

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université de Saida- Dr. Moulay Tahar
Faculté des Sciences
Département de Biologie



N d'ordre :

Thèse de doctorat Es-sciences

En Biologie

Spécialité: Biologie

Présenté par

M^{me} : Semiria Lamia

Thème :

Contribution à l'étude de l'effet thérapeutique de
l'*Opuntia ficus-indica* suite à une intoxication des rats
wistars aux métaux lourds. Etude biochimique et
histologique

Soutenu devant le jury (proposé) :

Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
Slimani Miloud	Prof	Université de Saida	Président
Ammam Abdelkader	MCA	Université de Saida	Rapporteur
Hachem Kadda	Prof	Université de Saida	Co-promoteur
M'hamdia Chafik	MCA	Université de Sidi Belabbes	Examineur
Bekkouche Asia	MCA	Centre universitaire de Naama	Examineur
Belmamoun Ahmed Reda	MCA	Université de Sidi Belabbes	Examineur

Année universitaire : 2021-2022

Abstract

In this study, the total phenolic levels and antioxidant activities of Cladodes from *Opuntia ficus indica* extracts originating from Saida in Algeria were determined. The phenolic components of these extracts were also determined using HPLC. Total phenolic levels ranged from 10.75 to 1.80 mg g EC/mg E, total flavonoid components of the extract ranged from 7.99 to 1.31 g EC/mg E. Antioxidant activity of the aqueous extract was increased according to FRAPP, CE50 scored 750 2.1 (g/ml) and free radical DPPH antiradicular activity was scored CI50 (18724.3 g/ml). The phenolic compounds identified by HPLC were acid cinapine ascorbic acid nicotamide tannic acid cafein vanillin kaempherol quercetin myirecetin epicatechin/catechin and five unknown compounds. All of the plants studied contain kaempherol (41%), epicatechin/catechin (14.5%), quercetin (12.9%), myrecetin (8, 9%), Vaniline (7.8%), Ascorbique Acid (3.1%), Nicotamide (2.7%), Tannic Acid (0.4%), Caffeine (0.1%), Cinapic Acid (0.1 %). the aqueous extract has significant antioxidant activities in vitro, the results indicated that the OFI could be attributed to a potential source of natural antioxidant for food applications.

The present study showed that intravenous injection of 6.5 mg CdCl₂/kg in rats caused a significant increase in serum urea and creatinine levels, a significant decrease ($p < 0.05$) in total protein levels in the group of Cd-treated rats compared to normal control rats can be attributed to the oxidation of proteins, forming protein adducts responsible for oxidative damage. However, the significant increase ($p < 0.05$) in total protein content of the Cd-treated group of rats co-treated with the aqueous extract of prickly pear cladodes, as well as the groups of normal rats treated with I, was the aqueous extract of fig cladodes may be the result of Cd intoxication-induced damage to kidney and liver cells, which could subsequently lead to disruption of protein biosynthesis. In this study, severe hepatic insufficiency was caused by the significant increase in γ -GT, PAL, ALT, AST, and serum liver enzyme activity in the Cd-induced hepatotoxicity group compared to the normal control group. The lowering of elevated levels of urea, uric acid, and creatinine by cadmium may indicate that the aqueous extract of fig cladode exerts a nephroprotective effect when exposed to Cd.

KEYWORDS: *Opuntia ficus-indica*; cladodes; flavonoids; phenolics; aqueous extract; Antioxidant activity ; Cadmium, intoxication

Résumé

Dans cette étude, les niveaux phénoliques totaux et les activités antioxydantes des Cladodes à partir d'extraits d'*Opuntia ficus indica* provenant de Saida en Algérie ont été déterminés. Les composants phénoliques de ces extraits ont également été déterminés par HPLC. Les niveaux phénoliques totaux variaient de 10,75 à 1,80 mg g EC/mg E, les composants flavonoïdes totaux de l'extrait variaient de 7,99 à 1,31 g EC/mg E. L'activité antioxydante de l'extrait aqueux a été augmentée selon FRAPP, CE50 a marqué 750 2,1 (g /ml) et l'activité antiradiculaire DPPH des radicaux libres a été notée CI50 (18724,3 g/ml). Les composés phénoliques identifiés par HPLC étaient l'acide cinapine l'acide ascorbique le nicotamide l'acide tannique la caféine la vanilline le kaempherol la quercétine la myricétine l'épicatéchine/catéchine et cinq composés inconnus. Toutes les plantes étudiées contiennent du kaempherol (41%), de l'épicatéchine/catéchine (14,5%), de la quercétine (12,9%), de la myricétine (8,9%), de la vaniline (7,8%), de l'acide ascorbique (3,1%), de la nicotamide (2,7 %), Acide Tannique (0,4%), Caféine (0,1%), Acide Cinapique (0,1%). l'extrait aqueux a des activités antioxydantes significatives in vitro, les résultats ont indiqué que l'OFI pourrait être attribué à une source potentielle d'antioxydant naturel pour des applications alimentaires.

La présente étude a montré que l'injection intraveineuse 6,5 mg CdCl₂/kg chez les rats entraînait une augmentation significative des taux sériques d'urée et de créatinine la réduction significative ($p < 0,05$) du niveau de protéines totales dans le groupe de rats traités au Cd par rapport aux rats témoins normaux peut être attribué à l'oxydation des protéines formant ainsi adduit protéique responsable des dommages oxydatifs. Cependant, l'élévation significative ($p < 0,05$) du taux de protéines totales du groupe de rats traités au Cd co-traités avec l'extrait aqueux de cladodes du figuier de barbarie ainsi que des groupes de rats normaux traités avec du l'extrait aqueux de cladodes du figuier de peut être le résultat d'une lésion des cellules rénales et hépatiques induite par une intoxication au Cd qui pourrait induit à la suite une perturbation de la biosynthèse des protéines. Dans cette étude, une atteinte hépatique sévère a été observée par l'élévation significative de l'activité des enzymes hépatiques ALAT, ASAT et dans le sérum du groupe d'hépatotoxicité induite par le Cd par rapport avec le groupe témoin normal. La réduction des taux élevés d'urée, d'acide urique et de créatinine parle cadmium peut suggérer que le l'extrait aqueux de cladodes du figuier de exerce une action un effet néphro-protectrice lorsqu'il est exposé au Cd.

MOTS-CLÉS : *Opuntia ficus-indica* ; cladode; flavonoïdes; phénoliques; extrait aqueux; Activité antioxydantes ; Cadmium ; Intoxication

الملخص

في هذه الدراسة ، تم تحديد المستويات الفينولية الكلية والأنشطة المضادة للأكسدة لاوراق نبات الصبار من مستخلصات التي منشؤها مدينة سعيدة في الجزائر. كما تم تحديد المكونات الفينولية لهذه المستخلصات *Opuntia ficus indica* ، تراوحت مكونات E مجم / EC تراوحت مستويات الفينول الكلية من 75.10 إلى 80.1 مجم / جرام باستخدام HPLC. باستخدام مجم هـ. تم زيادة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص المائي / EC الفلافونويد الكلية للمستخلص من 99.7 إلى 31.1 جم / 18724.3 CI سجل DPPH سجل 1.2 750 (جم / مل) ونشاط مضاد للجذور الحرة CE50 ، FRAPP وفقاً لـ هي حمض سينايبين حمض الأسكوربيك نيكوتاميد حمض HPLC مل). كانت المركبات الفينولية التي تم تحديدها بواسطة التانيك كافيين فانيلين كايمفيرول كيرسيتين ميريسيتين إبيكاتشين / كاتشين وخمسة مركبات غير معروفة. تحتوي جميع النباتات المدروسة على الكايمفيرول (41٪) ، الإبيكاتشين / الكاتشين (5.14٪) ، كيرسيتين (9.12٪) ، الميريسيتين (8) ، (9٪) ، الفانيلين (8.7٪) ، حمض الأسكوربيك (1.3٪) ، نيكوتاميد (7.2٪) ، حمض التانيك (4.0٪) ، كافيين (1.0٪) ، حمض سينايبك (1.0٪). يحتوي المستخلص المائي على أنشطة كبيرة مضادة للأكسدة في المختبر ، وأظهرت النتائج أن يمكن أن تعزى إلى مصدر محتمل لمضادات الأكسدة الطبيعية لتطبيقات الغذاء OFI

أظهرت الدراسة الحالية أن الحقن الوريدي بمقدار 6.5 مجم $CdCl_2$ / كجم في الجرذان تسبب في زيادة معنوية في مستويات اليوريا والكرياتينين في الدم ، وانخفاض معنوي ($P > 0.05$) في مستوى البروتين الكلي في مجموعة الفئران المعالجة بالـ Cd مقارنة مع يمكن أن تعزى الجرذان العادية إلى أكسدة البروتينات وبالتالي تكوين بروتين مقرب مسؤول عن الضرر التأكسدي. ومع ذلك ، فإن الارتفاع المعنوي ($p > 0.05$) لمستوى البروتين الكلي لمجموعة الجرذان المعالجة بمحلول الكاديوم تمت معالجته بالمستخلص المائي لكتل الثين الشوكي وكذلك مجموعات الفئران الطبيعية المعالجة بـ I المستخلص

المائي للتئين. قد تكون cladodes نتيجة لتلف خلايا الكلى والكبد الناجم عن تسمم الكادميوم الذي يمكن أن يؤدي لاحقاً إلى تعطيل التخليق الحيوي للبروتين. في هذه الدراسة ، كانت الكثافة الكبدية الحادة ناتجة عن الارتفاع الكبير في نشاط إنزيم ALT و AST وأنزيم الكبد في المصل في مجموعة السمية الكبدية المستحثة بالـ Cd مقارنة بمجموعة التحكم العادية. قد يشير الانخفاض في مستويات اليوريا وحمض البوليك والكرياتينين المرتفع بواسطة الكادميوم إلى أن المستخلص المائي من cladodes التين يمارس تأثيراً وقائياً للكلى عند تعرضه لـ Cd.

الفلافونويد. الفينولات. مستخلص مائي النشاط المضاد. Opuntia ficus-indica ؛ cladodes. الكلمات الرئيسية الكادميوم, تسمم, للأكسدة

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ALAT : Alanine Aminotransférase.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

ANOVA : Analysis Of Variance.

ARN : Acide Ribonucléique. **ASAT** : Aspartate Aminotransférase.

CAT : Catalase.

CE₅₀ : Concentration Efficace médiane.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

dL : décilitre.

DPPH : 2,2, diphényl-1-picrylhydrazyle.

EDTA : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique.

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. **EQ** : équivalent de quercétine.

ERN : Espèces réactives de l'azote.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

GSH : Glutathion réduit.

GSH-Px : Glutathion Peroxydase. **HCl** : Chlorure d'hydrogène.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance. **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène.

H₂O : molécule d'eau.

iv : injection intraveineuse.

L : litre.

LDH : lactate déshydrogénase.

mg : milligramme.

min : minute.

ml : millilitre.

mM : millimolaire.

mmol : millimole.

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

nm : nanomètre.

nmol : nanomole.

ng : nanogramme.

NO : monoxyde d'azote.

O₂ : dioxygène. A.Dif (2022).

O₂ .- : anion superoxyde.

OFI : *Opuntia ficus indica*

PAL: Phosphatase Alcaline.

pH : potentiel d'hydrogène.

E₂. P/V : poids / volume.

RSA : Radical Scavenging Activity.

rpm : rotation par minute.

Sec : seconde.

S.E.M : erreur standard a la moyenne.

SOD : Superoxyde Dismutase.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor.

tr/min : tour /minute.

U/cg : Unité/ centigramme.

U/g : Unité/ gramme.

U/mg : Unité/ milligramme.

UI/L : Unité Internationale/ litre.

μ L : microlitre. μ m : micromètre.

μ mol : micromole.

UV : ultraviolet.

V/V: volume / volume.

γ -GT : gamma glutamyl-transférase.

Table des matières

Liste des tableaux	Erreur ! Signet non défini.
INTRODUCTION	19
CHAPITRE 1. GENERALITES SUR LE FIGUIER DE BARBARIE	19
INTRODUCTION :	19
2.1. Définition.....	20
2.2 Origine et diffusion	20
2.3 Morphologie	22
2.4 Classification	23
3. Figuier de Barbarie (<i>Opuntia ficus indica</i>).....	23
3.1. Définition.....	23
3.2. Distribution.....	24
3.3. Taxonomie.....	24
3.4. Description morphologique	25
3.5. Physiologie	26
3.7. Reproduction et techniques de multiplications.....	28
3.8. Exigences écologiques	29
3.9. Répartition géographique	31
3.10. Espèces et cultivars	31
3.11.1. Alimentation humaine	32
3.11.2. Production de fourrage pour le bétail	33
3.11.3. Apiculture.....	34

3.11.4. Produits.....	34
• Production des huiles.....	34
• Production en agroalimentaire.....	34
– La Transformation technologique des fruits.....	35
• Production de colorants	35
– Bétalaine.....	35
• Production cosmétique et pharmaceutique	36
• Production d’aliments	36
• Engrais vert.....	36
• Combustible.....	37
4. Cladodes du figuier de Barbarie.....	37
4.1. Morphologie	37
4.3. Applications pharmaceutiques et cosmétiques.....	38
Chapitre 2. Propriétés antioxydantes.....	39
1. Radicaux libres et stress oxydatif.....	39
1.1. Radicaux libres.....	39
1.2. Moyens de défense contre les radicaux libres	41
• Prévention à plein temps	42
• Détoxification active à la suite d’une attaque oxydante.....	42
-Détoxification passive.....	43
2. Antioxydants	43
2.1. Antioxydants enzymatiques.....	43
2.2. Antioxydants non-enzymatiques	44
2.2.1. Antioxydants endogènes.....	44
2.2.2. Antioxydants exogènes.....	44
3.1. Réactions de transfert de proton d’hydrogène :.....	48
3.2. Réactions de transfert :.....	48
4. Définition des métaux lourds et métalloïdes	49
4.1 Origine de la pollution par les métaux lourds	49
4.2 Métaux lourds et leurs effets sur les organismes vivant.....	49
5. Cadmium	52
5.1-Généralités sur le cadmium.....	52
5. 1.1- Mécanisme de toxicité du Cadmium.....	52
5. 2- Intoxication aiguë.....	53
5. 2. 1- Intoxication aiguë par voie digestive	53

5.2.2- Intoxication aiguë par voie respiratoire.....	53
5.2.3- La fièvre des métaux	54
5. 2. 4- Pneumopathie cadmique	54
5. 3- Intoxication chronique	54
5. 4- Pathologies liées au cadmium	56
5.4.1- Effet sur la fonction respiratoire	56
5.4.3- Effet sur la fonction cardiaque	57
5.4.4- Effet sur Le système nerveux.....	57
5.4.5- Génotoxicité du cadmium	58
5.4.6- Effet moléculaire du cadmium	60
Chapitre II : Matériel et Méthodes II.....	63
II.1.1Matériel végétal	64
II.2.1. Détermination des polyphénols	65
II.2.2. Détermination des flavonoïdes	66
II.2.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante par réduction de DPPH•.....	66
II.2.3.2 Piégeage des radicaux libres par le test FRAP.....	67
II.2. 4. Détermination de la composition chimique de l'extrait aqueux par HPLC/UV	67
II.3. Animaux d'expérimentation.....	68
II.3.1Protocole expérimental	68
II.4.Sacrifice	69
II.5. Préparation de la matrice mitochondriale	69
II.6. Dosage des paramètres biochimiques	70
II.6.1. Glycémie.....	70
II.6.2. Urée	70
II.6.3Créatinine.....	70
II.6.4. Aspartate-aminotransférase (ASAT)	70
II.6.5. Alanine aminotransférase (ALAT)	71
II.6.6. Phosphatase alcaline (PAL).....	71
II.6.7. Gamma glutamyl transférase (γ -GT)	71
II.7. Histologie.....	72
II.8. Analyses statistiques	73
III. Résultats et discussion.....	76
III.1. Teneur totale en phénols (TP) et teneur totale en flavonoïdes (TF).....	76
3.2.1. Test DPPH et FRAP	77
III.2.2. Résultats de l'analyse chromatographique par HPLC.....	79

