugaison des composés

toxiques électrophiliques dérivant du métabolisme de l'acétate de plomb avec le GSH pour former les acides mercapturiques non toxiques excrétés dans les urines. La baisse de la concentration de GSH est en concordance avec l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes. Ceci est probablement dû à l'apparition d'une grande quantité de peroxydes sous l'influence de l'acétate de plomb. La capacité du GSH à réduire les hydroperoxydes formés lors du métabolisme du plomb, sous l'action de la GPx, conduit à l'oxydation massive du GSH en glutathion oxydé (GSSG) menant à un déséquilibre du rapport GSH/GSSG. L'augmentation de l'activité de cette enzyme (GPx) montre que les cellules du foie peuvent probablement contenir une forte concentration d'eau oxygénée et d'hydroperoxydes organiques [25]. Grâce aux réactions d'oxydoréduction catalysées par la GPx, le glutathion réduit est capable de détoxifier les différents types d'hydroperoxydes provenant du métabolisme des polluants. Le GSH est alors transformé en sa forme oxydée (GSSG), ceci entraîne la consommation du GSH qui est la raison de sa diminution significative. Pour maintenir un rapport normal GSH/GSSG, qui est d'environ 100/1, la GR intervient en utilisant le NADPH + H⁺ pour la réduction du GSSG à la forme réduite (GSH). Sies *et al.* [42] ont affirmé que cette enzyme est responsable de la régénération de plus de 97 % du glutathion réduit total à partir du glutathion oxydé.

5 Conclusion

Les résultats de notre étude nous autorisent d'abord à affirmer qu'une exposition intra-péritonéale à l'acétate de plomb pendant une période de courte durée à des doses quotidiennes suffisamment élevées (25, 50 et 100 mg/kg), provoque systématiquement une modification des rapports organo-corporels (hépatocorporel, réno-corporel et spléno-corporel), une altération du métabolisme biochimique (glucose, protéines, urée, acide urique, créatinine, ASAT, ALAT, PAL) et une perturbation du système de détoxification du glutathion (GSH, GPx, GR et GST). Ils nous incitent aussi à envisager l'élaboration d'une autre recherche axée sur les mécanismes de défense radicalaire par le dosage d'autres marqueurs du stress oxydatif (rapport GSH/GSSG, SOD, Cytochrome P450, catalase, vitamines, etc.). Enfin, nous pouvons dire que l'acétate de plomb a un effet toxique sur le foie, les reins et la rate, il influence aussi le système de protection du glutathion, ce qui augmente la formation des peroxydes et des xénobiotiques.

Remerciements

Ce travail constitue un des axes du projet de recherche agréé par le ministère (MESRS) en Algérie sous le numéro F01120100001, intitulé: « Les conséquences biologiques et médicales du stress oxydant ». Nous remercions l'équipe de l'*Institut Pasteur d'Alger* pour nous avoir fourni les rats.

Conflits d'intérêts. Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts.

Références

1. Barry PSI. A comparison of concentrations of lead in human tissues. *Br J Ind Med.* 1975; 32: 119–139.
2. Hać E, Krechniak J. Lead levels in bone and hair of rats treated with lead acetate. *Biol Trace Elem Res.* 1996, 52: 293–301.
3. Taylor A. Metabolism and toxicology of lead. *Rev Environ Health.* 1986; 6: 1–83.
4. Winship KA. Toxicity of lead: a review. *Adv Drug React.* 1989; 8: 117–152.
5. Quaterman I, Morrison IN. The influence of high dietary calcium and phosphate on lead uptake and release. *Environ Res.* 1978; 17: 60–67.
6. Smith CM, DeLuca HF, Tanaka Y, Mahaffey KR. Effects of lead ingestion on functions of vitamin D and its metabolites. *J Nutr.* 1981; 118: 824–828.
7. Mykkanen HM, Fullmer CS, Wasserman RM. Effect of phosphate on the intestinal absorption of lead (²⁰³Pb) in chicks. *J Nutr.* 1984; 114: 68–74.
8. Ragan HE. Effects of iron deficiency on the absorption and distribution of lead and cadmium in rats. *J Lab Clin Med.* 1977; 90: 700–706.
9. Watson WS, Hume R, Moore MR. Oral absorption of lead and iron. *Lancet.* 1980; 2: 236–237.
10. Garnier R, Poupon J. Biomarqueurs de l'exposition aux métaux. Congrès SFT – Biomarqueurs de Toxicité. Paris: Société Française de Toxicologie, 2004.
11. Rendall REC, Baily P, Soskolne CL. The effect of particle size on absorption of inhaled lead. *Am Ind Hyg Ass J.* 1975; 36: 207–213.
12. Kaminsky P, Klein M, Duc M. Physiopathologie de l'intoxication par le plomb inorganique. *Rev Med Interne.* 1993; 14: 163–170.
13. Lauwerys R, Buchet IP, Roels H, Hubermont G. Placental transfer of lead, mercury, cadmium, and carbon monoxide in women. Comparison of the frequency distribution of the biological indices in maternal and umbilical cord blood. *Environ Res.* 1978; 15: 278–289.
14. Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Fréjaville J, Garnier R *et al.* Toxicologie clinique. Paris: Flammarion Médecine Sciences, 2000.
15. Rabinowitz M, Wetherhill G, Kopple I. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *J Clin Invest.* 1978; 58: 260–270.
16. Garnier R. Toxicité du plomb et de ses dérivés. *EMC-Toxicol Pathol.* 2005; 2: 67–88.
17. Viala A, Botta A. Toxicologie. 2^e Édition. Paris: Édition Lavoisier, 2005.
18. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974; 249: 7130–7139.
19. Jacoby WB. The glutathione S-transferase: A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1978; 46: 383–414.