Partie IV : Effet de l'extrait aqueux de cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> sur la toxicité induite par le cadmium	85
IV.1. Résultats III.1.1. Les paramètres biochimiques	85
IV.1.1.1. Glycémie	85
IV.1.1.2. Urée	86
IV.1.1.2. Créatinine	87
IV.1.3.. Aspartate-aminotransférase (ASAT).....	87
IV.1.1.4. Alanine aminotransférase (ALAT).....	88
IV.1.1.5. Gamma glutamyl transférase (γ -GT).....	89
IV.1.1.6. Phosphatase alcaline (PAL)	90
IV.3. Discussion	95
Conclusion et perspectives	99
Références bibliographiques.....	103

Liste des figures

Figure 1 Une espèce du figuier de Barbarie *Opuntia ficus indica*.....**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 2: Carte illustrant l'aire de distribution du cactus à son origine (Lamb, 1991).....**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 3 : Schéma illustrant quelques organes du cactus..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 4 : Schéma illustrant les différentes parties du figuier de Barbarie**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 5: Photosynthèse de type CAM.**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 6 : Schéma illustrant la technique de bouturage **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 7 : Morphologie des cladodes du figuier de Barbarie **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 8 : Schéma illustrant les molécules intervenant dans les protections cellulaires.....**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 9 : Différentes structures chimiques de la vitamine C et réaction avec les radicaux.**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 10: Structures chimiques des tocophérols et des tocotriénols**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 11 Exemple de carotène et de xanthophylle. ...**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 12 Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane. .. **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 13 Mécanismes d'actions antioxydantes des composés phénoliques**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 14: Schéma général des conséquences biologiques d'une intoxication cellulaire au cadmium.**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 15 Etapes de l'obtention de poudre des cladodes d'Opuntia ficus indica**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 16 Etapes de l'extraction par macération partir des cladodes**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 17 Structure chimique du non radical DPPHH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine).....**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 18 Réaction FRAP entre Fe^{3+} -TPTZ et l'antioxydant.....**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 19 Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait aqueux de cladodes d'Opuntia ficus indica**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 20 Activité antioxydante de l'extrait aqueux de cladodes d'Opuntia ficus indica par le pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP) .**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 21 L'effet de la concentration sur les niveaux d'activité de piégeage de l'extrait aqueux des cladodes d'Opuntia ficus indica contre radical DPPH. **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 22 Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur la glycémie chez les rats males**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 23 Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur l'urée chez les rats males**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 24 Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur l'ALAT chez les rats males**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 25 Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur Le taux de gamma glutamyl transférase (γ -GT) chez les rats males.**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 26 Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur Le taux de phosphatase alcaline (PAL) chez les rats males.....**Erreur ! Signet non défini.**

Liste des tableaux

Tableau 1 Impact du cadmium sur les organes	57
Tableau 2 Résultat en polyphénols totaux chez <i>Opuntia ficus indica</i>	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 3 Résultat des flavonoïdes totaux chez <i>Opuntia ficus indica</i>	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 4 Résultat de l'analyse chromatographique HPLC d' <i>Opuntia ficus indica</i>	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 5 Résultat de l'analyse chromatographique HPLC d' <i>Opuntia ficus indica</i>	Erreur ! Signet non défini.

Introduction générale

Introduction

En son temps, Hippocrate disait déjà que « *pour approfondir la médecine, il faut considérer d'abord les saisons, connaître la qualité des eaux, des vents, étudier divers états des sols et le genre de vie des habitants* » le lien entre l'environnement d'un individu et sa santé n'est pas *a priori*, pas nouveau, pourtant paradoxalement, depuis l'antiquité la qualité de l'environnement humain s'est détériorée avec l'amélioration de sa qualité de vie. La nature a longtemps été une source cruciale de thérapeutique. Les substances d'origine végétale ayant une pertinence biomédicale ont acquis une grande popularité et un accès au marché international en tant qu'ingrédients synthétiques plus sûrs et plus efficaces des produits pharmaceutiques et cosmétiques, qui sont considérés comme lourds d'effets secondaires et d'éventuelles interactions toxiques. Actuellement, un tiers à près de la moitié de tous les médicaments disponibles sont dérivés de plantes ou d'autres sources naturelles (Barnes et al., 2002 ; Khan et al., 2013 ; OMS, 2004). Les polyphénols ont reçu une énorme attention en tant qu'ingrédients actifs pharmaceutiques et cosmétiques. C'est un groupe très diversifié de composés phénoliques naturels qui comprend plusieurs sous-groupes : les acides phénoliques, les flavonoïdes (isoflavones, néoflavonoïdes, chalcones, flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols, proanthocyanidines, anthocyanidines), les amides polyphénoliques et les polyphénols non flavonoïdes (ex. resvératrol, curcumine) (Tsao, 2010). De nombreuses études récentes illustrent leur pertinence dans l'évitement des maladies dégénératives (cancer, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives etc.) liées au stress oxydatif déclenché par les propriétés réactives et la pertinence biomédicale du phytosome, 23 espèces d'oxygène et d'azote (Dashwood, 2007; Khan et al ., 2013 ; Quiñones et al., 2013 ; Semalty et al., 2010 ; Tangney et Rasmussen, 2013). La puissante activité antioxydante des polyphénols a été démontrée *in vitro* et *in vivo* et a été attribuée à la neutralisation des radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène, supprimant ainsi la production de radicaux libres et réduisant la fréquence d'oxydation en inhibant la formation de radicaux libres ou désactivation réduisant les espèces actives et précurseurs de radicaux libres ou en neutralisant les radicaux libres, stoppant les réactions en chaîne (Tsao, 2010). En médecine traditionnelle,

l'extrait de cladodes *d'Opuntia ficus indica* est utilisé pour ses propriétés cicatrisantes et antiulcéreuses (EM Galati, Tripodo, Trovato, Miceli & Monforte, 2002 ; EH Park & Chun, 2001).

Les métaux lourds (plomb, mercure, arsenic, cadmium...) sont des polluants engendrés pour la plupart du temps par l'activité humaine. Ils ont un fort impact toxicologique sur les végétaux, les produits de consommation courante et sur l'homme. En effet, les principales causes de contamination au cadmium chez l'homme sont l'alimentation (poisson, mollusques, végétaux riches en fibre) et le tabagisme (Jarup, 2002; Satarug et Moore, 2004). La cigarette contient plus de 3000 substances dont le cadmium, (Aoshima et al., 2003). Quant à sa consommation, le cadmium inhalé interagit avec les alvéoles pulmonaires causant ainsi des dommages (Amir et al., 2014). Plusieurs études ont été réalisées et ont démontré voire confirmés que les effets néfastes du cadmium portent principalement sur le foie et le rein (Satarug et al., 3 2002). En effet, après absorption, 30% du cadmium atteignent le foie, 30% atteignent les reins et le reste est distribué dans l'organisme (Robin., 2013). Et le pire est qu'il ne possède aucun rôle biologique connu à ce jour et s'avère être un toxique très destructif pour l'organisme dont les organes cibles comme on le sait déjà sont principalement les reins, le foie, les poumons et la prostate (IARC., 2012) et les principales sources de contamination sont la cigarette, la fumée de soudure, les aliments contaminés et l'eau (Robin, 2013). Ces 4 pathologies seraient dues à un déséquilibre cellulaire dont le mécanisme biochimique et immunologique mérite d'être étudié. C'est pourquoi notre travail « Contribution l'étude de l'effet thérapeutique de l'*Opuntia ficus indica* .Etudes biochimique, et histologique suite à une intoxication aux cadmium chez les rats WISTAR»



Revue bibliographique

INTRODUCTION

CHAPITRE 1. GENERALITES SUR LE FIGUIER DE BARBARIE

INTRODUCTION :

Le figuier de Barbarie est une plante grasse appartenant à la famille des cactées et plus précisément au genre *Opuntia*. Il est cultivé dans les climats arides, comme dans les régions méditerranéennes et d'Amérique centrale (Ginestra et al., 2009). Les régions semi-arides du Mexique renferment la plus grande diversité de cactus dans le monde (Pimienta-Barrios, 1994). Le genre *Opuntia* contient environ 300 espèces et beaucoup d'entre elles produisent des tiges et des fruits bien tendres et comestibles (Hegwood, 1994). Parmi ces espèces on cite *Opuntia ficus-indica* (inermis ou sans épines largement connue sous le nom de figuier de Barbarie) et qui ont fait l'objet de notre étude (fig.1) La jeune partie de la tige du cactus, ou cladode, est souvent consommée comme un légume dans les salades, tandis que le fruit est consommé en frais (Ávila-Curiel et al., 2003). La composition chimique des cladodes dépend de la variété, du stade de croissance et des conditions environnementales. Elles ont une valeur nutritive élevée, principalement en raison de leurs ressources minérales, en protéines, en fibres alimentaires et en contenu phytochimiques (Bensadon et al., 2010). On les utilise à des fins médicinales et cosmétiques, comme fourrage ou matériaux de construction et en tant que source de couleurs naturelles. Cependant, leurs utilisations sont encore essentiellement limitées aux pays d'origine (Stintzing and Carle, 2005).



Figure 1 Une espèce du figuier de Barbarie *Opuntia ficus indica*

2. Cactées

2.1. Définition

La famille des cactées appartient aux plantes grasses. Elles ont la capacité de survivre sur leurs réserves durant une période de sécheresse temporaire grâce à un système de stockage de l'eau. Dans une situation similaire, la plupart des autres plantes dépériraient et mourraient par manque d'eau (Mace, 2003). Leur aspect souvent étrange est lié aux mutations qu'elles ont mises au point pour stocker l'eau dans leurs tiges, leurs feuilles ou leurs racines qui sont très charnues. D'autres évolutions plus importantes ont permis d'augmenter les réserves d'eau en réduisant l'évaporation. Elles présentent souvent un épiderme soit charnu, soit couvert de poils ou d'une couche cireuse qui réduit l'évaporation. Le revêtement dense en épines joue un rôle décisif et limite les effets de la chaleur solaire intense en fournissant une ombre partielle à la plante. Les cellules de ces plantes supportent de grandes variations de leur teneur en eau que les autres plantes « normales » (Mace, 2003). Il existe des mythes très anciens concernant les cactées. Le cactus était un symbole important à la fois chez les Aztèques au Mexique et chez les Incas au Pérou, et l'on retrouve des illustrations de ses vertus curatives et divinatoires sur de nombreux bâtiments, poteries et autres objets usuels (Mace, 2003).

2.2 Origine et diffusion

Les cactus sont presque tous originaires du Nouveau Monde, certaines espèces allant jusqu'au Nord de l'Alberta au Canada, d'autres poussant une pointe au Sud jusqu'en Patagonie (fig.2). Les seules exceptions sont quelques espèces présentes en Afrique orientale et à Madagascar ou il se peut qu'elles aient été apportées par des oiseaux migrateurs et qu'elles y aient continué leur évolution (Mace, 2003).

La culture du cactus est originaire des plateaux du Mexique qui sont caractérisés par un climat chaud et sec. L'utilisation alimentaire de l'espèce date de l'époque préhistorique grâce à la découverte de graines fossiles datant du septième millénaire av. J.-C. (Mullas et al., 2004).

Ces régions semi-arides du Mexique présentent une grande diversité génétique de variétés cultivées et variétés sauvages du cactus. Plusieurs espèces ont été introduites dans d'autres régions du monde ayant un climat semi-aride, telles que l'Australie, l'Afrique du Sud, le Madagascar ou la région méditerranéenne. Le cactus a été introduit en Europe

méditerranéenne vers la fin du 15^{ème} et le début du 16^{ème} siècle pour l'alimentation des populations indigènes. Il a été aussi introduit, au 16^{ème} siècle, au Nord et au Sud de l'Afrique et tout au long du bassin méditerranéen. Actuellement, il est cultivé dans les régions arides et semi-arides de plusieurs pays. Le cactus, comme culture, était inconnu en Europe avant les voyages de Christophe Colomb. Il fut décrit de façon précise pour la première fois en 1535 par l'espagnol Gonzalo Fernandez de Oviedo y Valdés dans son histoire des Indes occidentales. Sa morphologie insolite marqua les esprits des premiers conquistadors. Outre les fruits, c'est l'élevage de la cochenille qui attira surtout leur attention ; mais l'élevage de cette dernière aux îles Canaries ne fut réussi qu'au 19^{ème} siècle. Son fruit constituait depuis longtemps un aliment important dans le régime alimentaire des Indiens (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime du Maroc, 2010).

Le genre *Opuntia* a été utilisé au Mexique depuis l'époque préhispanique, en association avec le maïs et l'agave, constituant ensemble la pièce maîtresse de l'économie agricole de la civilisation aztèque. Au cours des dernières années il y'a eu un intérêt accru pour diverses espèces d'*Opuntia*, en raison du rôle qu'elles sont supposées jouer dans le succès des systèmes d'agriculture durable dans les zones marginales ; notamment les zones arides et semi- arides (FAO, 2003).



Figure 2 : Carte illustrant l'aire de distribution du cactus à son origine (Lamb, 1991).

2.3 Morphologie

Les cactées ont des formes diverses, allant de plantes miniatures jusqu'à de grands arbres atteignant près de 25 m de hauteur. Cependant à l'exception du genre *Preskia* et des genres proches qui ont des feuilles normales, des aiguillons et une structure un peu élémentaire pour les fleurs et les fruits, tous les autres genres sont très similaires. Ces autres genres sont pratiquement dépourvus de feuilles, les processus de photosynthèse se produisant en revanche dans des tiges vertes charnues (Lamb, 1991). C'est au niveau des aréoles qu'apparaissent les aiguillons, les nouveaux rameaux et les fleurs. Il y'a des exceptions telles que les *Echinocereus* dont les boutons floraux percent la paroi de la tige près d'une aréole, les *Mammillaria* et les *Corphanta* chez qui les boutons sortent d'un emplacement axillaire entre les tubercules ou d'une gorge partant de l'aréole du tubercule. Les fleurs des cactus sont sessiles, la seule exception étant fournie par les *Pereskias* à fleurs pédonculées (fig.3). Les fruits sont habituellement des baies juteuses, mais dans quelques genres, il s'agit de capsules sèches d'où les graines s'échappent soit par un pore basal ou par une fente irrégulière (Lamb, 1991).

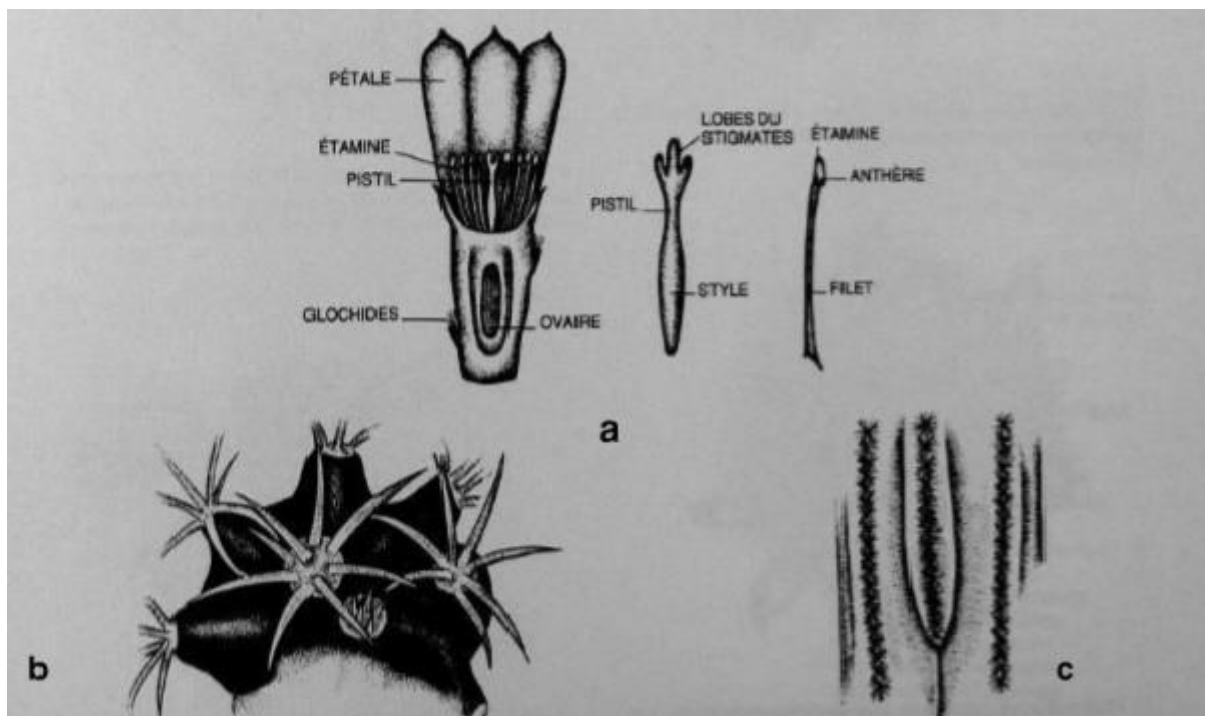


Figure 3 : Schéma illustrant quelques organes du cactus, (a) : fleur de cactus d'après l'exemple d'*Opuntia*, (b) : jeune plante montrant sa structure tuberculée, qui en approchant de la maturité, deviendra une formation à côte, (c) : coupe d'une tige de *Carnegiea gigantea* montrant la structure côtelée et la façon dont une autre côte se forme au fur et à mesure du développement de la tige (Lamb, 1991).

2.4 Classification

La famille des cactacées est subdivisée en huit groupes, dont chacun d'entre eux comprend plusieurs genres (Lamb, 1991) :

- **Groupe Pereskia** : Plante à feuilles, mais sans glochides. Les graines noires sont sans arilles (enveloppe extérieure ou appendice fixé au pédoncule de l'ovule). Genres : *Maihuenia*, *Pereskia*.

- **Groupe Opuntia** : Plantes à petites ou minuscules feuilles et glochides. Les graines sont ailées ou munies d'un arille. Genres : *Opuntia*, *Pereskopsis*, *Pterocactus*, *Quiabentia*, *Tacinga*.

- **Groupe Cereus** : Plantes sans feuilles ni glochides, à graines noires ou brunes. Ces plantes sont ordinairement colonnaires, côtelées et généralement pourvues de nombreux aiguillons. L'extérieur de la base du tube floral est nu ou épineux. Genres : *Armatocereus*, *Arrojadoa*, *Jasminocereus*, *Monvillea*, *Wilcoxia* etc.

Groupe Echinopsis : Comme le groupe *Cereus*, sauf que les plantes peuvent être naines et que l'extérieur du tube floral est généralement pourvu de poils ou peut posséder des écailles étroites. Genre: *Acanthocalycium*, *Arequipa*, *Espostoa*, *Mila*, *Oroya*, *Weingartia* etc.

- **Groupe Hylocereus**: Comme le groupe *Cereus*, mais les plantes sont épiphytes, souvent à racines aériennes, et côtelées. Les aiguillons sont souvent assez peu nombreux ou complètement absents. Genres : *Aporocactus*, *Cryptocactus*, *Hylocereus*, *Rhipsalis*, *Wittia* etc.

- **Groupe Neoporteria** : Plantes généralement naines, globuleuse à courtes, cylindriques et côtelées. La base du tube floral est un peu laineuse, avec des aiguillons dans le haut. Genres : *Austrocactus*, *Frailea*, *Nonocactus*, *Parodia*, *Wigginsia*, etc.

- **Groupe Melocactus** : Comme le groupe *Neoporteria*, la base du tube floral est nue ou laineuse, mais sans aiguillons. Les fleurs sont portées sur un cephalium terminal, sauf chez les *Buiningia* où il est latéral. Genre : *Buiningia*, *Discocactus*, *Melocactus*.

- **Groupe Echinocactus** : Comme le groupe *Melocactus*, sauf que les fleurs apparaissent au centre, mais sans cephalium. Genre : *Ariocarpus*, *Aztekium*, *Islaya*, *Solisia*, *Strombocactus*, *Toumeyia*, etc.

3. Figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*)

3.1. Définition

Le figuier de Barbarie est originaire du Mexique, il est bien adapté aux zones arides et semi-arides (Reynolds et al., 2003). Il occupe une partie importante dans l'alimentation humaine et il est également utilisé comme fourrage pour le bétail. C'est une plante intéressante en raison des conditions environnementales dans lesquelles elle se développe et sa résistance aux conditions climatiques extrêmes (Hernández-Urbiola et al., 2011).

3.2. Distribution

Le figuier de Barbarie fut introduit en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc) vers le 16ème siècle. Sa culture s'est diffusée rapidement dans le bassin de la Méditerranée. Elle s'est également répandue dans l'hémisphère sud, notamment en Afrique du Sud, à Madagascar, à la Réunion, à l'île Maurice, en Inde, à Ceylan et en Australie. On peut également la trouver au Canada, en Argentine et au Pérou à une altitude pouvant atteindre 5100 m. Il est actuellement introduit dans plus de 30 pays où il est cultivé pour la production des fruits, l'utilisation comme fourrage et comme plante cosmopolite (Rapport du ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, 2010).

3.3. Taxonomie

De nombreux auteurs ont élaboré des classifications du Genre *Opuntia*. La classification considérée comme la plus valable à ce jour est sans doute celle établie par Britton et Rose en 1963 :

- **Règne** : Plantes.
- **Ordre** : Caryophyllales.
- **Sous-classe** : Caryophyllidae.
- **Famille** : Cactaceae.
- **Groupe** : Opuntiaeeae.
- **Genre** : *Opuntia*.
- **Sous-genre** : *Platyopuntia*
- **Espèces** : *Opuntia ficus-indica*,

Le genre *Opuntia* appartient à la famille des Cactaceae, ordre des Caryophyllales et la sous-classe des Caryophyllidae. La famille des Cactaceae compte environ 130 genres et 1500 espèces, dont 300 appartiennent au genre *Opuntia* (Mulas et al., 2004). Le groupe des Opuntiaeeae comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres :

Platyopuntia, Cyllindropuntia, Tephrocactus et Brasiliopuntia. Le sousgenre Platyopuntia comprend 150 à 300 espèces décrites, on a l'espèce *Opuntia megacantha* et la série des ficus-indicae, qui comprennent l'*Opuntia ficus-indica* et qui sont connues sous le nom de figuier de Barbarie (Mulas et al., 2004). L'*Opuntia ficus-indica* et l'*Opuntia megacantha* sont parmi les cactées qui ont la plus grande importance agronomique, tant pour leur fruit comestible que pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes (Mulas et al., 2004). La domestication d'*Opuntia ficus-indica* a commencé il y'a environ 8000 ans. Il en existe une forme épineuse et une forme inerme. De nombreux auteurs considèrent l'*Opuntia megacantha* comme un synonyme d'*Opuntia ficus-indica*, toujours considérée comme la forme inerme. La démonstration la plus évidente est que l'*Opuntia megacantha* est une forme d'*Opuntia ficus-indica* mais dans des conditions de stress, certaines cladodes de la forme inerme peuvent commencer à développer des épines. Par ailleurs, les plantes qui proviennent à partir des graines d'espèces sans épines peuvent générer des formes épineuses, caractérisées par une grande variabilité (Mulas et al., 2004).

3.4. Description morphologique

Le figuier de Barbarie est une plante arborescente, caractérisée par des tiges en forme de raquettes plates charnues et ovales pouvant atteindre 3 à 4 mètres de haut (fig.4). Les raquettes, appelées cladodes, mesurent 30 à 40 centimètres de long, sur 15 à 25 cm de large et 1,5 à 3 cm d'épaisseur. De couleur verte, elles s'unissent les unes aux autres, en formant des sortes de branches. Elles sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration de la plante et la protège tout en assurant la fonction chlorophyllienne à la place des feuilles. Leur surface est parsemée d'alvéoles au sein desquelles naissent, sur les cladodes en formation, des feuilles fragiles, éphémères et caduques. Elles portent de redoutables épines munies de minuscules aiguillons recourbés vers leur base. Les cladodes de la base, en vieillissant, finissent par se lignifier pour former un véritable tronc. Le figuier de Barbarie donne des fleurs et des fruits en abondance. Les fleurs apparaissent sur le dessus des raquettes, larges de 4 à 10 cm et de couleur jaune, orange ou rouge. Ces fleurs sont comestibles, comme le fruit auquel elles donnent naissance qui se présente sous la forme d'une grosse baie ovoïde et charnue, dont la peau verte jaunâtre est, elle aussi, ornée de petites épines. Dans les climats tempérés, la floraison a lieu en avril,-mai et les fruits sont cueillis fin juillet à septembre, dès qu'ils deviennent un peu mous. Dans certaines contrées arides et chaudes, la plante peut donner des fruits deux fois par an. Appelé figue de Barbarie,

ce fruit a une chair d'une couleur variant du jaune clair au rouge violacé et dont le goût se révèle délicieux et subtil. Ses graines, riches en vitamines et en oligoéléments, lui confèrent de nombreuses propriétés et c'est à partir de ces graines que l'on obtient une huile très recherchée (Revue nature et santé, 2011).

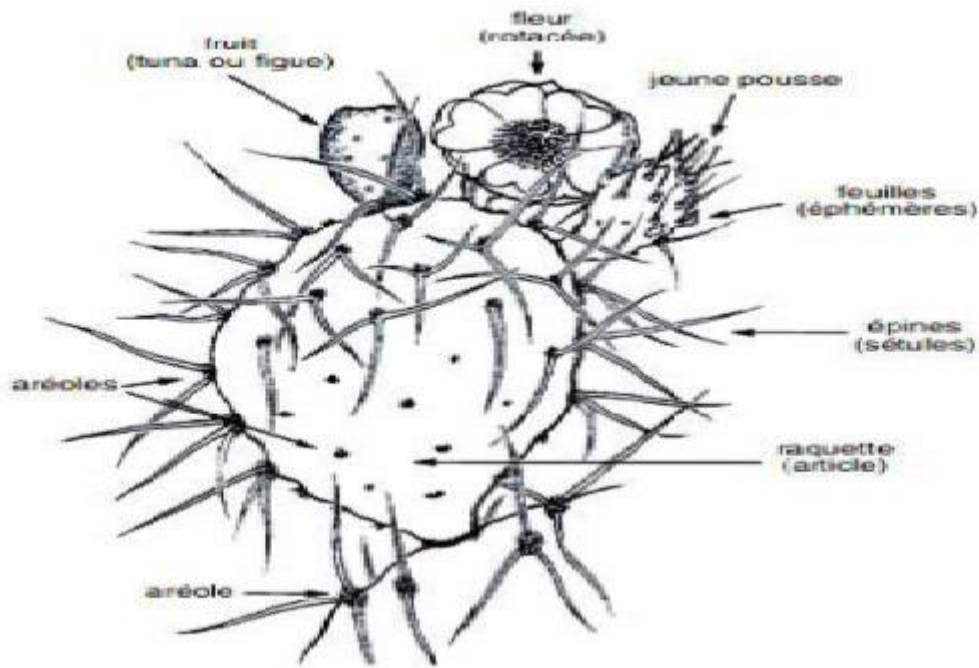


Figure 4 : Schéma illustrant les différentes parties du figuier de Barbarie (Revue nature et santé, 2011).

3.5. Physiologie

Le figuier de Barbarie est une plante qui a une photosynthèse de type CAM (Crassulacean Acid Metabolism). Elle a la particularité de fixer le CO₂ pendant la nuit, le stocker et de fermer ses stomates pendant le jour. Une telle stratégie permet d'éviter les pertes en eau par évapotranspiration qui peuvent avoir lieu le jour et d'optimiser ainsi l'utilisation d'eau (Stintzing et al., 2005). Les stomates s'ouvrent uniquement la nuit, car à ce moment, la température est plus basse que durant la journée et le taux d'humidité est plus élevé. Cela provoque une faible évapotranspiration et donc de faibles pertes d'eau. C'est pourquoi les plantes CAM se sont spécialisées dans la fixation du CO₂ pendant la nuit. Cette fixation est réalisée par la phosphoénolpyruvate carboxylase (PEP), qui provient de la dégradation de l'amidon et du saccharose produit dans le chloroplaste le jour. Cette fixation permet de former de l'oxaloacétate, qui sera immédiatement réduit en malate, puis stocké

dans une vacuole sous forme d'acide malique, d'où le nom de plante à métabolisme acide. Autrement dit, durant la nuit, le figuier de Barbarie fait "le plein" de CO₂ sous forme d'acide malique, mais il ne peut pas le transformer tout de suite en sucre du fait de l'obscurité. En effet, comme toutes les autres plantes, les plantes CAM ont besoin de l'énergie lumineuse du jour pour compléter le cycle de Calvin et pour ainsi accomplir la photosynthèse en entier (Goldstein et al., 1991) (fig.5).