20. Bellomo G, Mirabelli F, Di Monte D, Richelmi P, Thor H, Orrenius C *et al.* Formation and reduction of glutathione-protein mixed disulfides during oxidative stress. *Biochem Pharmacol.* 1987; 36(8): 1313–1320.
21. Di Ilio C, Del Boccio G, Casaccia R, Aceto A, Di Giacomo F, Fedirici G. Selenium level and glutathione-dependent enzyme activities in normal and neoplastic human lung tissues. *Carcinogenesis.* 1987; 8: 281–284.
22. Schirmer RH, Krauth-Siegel RL, Shulz GE. Glutathione reductase. In: Dolphin D, Poulson R, Avramovic O (coordinators). *Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects (part A).* New York: John Wiley and Sons, 1989 : 553–596.
23. Zhu BT, Liehr JG. Quercetin increases the severity of estradiol induced tumorigenesis in hamster kidney. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1994; 125: 149–158.
24. Krohne EG, Schirmer RH, Untucht-Grau R. Glutathione reductase from human erythrocytes, isolation of the enzyme and sequence analysis of the redox-active peptide. *Eur J Biochem.* 1971; 80: 65–71.
25. Aouacheri W, Saka S, Djafer R, Lefranc G. Effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracétamol chez les rats. *Ann Biol Clin.* 2009; 67(6): 619–627.
26. Weckbercker G, Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depended mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett.* 1988; 40: 257–264.
27. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jungens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.* 1992; 13: 341–390.
28. Flohe L, Gunzler WA. Analyse of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984; 105: 114–121.
29. Horn HD. Glutathione reductase. In: Bergmayer H (coordinateur). *Methods of enzymatic analysis.* New York: Academic Press, 1965 : 875–879.
30. Ramirez-cervante B, Embree JW, Hine CH, Nelson KW, Varner MO, Putnam RD. Health assessment of employers with different body burden of lead. *J Med Occup.* 1978; 20(8): 610–617.
31. Bergmeyer H. Dietary nitrate in man: friend or foe? *Clin Chim Acta.* 1980; 105: 147–152.
32. Hammond PB, Lerner SI, Gartside P.S, Hanenson IB, Roda SB, Foulkes EC *et al.* The relationship of biological indices of lead exposure to the health status of workers in a secondary lead smelter. *J Occup Med.* 1980; 22(7): 475–484.
33. Fowler BA, Du Val G. Effects of lead on the kidney: Roles of high-affinity lead binding proteins. *Environ Health Perspect.* 1991; 91: 77–80.
34. Thylambal R, Saroja PM. Therapeutic efficacy of lipoic acid in combination with dimercaptosuccinic acid against lead-induced renal tubular defects and on isolated brush-border enzyme activities. *Chem Biol.* 2004; 147: 259–271.
35. Bonsignore D, Calissano P, Cartasegna C. Un senylice metado per la determinazione della α -amino-levulinicodeidratasi nel sangue: comportamento dell'ertzima nell'intossicazione saturnina. *Med Lavoro.* 1965; 56: 199–205.
36. Berrahal AA, Nehdi A, Hajjaji N, Gharbi N, El-Fazâa S. Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. *C R Biol.* 2007; 330: 581–588.
37. Saxena G, Flora SJS. Lead-induced oxidative stress and hematological alterations and their response to combined administration of calcium disodium EDTA with a thiol chelator in rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2004; 18(4): 221–233.
38. Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radical Biol Med.* 2000; 29(10): 927–945.
39. Upadhyay AK, Mathur R, Bhadauria M, Nirala SK. Therapeutic influence of zinc and ascorbic acid against lead induced biochemical alterations. *Thérapie.* 2009; 64(6): 383–388.
40. Mestek O, Deyl Z, Miksik I, Novatna J, Pfeifer I, Herget J. Accumulation of lead in tissues after its administration in drinking water laboratory rats. *Physiol Res.* 1998; 47: 197–202.
41. Zhu BT, Liehr JG. Quercetin increases the severity of estradiol-induced tumorigenesis in hamster kidney. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1994; 125: 149–158.
42. Sies H, Brigelius R, Akarboom TPM. Intrahepatic glutathione status. In: Larsson A (coordinateur). *Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological and chemical aspects.* New York: Raven Press, 1983 : 51–65.