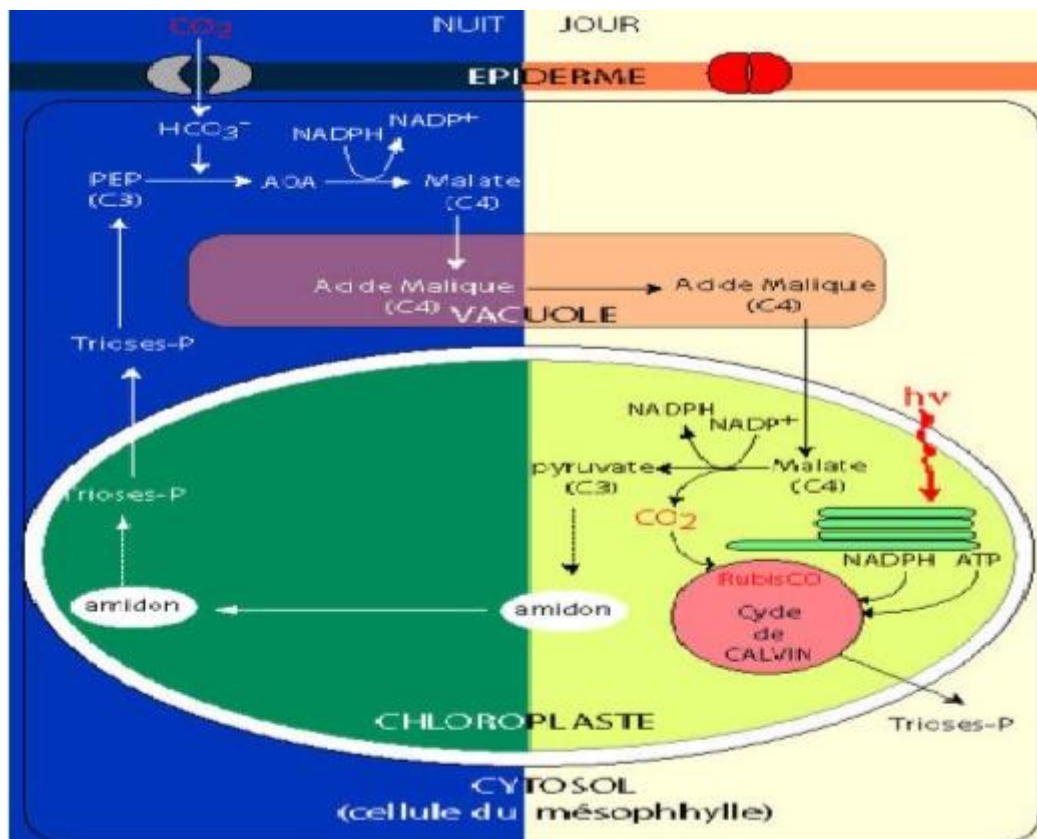


Figure 5 : Photosynthèse de type CAM.

3.6. Habitat

Les cactus ont évolué et se sont adaptés à toutes sortes de biotopes. La définition généralement admise qu'un désert est un lieu où la moyenne annuelle des précipitations ne dépasse pas 250 mm. Selon cette définition seul un très faible pourcentage de cactus pousse dans de véritables déserts. La grande majorité des espèces vivent dans des biotopes où elles reçoivent chaque année au moins le double de cette quantité d'eau. Certains types de cactus apprécient des habitats encore plus humides, en particulier nombre d'espèces épiphytes des forêts sempervirentes tropicales où l'humidité atmosphérique est constamment élevée. Les cactus occupent des biotopes depuis le littoral jusqu'aux régions intérieures, du niveau de la mer à des altitudes approchant les 4000 m. Certains cactus se sont adaptés pour faire face au froid intense et à la neige ainsi que ceux poussant dans le sable à quelques mètres au-dessus

du niveau de la mer (Lamb, 1991).

De point de vue écologique, l'*Opuntia ficus-indica*, même si on la trouve dans les zones où le climat est tempéré, est typiquement une espèce des zones arides et désertiques et présente, par conséquent, une série d'adaptations morphologiques et physiologiques aux caractéristiques du milieu d'origine (Mulas et al., 2004). L'*Opuntia* présente des caractéristiques exceptionnelles qui lui permettent d'emmagasiner, dans les organes succulents, de grandes quantités d'eau. De courtes précipitations de quelques mm de pluie seulement peuvent être efficacement utilisées par cette plante grâce aux racines superficielles, mais très étendues, qui sont en mesure d'absorber l'eau dans le sol quand les niveaux d'humidité sont bas au point d'empêcher la vie de la plupart des espèces cultivées aux alentours (Mulas et al., 2004). En l'absence de feuilles permanentes, le processus photosynthétique se réalise dans les raquettes vertes. Celles-ci contiennent également un parenchyme aquifère qui peut emmagasiner et conserver l'eau de façon efficace. L'efficacité dans la limitation des pertes en eau par transpiration cuticulaire est améliorée grâce à la présence d'un épais revêtement cireux épicuticulaire et intracuticulaire. La morphologie stomatique contribue elle aussi à limiter les pertes par transpiration, tout comme l'ensemble du processus photosynthétique. En effet, cela peut avoir lieu suivant le cycle CAM (Crassulacean Acid Metabolism) qui, comme on le sait, permet l'ouverture nocturne des stomates pour les échanges gazeux, réduisant par conséquent les pertes par transpiration (Mulas et al., 2004).

3.7. Reproduction et techniques de multiplications

Pratiquement tous les cactus ont des fleurs normalement hermaphrodites, c'est-à-dire que celles-ci possèdent des organes mâles (étamines) et femelles (carpelles). La partie réceptrice de l'organe femelle est le stigmate, à l'extrémité du pistil, et c'est cette surface qui reçoit le pollen pour qu'ait lieu la fécondation aboutissant finalement à la formation des graines. Le transport naturel du pollen s'effectue en général par hasard, du fait de nombreux types d'insectes ou d'oiseaux différents attirés par les fleurs dans leur quête de nectar, voire du pollen lui-même (Lamb, 1991). Traditionnellement, le figuier de Barbarie est multiplié végétativement par bouturage des cladodes, en laissant sécher au préalable les sections pendant deux semaines et parfois plus (fig.6). Cette période de pré-séchage ne se justifie pas et certains travaux ont même montré ses effets négatifs sur les repousses. A la plantation, la cladode est placée dans un sillon de 15 cm, la cladode est plantée en hauteur et les deux tiers

sont mises dans le sol et inclinée. Le sol est alors tassé autour de la cladode. Les distances de plantation sont variables en fonction de la pluviométrie et du degré d'intensification de la culture. En zone aride et semi-aride (150 à 400 mm de pluie), les densités de plantation sont de 1200 à 2000 cladodes à l'hectare. Quand la pluviométrie dépasse 400 mm, ces densités peuvent être de 3200 à 5000 raquettes à l'hectare (Walali Loudyi, 1995).

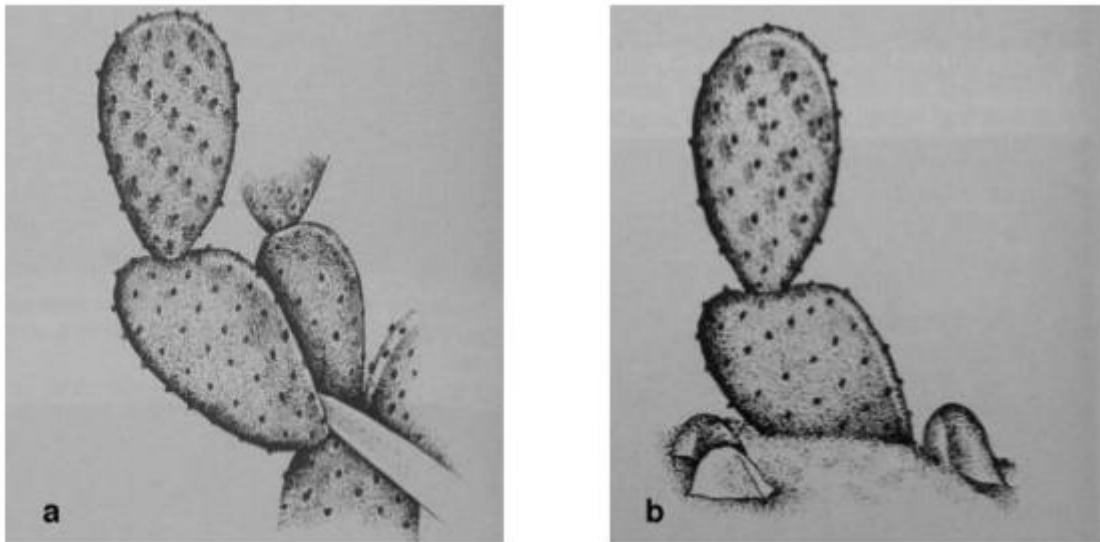


Figure 6 : Schéma illustrant la technique de bouturage, (a) : meilleur emplacement pour prélever les boutures, (b) : plantation au niveau du sol (Lamb, 1991).

3.8. Exigences écologiques

Les caractéristiques écologiques du figuier de Barbarie, dépendent principalement des facteurs climatiques qui contrôlent sa croissance et sa distribution; notamment les précipitations, l'humidité atmosphérique, la température de l'hiver, la nature des sols et le drainage (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010) :

- **Température** : Le figuier de Barbarie est résistant au froid et peut supporter des gelées de l'ordre de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ses besoins en chaleur sont importants et durant la phase de croissance du fruit ils se situent entre 15 et $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Il est résistant à la sécheresse et les températures moyennes annuelles de 15 à $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ lui conviennent parfaitement. Il peut supporter les fortes chaleurs qui dépassent $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. En outre, le niveau le plus bas de température où le développement est possible est l'isotherme de $1,5$ à $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ de la moyenne journalière du mois le plus froid (généralement janvier) qui correspond à la moyenne mensuelle de 7 à $9\text{ }^{\circ}\text{C}$, mais avec un maximum journalier supérieur ou égal à $12\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- **Précipitations** : Les exigences en précipitations sont variables en fonction de la nature

des sols. En effet, pour des sols sableux et profond, le minimum de précipitation a b 35 requis tourne autour de 300 à 400 mm/an, alors que sur des sols vaseux et limoneux, la moyenne des précipitations minimales requise est de 200 mm/an; mais le cactus peut être cultivé tant que l'eau additionnelle de l'érosion permet au sol d'emmagasiner 300 à 400 mm.

- **Humidité** : L'humidité atmosphérique, en cas de grand déficit de saturation de l'atmosphère (humidité relative basse) affecte, également les espèces d'Opuntia. Les observations empiriques ont démontré que le figuier de Barbarie est éliminé des régions où la moyenne relative de l'humidité est au-dessous de 40% pour plus de trente jours consécutifs. Le cactus peut croître dans des régions arides et semi-arides de l'Afrique du Nord et du Proche Orient où les moyennes annuelles de l'humidité relative et la moyenne du déficit de saturation sont respectivement toujours au-dessus de 60% et sous 12%.

- **Sol** : L'espèce présente une large faculté d'adaptation avec une préférence pour les sols très perméables, sableux ou caillouteux et à faible taux d'argiles (< 20%). Il redoute des sols lourds et mal drainés. Il supporte aussi bien les sols acides que les sols très calcaires, voire salins (moins de 70 mol de NaCl / cm³)

- **Drainage** : il constitue aussi l'une des plus importantes exigences écologiques. En effet, le figuier de Barbarie est très sensible au manque d'oxygène au niveau des racines ; à cet effet, il est recommandé d'éviter les sols argileux qui peuvent être saturés temporairement et mal drainés. Les facteurs biotiques jouent aussi un rôle important dans la culture et production du cactus. De nombreux parasites et maladies peuvent toucher le figuier de Barbarie (Walali Loudyi, 1995) :

- **Rouille** : elle se manifeste par de petites taches jaunes, circulaires, pouvant s'étendre en plaques irrégulières d'un blanc sale ou cendré. Ce sont surtout les cladodes de deux ans qui, une fois attaquées, n'émettent que peu de cladodes, et finissent par se dessécher. Elle se manifeste principalement dans les zones humides, elle est efficacement combattue par des traitements à base de cuivre et l'ablation des cladodes parasités.

- **Mildiou des cactus** : les symptômes de la maladie se présentent sous forme de cloques soulevant l'épiderme et de taches brunâtres qui envahissent les fruits et les raquettes. La sensibilité à la maladie est variable en fonction des variétés. Une lutte préventive consiste à couper et à incinérer les parties atteintes de la plante.

- **Cératite** : une mouche méditerranéenne des fruits qui peut occasionner des dégâts importants dans les plantations mal entretenues. Un insecticide de synthèse permet de se débarrasser facilement de cet insecte.

-
- **Cochenilles** : bien que généralement polyphages, certaines espèces de cochenilles sont des parasites spécifiques et attaquent à une seule espèce de cactée. Certains cultivars inermes de cactées sont résistants aux cochenilles. La lutte contre les cochenilles nécessite des traitements aux huiles blanches ou au parathion..

3.9. Répartition géographique

Le figuier de Barbarie est depuis longtemps cultivé au Maroc. Il a été introduit près de trois siècles au moins. Du Nord au Sud, il est le plus souvent utilisé comme haies, mais aussi pour son fruit comestible et comme fourrage pour l'alimentation du cheptel en périodes de sécheresse (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).

Sa superficie a évolué de façon remarquable au cours de ces deux dernières décennies à cause de la sécheresse, elle est passée de 50 000 ha en 1998 à plus de 120 000 ha en 2009 enregistrant une progression annuelle de 2500 hectares (Arba, 2009). La région de Guelmim-Sidi-Ifni occupe la première place avec 50% de la superficie nationale (33 000 ha environ) et avec des rendements en fruits qui varient entre 10 et 22 t/ha. La région de Khouribga vient en troisième place et celle de Doukkala en quatrième (Arba, 2009). Au Nord du Maroc, le figuier de Barbarie est également situé dans plusieurs localités. Il se trouve dans la région de Moulay Idriss près de Meknès à des altitudes de 500 à 800m, et dans des villages avoisinants les villes de Sidi Kacem, Tétouan, Tanger, Chefchaoune (plus de 500mm de précipitations). On le trouve également dans les montagnes du Rif (Nord du Maroc), le froid hivernal limite son extension, mais il est probable que des différences de tolérance entre génotypes existent et méritent d'être explorées, quelques plantations rencontrées aux villages avoisinant les villes d'Ifrane, Azrou et Immouzzer, entre autres, semble affirmer cette hypothèse. Il est aussi localisé au centre du pays, des plantations du figuier de Barbarie sont largement répandues dans le paysage rural avoisinant les villes de Marrakech, Béni Mellal et et aussi dans les régions orientales aux alentours des villes d'Errachidia, Rich, Midelt, Oujda, Taourirt, Ouarzazate, etc. L'existence dans ces localités de génotypes très résistants à la sécheresse et même aux et basses températures n'est pas à négliger (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).

3.10. Espèces et cultivars

L'identification des espèces s'est faite progressivement depuis les années 80. Ainsi Arba (2009), a décrit 3 espèces qui produisent des fruits comestibles en milieu rural :

Opuntia ficus-indica qui est surtout cultivé au Sud ; *Opuntia megacantha* qui est fréquente dans la plupart des régions et *Opuntia shumannii* qui est présente au Sud marocain et qui produit des fruits sucrés et juteux de qualité. Par la suite, environ 40 espèces ont été identifiées (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010). Pour ce qui est du profil variétal, trois cultivars ont été identifiés, et sont utilisés par les agriculteurs notamment dans la région d'Ait Baâmrane sur la base de leur précocité et de leurs caractères épineux. Il s'agit des cultivars : Aïssa (inerte et précoce : récolte juin à août) et Moussa (inerte et tardive : récolte septembre à décembre voire janvier et février) qui donnent des fruits juteux à pulpe jaune orangé à maturité sans oublier Achéfri (épineux) qui les entourent souvent. Dans la région du Rif, le cultivar Dellahia est très apprécié pour la qualité de ses fruits et pour ses propriétés organoleptiques. D'autres cultivars à fruit comestible existent, mais peu connus ; notamment Akria qui présente un cultivar inerte avec une floraison et une maturité semblables au cultivar Aïssa à pulpe rouge carmin acide, mais à fruit pourpre et El bayda qui est un cultivar proche de Aïssa, mais à fruit de couleur blanche (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime, 2010). Il est à noter que d'autres cultivars du cactus, se trouvent dans d'autres localités, en particulier dans les régions de Marrakech, Oued Zem, Doukkala et Casablanca, et qui sont réputés par la qualité de leur fruit, bien apprécié par le consommateur. Ces cultivars ont été identifiés et nommés par les agriculteurs eux-mêmes (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).

3.11. Utilisations.

3.11.1. Alimentation humaine

- **Fruit** : Il existe près de 200 espèces d'*Opuntia*, mais seuls les fruits d'une vingtaine d'espèces sont exploités. Les fruits sont connus par leurs teneurs élevées en sucre, minéraux et vitamines. Ils sont produits et vendus en été et en automne, selon la précocité de la variété. Au Mexique, par exemple, ces fruits comestibles appelés « tuna », sont commercialisés à l'état frais ou transformé : séchés, congelés, sous forme de confit, de jus et d'alcool (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).
- **Cladode** : Les jeunes cladodes sont consommées en tant que légume car elles sont tendres et fibreuses. Leur valeur nutritive est similaire à celle d'un grand nombre de légumes et feuilles. Elles sont riches en eau, en hydrates de carbone, en protéines, en vitamine C et β -carotène qui est un précurseur de la vitamine A. Ces jeunes cladodes sont appelés « Napolitos » au Mexique où elles sont considérées comme un légume traditionnel depuis des

siècles. Elles sont consommées à l'état frais ou après cuisson en tant que légume vert. Elles sont conseillées pour les diabètes à diabétisme indépendant de l'insuline, car leur consommation peut améliorer le contrôle du sucre chez ces patients et peut réduire le taux du cholestérol dans le sang (Arba, 2009). Il existe d'autres produits dérivés à partir des cladodes: confiture, cornichon et cladodes confits. Alors que les cladodes ont été traditionnellement utilisés comme un substitut de viande pendant les périodes de jeûne, elles sont aujourd'hui servies avec un repas semblable à des haricots verts (Stintzing and Carle, 2005).

3.11.2. Production de fourrage pour le bétail

Elle représente la deuxième importance économique du cactus dans le monde. L'utilisation du figuier de Barbarie dans l'alimentation du bétail représente également la deuxième importance de cette plante au Maroc. Le cactus est utilisé depuis longtemps dans l'alimentation du bétail des zones arides et sa production dans ces zones est plus rentable que celle d'autres espèces fourragères comme le maïs et le sorgho. Il est cultivé comme espèce fourragère dans plusieurs pays dans le but d'assurer un stock alimentaire pour le bétail dans le cas d'une situation critique de sécheresse. Un certain nombre de pays : Mexique, USA, Brésil, Pérou, etc. produisent des quantités importantes de cladodes en tant qu'aliment pour le bétail. Les cladodes sont appréciées par le bétail, car elles sont riches en eau, en fibre, en protéine et en éléments minéraux. Leur consommation permet d'améliorer la saveur du lait et la couleur du beurre (Arba, 2009). Les cladodes sont broutées directement sur le champ par le bétail de pâturage comme ce qui se fait dans le Mexique et aux Etats-Unis où il y'a de grands ranchs de cactus pour le pâturage, ou bien elles sont récoltées et coupées pour les distribuer au bétail domestique comme ce qui se fait dans certains pays de l'Afrique du Nord comme le Maroc et la Tunisie où les plantations de cactus qui sont destinées à la production de fruits sont utilisées dans l'alimentation du bétail. En comparaison avec d'autres éléments fourragers, la valeur énergétique des raquettes est proche de celle de la luzerne avec 39 0,12 unité fourragère/kg. Avant de les donner au bétail, les cladodes sont déshydratées pour quelques jours afin d'éviter les diarrhées aux animaux et qui sont dues à la consommation de cladodes gorgées d'eau. Les espèces épineuses peuvent passer sous un coup de feu afin de les débarrasser des épines (Arba, 2009). En raison de leur effet laxatif attribué à la forte teneur en acide oxalique, une combinaison avec de la paille, l'atriplex, le foin de luzerne ou les tiges de maïs est recommandée. D'une autre part la faible

teneur phénolique et tannin dans les cladodes facilite la digestion et améliore la production de viande (Stintzing and Carle, 2005).

3.11.3. Apiculture

Le cactus est une plante à floraison abondante et son cycle de floraison peut s'étendre de 3 à 6 mois selon la région et la variété. Sa floraison attire les abeilles en masses par leurs grandes fleurs de couleur jaune, leur pollen abondant et leur nectar. Elle assure l'activité des abeilles pour une certaine période et les autres espèces mellifères assurent leur activité pour les autres périodes de l'année (Arba, 2009).

3.11.4. Produits

- **Production des huiles** : L'huile extraite des graines du fruit du figuier de Barbarie appartient à la famille des huiles polyinsaturées comme la plupart des huiles végétales. La valeur commerciale de cette huile est intéressante en raison de ses particularités cosmétiques recherchées. Elle est riche en acide gras insaturé comme l'acide linoléique (64,43%) et l'acide oléique (18,46%). Parmi les acides gras saturés, le plus important est l'acide palmitique (12,60%) et l'acide stéarique (2,82%). Par contre, sa particularité réside dans sa richesse en matière insaponifiable (stérols et tocophérols). Cette caractéristique pourrait être un levier pour son exploitation dans le domaine de la cosmétologie; étant donné les effets bénéfiques de ces substances sur l'élasticité de la peau, le métabolisme cellulaire et la restauration de la structure cutanée. Elle possède des particularités cosmétiques remarquables, car elle prévient le vieillissement et les rides de la peau. Les graines servent également pour la préparation de crème à usage dermique (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).

- **Production en agroalimentaire** : La transformation des raquettes et des fruits concerne :
 - **La conservation des cladodes** : Les jeunes cladodes sont conservés en petits morceaux dans des boîtes en conserves. Des usines modernes de mise en boîte des 40 « Napolitos » existent au Mexique et aux Etats Unis (Arba, 2009). Les principaux produits élaborés sont : les cladodes au vinaigre, les cladodes en saumure, la confiture de cladodes, les cladodes confites et les frites de cladodes. On utilise également les cladodes comme matière première pour la production du biogaz par fermentation naturelle (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010). Des essais de conservation des jeunes cladodes sont également en cours de réalisation au sud du Maroc par des ONG (Arba,

2009).

→ **La Transformation technologique des fruits** : Les fruits sont transformés en jus, en nectar, en jus concentré, en conserve, en miel, en marmelade, etc. La teneur en sucre qui est relativement élevée chez les fruits de la plupart des variétés leur permet de se transformer favorablement en produits agroalimentaires. Les fruits fermentés sont utilisés pour produire des boissons alcooliques ou l'eau de vie (Arba, 2009). Récemment, il a été démontré qu'il y'a une possibilité de produire du vinaigre à partir du jus de fruit du cactus (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010). Au Maroc, des essais de transformation des fruits en confiture sont actuellement en cours de réalisation par ses ONG du Sud qui font l'**exportation** de leurs produits. Le séchage des fruits au soleil est utilisé au Sud du Maroc pour la conservation de la production qui n'est pas vendue à l'état frais et de celle qui n'est pas autoconsommée (Arba, 2009).

• **Production de colorants** : les deux colorants extraits à partir de la figue de barbarie sont le carmin et la bétalaine :

→ **Carmin** : c'est un colorant naturel de couleur rouge carmin (acide carminique). Actuellement il est de nouveau très recherché par les industries alimentaires et cosmétiques pour ses caractères biochimiques. Il est produit par l'élevage des cochenilles *Dactylopius coccus* et *Dactylopius opuntiae* qui sont des insectes hôtes du cactus. Les cochenilles sont collectées sur le cactus et sont séchées à l'air libre pour obtenir un produit brut qui est appelé Grana à partir duquel on peut extraire 10 à 26% de carmin. Il a été très demandé sur le marché international au début du 19ème siècle, moment où l'élevage de la cochenille à carmin était pratiqué au Sud du Maroc par la colonisation espagnole. Il a disparu par la suite à cause des colorants synthétiques et il est actuellement de nouveau recherché sur le marché international à cause de ses qualités naturelles et biochimiques (Arba, 2009).

→ **Bétalaine** : le fruit de cactus de couleur rouge ou pourpre contient de la bétalaine, qui peut être utilisée principalement comme colorant d'aliments qui ne requièrent pas de traitement thermique tels que les glaces alimentaires, les yaourts, les friandises, les desserts, les sirops et les sauces. Ces colorants naturels n'ont pas un E-numéro ; ce qui permet au produit alimentaire coloré par ces substances naturelles de garder un label Bio. Ces colorants extraits de légumes et fruits fournissent des substances supplémentaires nécessaires à l'augmentation de la valeur nutritionnelle du produit concerné. Ce qui constitue une spécificité de la bétalaine du jus de fruit de cactus c'est de préserver leur couleur à un pH situé entre 3 et 7, là où la majorité des anthocyanes communément utilisées perdent leur

performance et se dégradent (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).

• **Production cosmétique et pharmaceutique** : Le mucilage des cladodes est utilisé dans la fabrication des shampoings, des assouplissants des cheveux, des crèmes dermiques et des laits hydratants. Il est également utilisé depuis longtemps par les femmes rurales pour assouplir leurs cheveux. Ce mucilage permet également de réduire le taux de cholestérol dans le sang. La poudre séchée des cladodes ou poudre de nopal à également un effet sur le contrôle du sucre et du cholestérol dans le sang (Fernandez et al., 1990). Elle a aussi un effet amincissant et antiglycémique car, la pectine de la poudre diminue le plasma (Fрати et al., 1988). Le thé aux fleurs est utilisé en Sicile comme remède aux maux des reins. Des capsules qui sont faites à partir des fleurs séchées sont utilisées comme régulant diurétique et comme remède au dysfonctionnement de la prostate. Le bouilli des fleurs séchées est utilisé en pharmacopée traditionnelle comme remède aux douleurs gastro-intestinales, aux brûlures et coups de soleil. L'huile essentielle des graines des fruits du cactus est riche en acides gras polyinsaturés, en stérols et en vitamines, elle est utilisée comme antiride naturel et pour la fabrication des crèmes dermiques antirides. L'huile essentielle des graines est actuellement extraite et commercialisée par des ONG et des petites sociétés privées dans certaines régions du Maroc. Les bouteilles d'huile sont exposées dans les manifestations nationales et régionales et le marketing du produit pour le marché étranger se fait par site web (Arba, 2009).

• **Production d'alicaments** : Les technologies mises au point récemment ont démontré la possibilité de production des alicaments sous forme de gélules ou capsules. Ce sont des aliments naturels qui ont des fonctions thérapeutiques pour le traitement des maladies comme l'obésité, le cholestérol, la constipation et les coliques. Ils contribuent à la régulation du transit de l'intestin (Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010).

• **Engrais vert** : Les résidus des raquettes ou des fruits et les autres parties de la plante constituent un excellent fertilisant (Revue nature et santé, 2011).

• **Protection** : Cette plante constitue des haies vives qui permettent la fixation des terrains ravinés par les pluies et stabilisent les terres sablonneuses et sont infranchissables aux animaux sauvages. Elles nécessitent peu d'entretien tout en offrant la richesse de leurs fruits et de leurs raquettes. Néanmoins, il faut tenir compte du caractère invasif de cette plante (Revue nature et santé, 2011).

-
- **Combustible** : C'est une plante qui fournit un excellent bois de chauffage et une flamme éclairante (Revue nature et santé, 2011).

4. Cladodes du figuier de Barbarie

4.1. Morphologie

Le terme feuilles de figuier de Barbarie est fréquemment utilisé dans la littérature pour désigner les segments de tiges aplaties de la plante qui remplacent les feuilles dans leurs fonctions. Ces tiges de cactus, les raquettes de cactus ou cladodes sont les termes corrects, synonyme de « nopales ». Les tiges sont composées d'un parenchyme blanc (tissu de base) et le contenant de la chlorophylle au sein du chlorenchyme (tissu de cortex) (fig.7). Ce dernier est recouvert d'épines (feuilles modifiées) et poils ou trichomes multicellulaires, qui forment l'aréole et qui est une caractéristique des membres de la famille des cactacées (Anderson, 2001). Les glochides sont composées de 100% de cellulose cristalline (Waldron et al., 1996). Les microfibrilles de cellulose sont de 0,4 mm de longueur et de 6 à 10 µm en diamètre, et sont parallèlement ancrées dans une matrice d'arabinose. Celle-ci est en présente sous forme de gel solide, tissé et serré avec la cellulose. Les épines sont constituées de 96% de polysaccharides, qui eux-mêmes sont divisés en 49,7% de cellulose et 50,3% d'arabinose, le reste est constitué de cendres, matières grasses, cires et la lignine (Malainine1 et al., 2003). Elles mesurent 1 à 3 cm de longueur et forment 8,4% du poids total de la cladode. Leurs fonctions comprennent la protection mécanique face aux herbivores, la réflexion de la lumière, l'ombre pour la tige, et donc permettent la réduction de la perte en eau ainsi que la condensation du brouillard (Anderson, 2001).

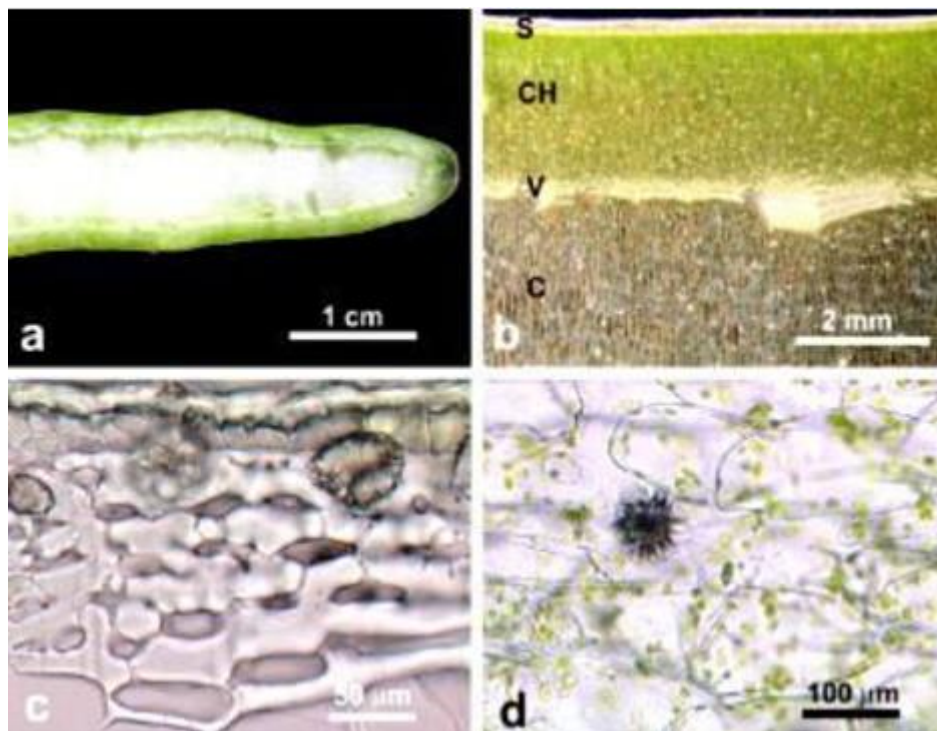


Figure 7 : Morphologie des cladodes du figuier de Barbarie, (a) : Coupe transversale (CT) de l'ensemble de la cladode ; (b) : CT des couches extérieures de la cladode montrant la peau (S), chlorenchyme (CH), vaisseaux conducteurs (V), parenchyme (C) ; (c) : CT de la peau montrant un hypoderme à parois épaisses ; (d) : CT du chlorenchyme avec des plasmides et des cristaux oxalate (Ginestra et al., 2009).

4.3. Applications pharmaceutiques et cosmétiques

Traditionnellement, les cladodes de cactus contribuaient considérablement à l'alimentation humaine au Mexique et servent jusqu'à présent comme des agents thérapeutiques. En médecine populaire, elles sont utilisées pour le traitement de la gastrite, de la fatigue, de la dyspnée et des maladies du foie suite à l'abus d'alcool (Stintzing and Carle, 2005). Les cladodes chauffées ont été utilisées pour traiter le rhumatisme, les érythèmes et les infections chroniques de la peau, mais aussi pour améliorer la digestion et améliorer le processus général de désintoxication (Munoz de Chavez et al., 1995). Récemment, des effets positifs des cladodes ont été démontrés sur l'hyperglycémie, l'acidose, et l'artériosclérose. Le rôle des polysaccharides des cladodes dans le secteur des médicaments est intéressant comme la réduction du cholestérol et son action préventive du diabète et les thérapies adipeuses. Depuis qu'il a été démontré que la fraction hydrocolloïdale est également riche en protéines, davantage de recherches doivent être effectuées pour

prouver si les effets positifs sont dus à des substances pectiques ou plutôt aux protéines (Stintzing and Carle, 2005). Depuis que lutéoléine est connue pour réduire considérablement le cholestérol par inhibition indirecte de la 3-HMG-CoA réductase qui est l'enzyme clé de biosynthèse du cholestérol. L'action des flavonoïdes sur le métabolisme du cholestérol serait intéressante à poursuivre (Gebhardt, 2003). Les hydrocolloïdes d'Opuntia pourraient être appliqués dans les crèmes similaires à l'Aloe vera (L.) (Eshun et al., 2004).

Chapitre 2. Propriétés antioxydantes

1. Radicaux libres et stress oxydatif

Notre organisme est normalement soumis à un stress oxydatif. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas des ressources enzymatiques et antioxydantes suffisantes pour les éliminer (Gardès-Albert et al., 2003).

1.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydatif, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène. Ceci leur confère la dénomination de radicaux libres « centrés » sur l'oxygène (Delattre et al., 2005). Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO) et azotées (ERN), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le radical perhydroxyle (HO_2^{\bullet}), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical peroxy (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxy (RO^{\bullet}). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003). Ces radicaux libres ne sont pas seulement attribués à des phénomènes de stress oxydant. Ils peuvent être générés au cours du métabolisme normal de l'oxygène in vivo, mais, dans ce cas, en très faible quantité. Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été

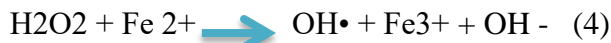
identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons (Belyagoubi, 2011) :

- Des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie.
- Des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées.
- Du système xanthine déshydrogénase/oxydase activée lors d'ischémie-reperfusion.
- Exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV et la fumée de cigarette.

La production des espèces réactives de l'oxygène dans les cellules mammifères est essentiellement d'origine enzymatique. Il s'agit principalement de la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire (Delattre et al., 2005). En effet, au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale (où 85 % de l'oxygène est métabolisé), se produit la réduction complète d'O₂ par 4 électrons (réaction (1)) conduisant à la formation d'eau. Cependant cette réduction ne peut s'effectuer que par plusieurs étapes successives qui donnent naissance à des intermédiaires partiellement réduits de l'oxygène (Halliwell et al., 1999). C'est ainsi qu'environ 2% de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial est transformé en radicaux superoxydes O₂•⁻. Ces derniers résultent de la réduction monoélectronique de l'oxygène due à la fuite d'une certaine proportion d'électrons de la chaîne de transport des électrons, situés dans la membrane mitochondriale (réaction (2)). Les radicaux O₂•⁻ sont des espèces potentiellement toxiques et ils sont régulés par les enzymes et les superoxydes dismutases qui catalysent leur dismutation (réaction (3)) (Halliwell et al., 1999) :



Bien que le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée, H₂O₂) ne soit pas un radical libre, mais une molécule (ayant tous ses électrons appariés), il est lui-même toxique à travers des réactions de type « réaction de Fenton », se produisant en présence de cations métalliques comme Fe²⁺ ou Cu²⁺. En effet, au cours d'une réaction de Fenton (réaction(4)), le peroxyde d'hydrogène donne naissance à des radicaux hydroxyles OH• qui sont les espèces radicalaires les plus délétères du stress oxydant. Le peroxyde d'hydrogènes est régulé in vivo grâce à la catalase qui accélère sa dismutation (réaction (5)) et la glutathion peroxydase qui catalyse sa réduction par le glutathion (tripeptide soufré) (Delattre et al., 2005).



Le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle sont encore appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO), car ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Toutefois, il existe d'autres ERO telles que les radicaux peroxydes $\text{RO}_2\cdot$ formés par attachement de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone (symbolisé par $\text{R}\cdot$) (réaction (6)), les hydroperoxydes RO_2H provenant de l'oxydation d'un substrat RH (réaction (7)) ainsi que les alkoxydes $\text{RO}\cdot$ issus de la décomposition des hydroperoxydes (RO_2H) par des cations métalliques (réaction (8)) (Delattre et al., 2005).



Au cours des phénomènes de stress oxydant, ces diverses entités radicalaires et moléculaires sont produites d'une manière accrue, ce qui se traduit par de nombreuses dégradations oxydatives au niveau des macromolécules biologiques telles que les acides nucléiques, les protéines et les lipides. Ces lésions oxydatives sont impliquées dans plusieurs pathologies (athérosclérose, diabète sucré, maladies neurodégénératives, maladies articulaires, cancer) ainsi que les phénomènes d'ischémie-reperfusion (cardiaque ou cérébrale) et le processus de vieillissement. Les antioxydants endogènes et exogènes apparaissent comme des systèmes moléculaires susceptibles de limiter les effets des ERO et donc de protéger, d'une manière plus au moins efficace, les matériaux biologiques vis-à-vis des phénomènes de stress oxydant (Delattre et al., 2005).

1.2. Moyens de défense contre les radicaux libres

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories (fig.8) : la prévention à temps plein, la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive (Virot, 2004) :

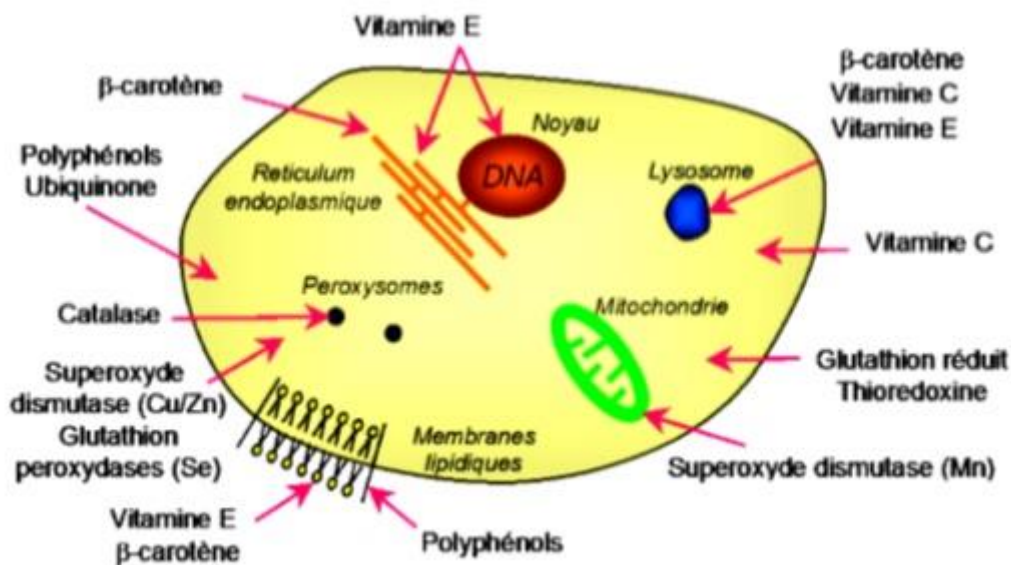


Figure 8 : Schéma illustrant les molécules intervenant dans les protections cellulaires (Virot, 2004).

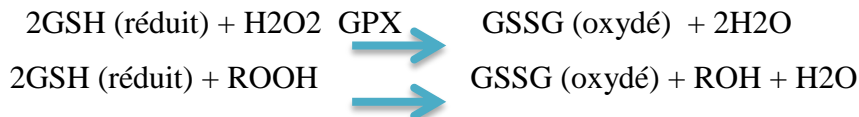
- **Prévention à plein temps** : C'est un système qui agit en permanence pour prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres.
- **Détoxification active à la suite d'une attaque oxydante** : Ce système de défense repose principalement sur 3 enzymes (Valko et al., 2006) :
- Superoxyde dismutase (SOD) : Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en oxygène.



- Catalase : Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en deux molécules H₂O et O₂.



- Glutathion peroxydase : C'est une enzyme à cofacteur de sélénium localisé dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).



-Détoxification passive : Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclut tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser les radicaux libres par des molécules telles que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, etc. (Valko et al., 2006).

2. Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ou microconstituants capables d'interférer avec les radicaux libres. Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères (Valko et al., 2006):

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.
- Chélaté des ions de métaux de transition (Fe²⁺, Cu²⁺) d'importance biologique capable de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génétique.
- Être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

2.1. Antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes antioxydants enzymatiques les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Valko et al., 2006).

2.2. Antioxydants non-enzymatiques

2.2.1. Antioxydants endogènes

Les antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols :

-**Glutathion** : thiol majoritaire, largement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir, in vivo, avec les radicaux $\text{OH}\cdot$, $\text{RO}_2\cdot$, $\text{RO}\cdot$, IO_2 , ONOO- , des radicaux centrés sur le carbone, mais aussi l'acide hypochloreux HOCl (Delattre et al., 2005).

- Acide lipoïque : composé appartenant aux thiols, ses deux formes oxydée et réduite présentent des propriétés antioxydantes in vitro en piégeant les $\text{OH}\cdot$, $\text{RO}_2\cdot$, l' HOCl et l' IO_2 . En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de les désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes (Packer et al., 2001).

- Acide urique : présent sous forme d'urate à pH physiologique, il possède des propriétés antioxydantes in vitro contre les $\text{OH}\cdot$ et $\text{RO}_2\cdot$, tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine (Delattre et al., 2005).

2.2.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et les composés phénoliques (Valko et al., 2006).

- Vitamine C ou acide ascorbique : c'est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes et elle est non synthétisée par l'Homme. Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky et al., 1999). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AscH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle ($\text{AscH}\cdot$), stabilisé par résonance. Du fait de son très faible pK, la forme non protonée radicalaire faiblement réactive est privilégiée ($\text{Asc}\cdot^-$) (fig.9) (Valko et al., 2006).

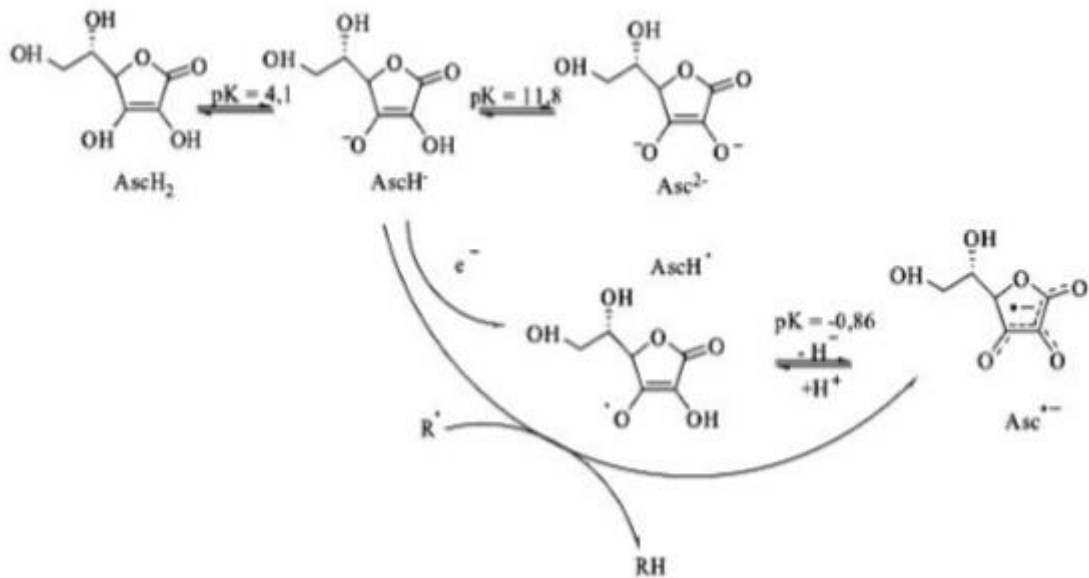


Figure 9 : Différentes structures chimiques de la vitamine C et réaction avec les radicaux.

Paradoxalement, les études *in vivo* de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipoperoxydation, alors que certains auteurs relatent l'effet pro-oxydant *in vitro* de cette molécule dans des milieux tamponnés contenant du fer en accélérant la réaction de Fenton (Valko et al., 2006).

- **Vitamine E** : c'est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (ensemble de 8 molécules, dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols) (fig.10) (Yoshida et al., 1993).

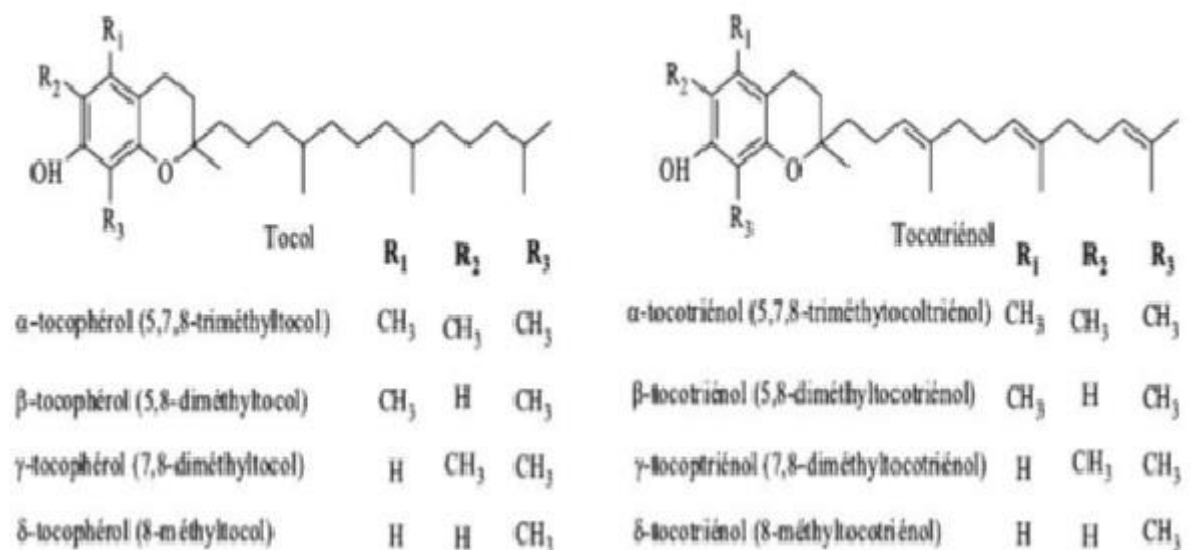


Figure 10 : Structures chimiques des tocophérols et des tocotriénols

Ce sont de bons antioxydants alimentaires, mais ils sont surtout connus pour leur rôle physiologique chez l'Homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines. Elle préviennent l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux LOO• selon la réaction suivante (Yoshida et al., 1993) :



-Caroténoïdes : ce sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles (fig.11). On en dénombre environ 600 présents dans la nature.

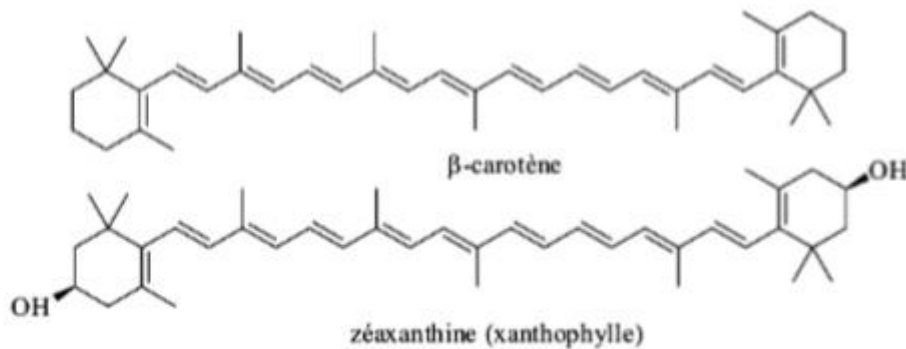


Figure 11 : Exemple de carotène et de xanthophylle.

L'activité antioxydante de ces composants est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO•, OH•, O2•-, R• par simple addition électrophile et transfert d'électrons. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet selon les réactions suivantes (Valko et al., 2006) :



Composés phénoliques :

C'est en particulier les flavonoïdes, qui sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane (fig.12) (Leopoldini et al., 2011).

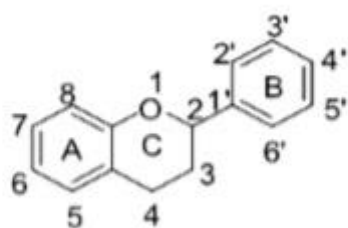


Figure 12 : Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane.

Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (fig.13) (Leopoldini et al., 2011). De façon générale, l'activité biologique des flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier du nombre de groupements hydroxyles (Schroeter et al., 2002).

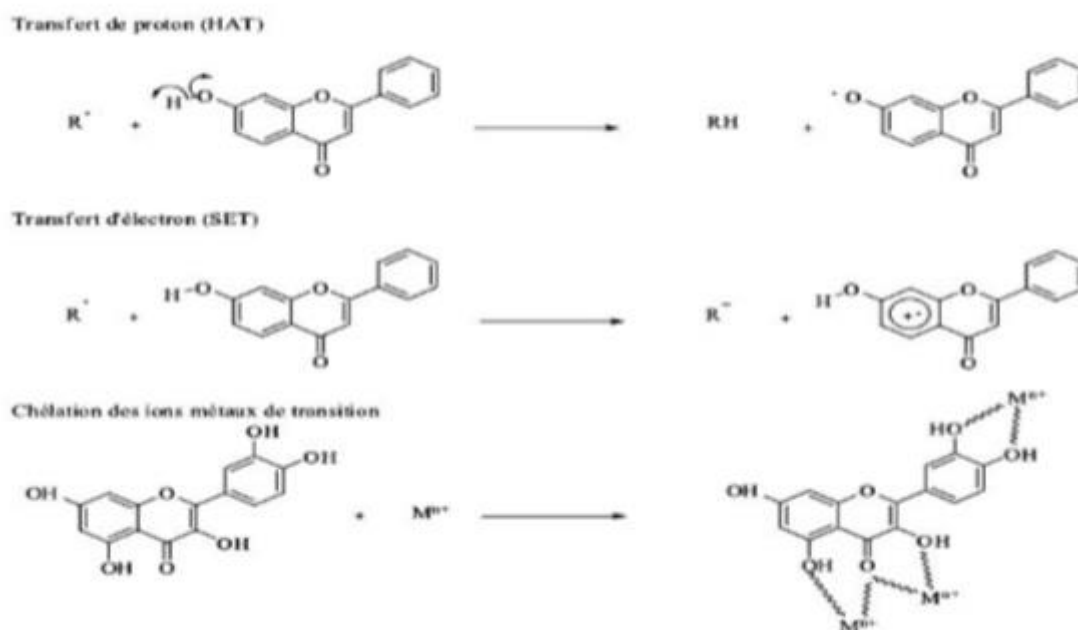


Figure 13 : Mécanismes d'actions antioxydantes des composés phénoliques (Leopoldini et al., 2011).

3. Mécanismes de réactions de l'activité antioxydante in vitro :

L'activité antioxydante et antiradicalaire mesure le pouvoir des antioxydants à inhiber ou retarder l'oxydation (Mancebo-Campos et al., 2014). Il existe plusieurs méthodes qui mesurent l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines in vitro ainsi que celle

mesurant le pouvoir antioxydant *in vivo* chez les animaux ou l'Homme (Prior et al., 2005). Nous allons nous focaliser sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante. Les antioxydants peuvent inhiber les radicaux libres suivant deux principaux mécanismes, les réactions de transfert d'électrons et les réactions de transfert d'ions d'hydrogène (H⁺). Le résultat final est le même, quel que soit le mécanisme, mais la cinétique et le potentiel de réactions secondaires sont différents. Les deux mécanismes peuvent se produire en parallèle, et le mécanisme dominant dans un système donné sera déterminé par la structure et les propriétés de l'antioxydant, sa solubilité et le système du solvant. L'énergie de dissociation et le potentiel d'ionisation sont les deux facteurs majeurs qui déterminent le mécanisme et l'efficacité d'un antioxydant (Wright et al., 2001).

3.1. Réactions de transfert de proton d'hydrogène :

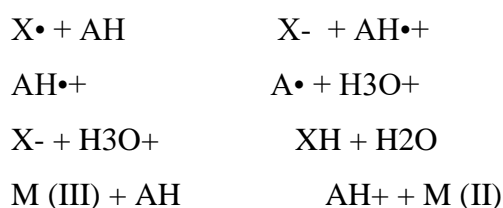
Elles mesurent la capacité d'un antioxydant à neutraliser les radicaux libres par le transfert d'un proton hydrogène (AH = H⁺ + A. donneur) (Prior et al., 2005).



Où X[•] est le radical libre et AH l'antioxydant. Elles sont indépendantes du pH et du solvant et sont généralement assez rapides et durent quelques secondes à quelques minutes. La présence d'agents réducteurs, y compris les métaux, complique ce genre de réactions et peut conduire à une très forte réactivité apparente (Prior et al., 2005).

3.2. Réactions de transfert :

Elles mesurent le potentiel d'un antioxydant à transférer un électron et réduire n'importe quels composés à savoir les métaux, les carbonyles et les radicaux (Prior et al., 2005).



Où X est le radical libre, AH l'antioxydant et M (III) un métal. Ces réactions sont dépendantes du pH et la réaction de terminaison est souvent très lente. Les traces de composants et contaminants, en particulier les métaux, interfèrent avec les réactions de transfert d'électrons et peuvent donner lieu à une grande variabilité des résultats (Prior et al., 2005).

Il existe plusieurs méthodes chimiques pour le dosage *in vitro* de l'activité

antioxydantes. Les trois méthodes réalisées pour notre étude sont : test FRAP (Activité antioxydante) et les deux tests DPPH et ABTS (activité antiradicalaire).

4. Définition des métaux lourds et métalloïdes

Les métaux lourds sont un groupe d'éléments inorganiques distribués largement dans la nature ; eau sol, air et différentes formes d'organismes. On parle généralement de métaux lourds pour les éléments métalliques caractérisés par une masse volumique supérieure à 5 kg par décimètre cube. Ce sont des composants naturels de l'écorce terrestre présente en générale en quantité très faible, c'est pour cette raison que les scientifiques appellent « élément trace métallique (ETM) (Chiffolleau and Claisse, 2001), certains métaux présents dans l'environnement jouent un rôle important dans la cellule (cuivre, Fer, manganèse, Nickel et le Zinc etc.). D'autres comme le cadmium, le plomb et des métalloïdes tel que l'antimoine et l'arsenic, ne sont pas nécessaires à la vie et sont préjudiciables dans tous les cas (Zhang *et al*, 2009).

Les métalloïdes sont des éléments qui ne présentent à l'état de corps simples, ni les caractéristiques des non métaux, en générale ils n'ont pas l'éclat dit métallique et sont de mauvais conducteurs électriques, ils ont une densité relativement faible. Ils sont toujours électro-négatifs et peuvent se combiner avec des métaux pour former des sels. Parmi les métalloïdes nous pouvons citer B, Si, Ge, As, Sb et Te (Naquet and Hanriot, 1890).

4.1 Origine de la pollution par les métaux lourds

La présence des métaux lourds dans l'environnement est due aux activités agricoles industrielles (Khan, 2005) telles que l'utilisation des engrais et pesticides, l'émission des fonderies métalliques et des incinérateurs d'ordures, l'exploitation minière, la combustion des carburants, la galvanoplastie (Adamis *et al*, 2004). Toutes ces sources conduisent à l'accumulation des métaux dans le sol, les eaux et l'air provoquant la pollution de l'environnement (Cabreca *et al*, 2006).

4.2 Métaux lourds et leurs effets sur les organismes vivants

Si certains éléments métalliques ou oligo-éléments (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni) présents à l'état de traces, sont essentiels pour l'organisme, l'accroissement de leur concentration peut représenter un danger pour les êtres vivants, les autres éléments comme le plomb, le mercure, le cadmium, le chrome, le cobalt, l'arsenic, et l'antimoine ne sont pas nécessaires aux

activités métaboliques et sont toxiques à faible concentration (Adriano, 2001, Alkorta *et al* , 2004). La contamination des milieux solide et aquatique par les métaux provoque l'accumulation de ces derniers dans les plantes , via un transfert sol-plante et chez les humains et les animaux induit des mutations au niveau de l'ADN, en donnant naissance à différents type de cancer (Yang *e al*, 2005) ainsi qu'un retard dans la croissance et une inhibition des métabolismes cellulaires, par exemple, l'arsenat disodium (l'analyse chimique du phosphate) inhibe la phosphorisation oxydative alors que le plomb se lie aux groupement prosthétiques et inhibe la formation du complexe de l'hème (Schröder *et al*,2009).

Les plante exposées à des niveaux élevés de Cadmium (Cd) présentent des symptômes visible de dommages (chlorose, inhibition de la croissance , brunissement des racines) ainsi que d'autre symptômes (réduction de la photosynthèse, de l'absorption d'eau et des nutriments et même la mort cellulaire) (Wojcik and Tukiendorf,2004, Mohanpuria *et al*,2007). Dans les sols contaminés par le cadmium, le Zinc et toujours présent, les fortes concentrations en Zn empêchent de nombreuse fonction métabolique des plantes et se traduisent par un retard de croissance et même une sénescence, l'excès de zinc provoque la chlorose chez les jeunes feuille, qui peut s'étendre aux feuille plus âgées, ce métal peu conduire aussi à une carence en Fer et une déficience en manganèse (Mn) et en cuivre (Cu) dans les feuilles des plantes ainsi qu'à une carence en phosphate qui se traduit par une couleur rouge violacée (Ebbs and Kochian,1997).

Le cuivre (Cu) est considéré comme un oligo-élément pour les plantes (Thomas *et al*, 1998), il joue un rôle important dans l'assimilation du CO₂ et dans la synthèse de l'ATP. L'excès de Cuivre (Cu) dans le sol induit un stress oxydatif provoquant des lésions dans les plantes, des perturbations dans les voix métaboliques, un retard de croissance végétale et une chlorose au niveau des feuilles (Lewis *et al*,2001).

Le mercure (Hg) peut facilement s'accumuler dans les plantes supérieures et aquatique (Kamal *et al*,2004 ; Wang and Greger,2004,Israr ;2006). Le niveau toxique d'Hg⁺⁺ peut entrainer des lésions visibles et des troubles physiologiques chez les plantes (Zhou *et al*, 2007).

Par exemple, le Hg⁺⁺ peut se lier aux aquaporines, induisant ainsi la fermeture de stomates des feuilles et l'obstruction physique de l'écoulement d'eau dans les plantes (Zhang and Tyerman,1999), la toxicité du Chrome (Cr) a été étudiée chez diverses plantes, l'excès de ce métal provoque l'inhibition de la croissance de la plante, la chlorose chez les jeunes feuilles, le déséquilibre de nutrition minérale, le flétrissement des sommets et la blessure des racines, il peut ainsi altérer le processus physiologique et métabolique des plantes par un effet direct sur

les enzymes et leurs métabolites (Shanker *et al*, 2005),

Le plomb est l'un des éléments toxiques les plus abondants dans le sol, il exerce un effet négatif sur la morphologie, la croissance et les processus photosynthétique de la plante, il provoque également une inhibition de l'activité enzymatique au niveau cellulaire, des modifications de la perméabilité de la membrane, des perturbations de la nutrition minérale (Sharma and Dubey, 2005) en plus que l'augmentation de la production des R.O.S dans les plante (Reddy *et al*, 2005).

L'excès de Nickel (Ni) dans le sol provoque divers problèmes *physiologique* et divers symptômes de toxicité, tels que la chlorose et la nécrose chez différentes espèces végétale (Zornoza *et al*, 1999 ; Pandey and sharma, 2002 ; Rahman *et al*, 2005).

Le Ni²⁺ affecte aussi la composition lipidique et l'activité de H-ATPase de la membrane plasmique dans la partie aérienne d'*Oryza Sativa* (ROS *et al* 1999 ; Gajewska *et al*, 2006).

L'arsenic (As) et l'antimoine (Sb) ne sont pas des éléments essentiels pour la plante, une fois absorbés, ils entrent en compétition avec des métabolites essentiels, ce qui les rend phytotoxique (Bowen, 1979), comme pour l'homme, la toxicité de leur nature chimique ;

Les formes inorganiques sont plus toxiques que la forme organique, biochimiquement l'arsenic à deux effets majeurs :

- il interrompt les chaînes de transport d'électrons mitochondriales en se substituant au phosphore dans la réaction de formation d'ATP.
- A forte concentration, les formes inorganiques entraînent la précipitation des protéines en interagissant avec leurs groupements sulfhydriles et leurs sites actifs.

A l'instar de l'arsenic, l'antimoine agirait sur les groupements thiols du glutathion et des protéines entraînant leur dénaturation (Sun *et al*, 2000)

5 .Cadmium

5.1-Généralités sur le cadmium

Le cadmium est un métal blanchâtre argenté, découvert pour la première fois par le professeur de métallurgie Friedrich Strömeijer en 1817 dans un minerai de zinc appelé minerai de calamine « cadmia » (Llewellyn, 1994 ; Honey., 2015). Friedrich Strömeijer l'appela alors cadmium (Cossa et Lassus, 1989). C'est un métal de transition du groupe II B de la classification périodique des éléments entre le zinc et le mercure. De par son numéro atomique 48, il se situe entre l'argent et l'iridium (Cossa et Lassus, 1989). Le cadmium a une masse volumique de 8,6 g/cm³, une masse atomique de 112,4 g /mol.

5. 1.1- Mécanisme de toxicité du Cadmium

Le cadmium est un polluant environnemental. IL s'accumule dans le corps avec l'âge et seulement une petite partie est excrétée par jour (Hyder et al. 2013). Les deux principales sources d'exposition au cadmium de la population en générale sont l'alimentation et le tabagisme (Pascal et al. 2010). Le tabagisme constitue un apport important de cadmium (environ 1 µg par cigarette). L'apport de cadmium dans l'eau de boisson est en général inférieur à 0,1 µg/L (WHO, 2004). Le cadmium étant absorbé soit par voie gastro-intestinale ou pulmonaire se retrouve dans la circulation sanguine. Au niveau sanguin, le cadmium présent dans le compartiment est principalement (environ 95%) intra-érythrocytaire lié à l'hémoglobine (Pascal et al, 2010). Il est rapidement distribué dans le foie et les reins (cortex rénal) et, dans une moindre mesure, dans le pancréas et la rate. Environ, la moitié du cadmium de l'organisme est localisé dans le foie et les reins. Ainsi, sa migration vers le foie se fait sous forme de complexe avec diverses protéines telles que l'albumine. Dans le foie a lieu des réactions de détoxification où le cadmium forme un complexe avec le glutathion (GSH) et avec les métallothionines (MT). La formation de complexes Cd-MT neutralise les effets toxiques du cadmium (Hyder et al. 2013). Le complexe Cd-MT est ensuite redistribué dans tous les organes, notamment dans les reins contrairement au complexe Cd albumine qui ne passe pas la barrière glomérulaire du fait de son haut poids moléculaire. Ces complexes Cd-MT seront stockés dans le foie ou vont migrer vers le rein pour être éliminés (Klaassen et al., 1999). Dans les reins, 50% sont éliminés et 50% sont réabsorbés par endocytose. La dégradation du complexe réabsorbé par les lysosomes entraîne la libération du cadmium qui interagit avec d'autres composants cellulaires rénaux et de les endommager (Tang et al., 1998; Barbier et al.,

2005). L'apparition donc d'une atteinte néphrologique altère les capacités d'élimination rénale du cadmium (Pascal et al., 2010). Quant aux complexes Cd-GSH, ils seront éliminés dans la bile. L'excrétion du cadmium est faible et très lente, elle est essentiellement urinaire. La demi-vie sanguine du cadmium, correspondant à la durée d'élimination de la moitié de la quantité de cadmium présent dans le sang, est d'environ 100 jours (Pascal et al., 2010). Et la demi-vie biologique du cadmium, correspondant à la durée d'élimination de la moitié de la quantité de cadmium présent dans l'organisme, est particulièrement longue, puisqu'elle est d'environ 20 à 40 ans.

5. 2- Intoxication aiguë

5. 2. 1- Intoxication aiguë par voie digestive

Des études menées ont montré que la dose létale (DL50) du cadmium par voie orale chez l'animal dépend de l'espèce chimique du cadmium. Elle est proche de 30 mg/kg pour les sels solubles, comme le chlorure ou l'acétate, et peut atteindre 5000 mg/kg pour le sulfure, très peu soluble. La DL50 du cadmium métallique chez la souris peut atteindre 890 mg/kg (Ricoux et Gasztowtt., 2001). Les manifestations cliniques des intoxications au cadmium et leur traitement sont fonction de la voie d'exposition, de l'organe cible. L'ingestion de cadmium ou de ses composés inorganiques peut survenir notamment lors de la prise d'aliments ou de boissons contaminés par du cadmium (Bernard et Lauwreys., 1986). En effet, l'ingestion accidentelle de sels minéraux de cadmium est rapidement suivie de troubles digestifs intenses: nausées, vomissements importants, douleurs abdominales, diarrhées. Ces premiers symptômes sont souvent accompagnés de crampes musculaires et d'une hypersalivation. A doses élevées, les pertes digestives sont responsables d'une hypovolémie et de désordres hydroélectrolytiques kg (Ricoux et Gasztowtt., 2001). L'insuffisance rénale est la conséquence des troubles hémodynamiques et d'un effet toxique direct sur les tubules rénaux. Aux doses massives, la mort peut survenir en quelques heures (Bismuth, 2000).

5.2.2- Intoxication aiguë par voie respiratoire

Par voie respiratoire, après une période rapide asymptomatique (4 à 10 h), apparaissent des signes d'irritation grave (toux, douleurs thoraciques), des troubles digestifs (nausées, vomissements), accompagnés de frissons, de fièvre, de céphalées, de courbatures et d'une hyperleucocytose (Satarug et al, 2004). Après 1 à 3 jours après l'exposition, la mort peut

survenir. Ainsi, l'autopsie réalisée montre des signes de l'œdème pulmonaire. Après 3 à 10 jours après l'exposition dans les cas tardifs, on observe des signes d'hépto- et de néphrotoxicité, des infarctus (Lauwerys, 1990). D'après les cas rapportés d'intoxication aiguë par voie respiratoire, on estime que la mort peut être provoquée par des expositions de 10 min à 150-300 mg Cd/m³, de 1 h à 40-50 mg Cd/m³ ou de 8 h à 5 mg Cd/m³

5.2.3- La fièvre des métaux

Cette pathologie est aussi connue sous les noms de « fièvre du lundi » et « fièvre des fondeurs ou des soudeurs », signe que ces deux professions étant les plus exposées aux fumées d'oxydes métalliques (Gordon et Fine., 1993). L'inhalation de fumées d'oxydes métalliques, notamment de fumées d'oxyde de zinc entraîne les fièvres des métaux lors d'opérations de chauffage de cadmium pour fabriquer des alliages avec d'autres métaux, de pulvérisations de cadmium sur des surfaces (Pascal et al., 2010). Au début, les symptômes apparaissent 4 à 8 heures après une exposition surtout le plus souvent le soir succédant l'exposition. Parmi ces signes, on peut citer l'état pseudo-grippal caractérisé par une sensation de malaise général, une forte fièvre avec parfois, des céphalées, des myalgies, des frissons, des nausées, voire des vomissements. A cela s'ajoute des signes d'irritation des voies aériennes supérieures (toux) accompagnées parfois de dyspnée et une hypoxémie transitoire modérée. Le liquide de lavage broncho alvéolaire montre, le plus souvent dans les 24 premières heures après l'exposition, une augmentation importante des polynucléaires neutrophiles (10 à 50%). La méconnaissance de ces symptômes conduit la plupart de ces cliniciens à porter le diagnostic d'une infection virale. Le suivi donc de la température corporelle journalière est le meilleur paramètre quant à suspecter cette fièvre des métaux.

.5. 2. 4- Pneumopathie cadmique

L'intoxication par inhalation de fumées de cadmium peut avoir des répercussions sur la santé. En effet, après quelques heures de latence, une pneumopathie chimique aiguë dénommée pneumopathie cadmique présente des signes d'irritation des voies respiratoires comprenant une toux sèche, une dyspnée et des douleurs suivi d'une fièvre, de céphalées, de myalgies et d'une hyperleucocytose (Barnhart., 1984). La pneumopathie cadmique peut aboutir à une bronchoalvéolite hémorragique aboutissant au décès du patient dans 10 à 25% des cas. Parfois, une atteinte hépatique et rénale modérées sont associées (Fernández, 1996).

5. 3- Intoxication chronique

Le cadmium existe à l'état naturel sur la terre et dans les océans. Il a la propriété d'émettre des vapeurs bien en dessous de son point d'ébullition même à l'état solide, se transformant rapidement dans l'air sous forme d'un oxyde métallique. L'exposition au cadmium de façon chronique ou aiguë affecte la santé et la vie des organismes (IARC, 2012). Après contamination, il est principalement stocké dans le foie et les reins (Andujar et al., 2010). Les lésions se manifestent dès 50 ppm, après 60 à 75 jours d'exposition, par une dégénérescence des cellules des tubules proximaux mettant vraisemblablement en jeu un stress oxydatif. Les premiers cas d'intoxication aiguë au cadmium ont été décrits dans la littérature en 1858 et les premiers cas d'intoxication chronique ont été décrits beaucoup plus tard en 1942 en France dans l'industrie de fabrication de batteries Ni-Cd (Andujar et al., 2010). Et dans les années 1950, l'intoxication chronique au cadmium a été observée pour la première fois au Japon dans le bassin de la rivière Jinzu à Toyama. Les habitants de cette zone ont été victimes de certaines pathologies à savoir le dysfonctionnement rénal et la douleur osseuse. L'intoxication chronique au cadmium donc affecte principalement les reins et le foie. De nos jours, la concentration de cadmium dans le bassin de la rivière Jinzu à Toyama au niveau de la population est encore élevée. L'exposition chronique au cadmium à faible concentration provoque la défaillance rénale, le diabète rénal compliqué, l'ostéoporose, un dérèglement de la pression sanguine et un risque élevé de cancer lorsque la concentration de cadmium atteint 50 µg/g de tissus. Le cadmium persiste dans l'organisme pendant au moins 30 ans (IARC 1993; Nakagawa & Nishijo 1996). L'excrétion étant très faible et très lente, elle s'effectue essentiellement par voie urinaire et très faiblement par voie fécale (1 %), par la sueur et la salive. Le cadmium présent dans le tabac varie entre 0,5 à 1 µg/cigarette. L'oxyde de cadmium produit au cours de la combustion est fortement biodisponible. L'inhalation de fumées d'oxyde de cadmium est à l'origine de fièvres d'inhalation ou de pneumopathies chimiques. Environ 10% de l'oxyde de cadmium inhalé se dépose dans les alvéoles pulmonaires et 30 à 40% passe dans la circulation sanguine par un mécanisme non élucidé à ce jour mais qui pourrait utiliser le transporteur DMT1. L'exposition chronique tout comme l'exposition aiguë est bien connue chez le modèle animal où l'on a pu observer une hépatotoxicité du foie, une dégénérescence des cellules du foie et l'apoptose (Habeebu et al., 2000). Ces effets néphrotoxiques ont été particulièrement étudiés chez les rongeurs. Le cadmium est un toxique cumulatif: sa demi-vie biologique est estimée chez la souris et le rat entre 200 et 700 jours; chez certains primates, elle peut même dépasser 22 ans. Une étude comparative a été menée entre la mortalité due à une exposition au cadmium et le cancer du foie aux Etats-Unis où il a été montré que

l'exposition chronique au cadmium peut entraîner des dommages du foie. C'est la première étude ainsi réalisée dans ce sens. Selon une prévision, 50µg/g de cadmium dans le rein correspond à 2-4 µg/jour et ce qui peut atteindre en 50ans 1µg/kg de poids corporel par jour (Buchet et al., 1990) et la prévision tolérable hebdomadaire serait de 7µg/kg de poids corporel ou 70µg/jour (WHO, 1989). Selon le codex alimentarius à travers son comité pour additif alimentaire et contaminants a élaboré un plan sur la limite maximale de contamination au cadmium et le plomb. Ainsi, la concentration de cadmium dans les mollusques et les crustacés est entre 1-2mg/kg (Kruzynski, 2004). Ce qui a permis au pays d'établir une limite maximale de risque de contamination au cadmium. Ainsi, Pour la consommation des mollusques, des quantités de cadmium admissibles (limites maximales) ont été établies: 1 mg/kg de poids corporel, (1 ppm) pour l'Europe, 2 mg/kg (2 ppm) pour Australie, Nouvelles Zélande et Hong Kong. Les Etats Unis et Canada n'ont rien fixé (Satarug et Moore, 2004).

5. 4- Pathologies liées au cadmium

L'absorption intestinale de cadmium est d'environ 30µg par jour en fonction de l'âge, des paramètres biologiques, du sexe et régime alimentaire (Satarug et Moore, 2004). Une intoxication chronique conduit à une accumulation de cadmium, dont la demi-vie est estimée de 15 à 20 ans (Jarup, 2002), dans les tissus comme le foie, les reins, les poumons et également les os. Les différents dommages cellulaires suite à une exposition chronique s'expliquent par le fait que seulement une très faible proportion de cadmium est excrétée de l'organisme (< 10%) principalement dans l'urine et les selles (Jarup, 2002). Outre les conditions d'exposition au métal, une carence ou un faible apport en fer, zinc, et calcium favorise l'accumulation du cadmium dans le duodénum (Reeves et Chaney, 2004) pouvant entraîner des inflammations du poumon, des problèmes rénaux et l'anémie. Le taux élevé de β2-microglobuline dans l'urine est un indicateur précoce de dysfonctionnement rénal lors d'une contamination au cadmium mais reste non spécifique. Cependant, la détermination de la concentration de cadmium dans le sang et l'urine reste la meilleure option pour l'évaluation de la contamination au cadmium. Le cadmium a été désigné par l'IARC comme un cancérigène de catégorie 1 par inhalation.

5.4.1- Effet sur la fonction respiratoire

Selon les conditions d'exposition au métal, 5% du cadmium ingéré est absorbé par le tractus gastro-intestinal sous forme de sel, tandis que 90% du cadmium inhalé est absorbé par

voie pulmonaire ((Jarup, 2002). Le métal inhalé se répartit entre le tractus gastro-intestinal par action mucociliaire et les alvéoles pulmonaires (Satarug et Moore, 2004). Une exposition aiguë cause la fièvre, le rhumatisme, des atteintes pulmonaires par inhalation.

I.5.2- Effet rénal du cadmiun

Suite à une unique injection ou prise orale de cadmium, une forte accumulation a lieu dans le foie et très faiblement dans les reins de souris, tandis que la distribution du métal évolue dans le temps pour se concentrer dans le cortex rénal (Swiergosz-Kowalewska, 2001). La toxicité du Cd lié à la métallothionéine (MT) serait moins importante que celle du Cd non lié. En effet, des études menées sur des souris n'exprimant pas la MT ont démontré la présence de lésions rénales nettement plus sévères que chez les souris témoins (Liu et al., 1998). La MT est donc une protéine intracellulaire qui a un rôle double lors d'intoxications chroniques au Cd. Elle diminue généralement la toxicité du Cd et d'autres métaux en liant les cations métalliques électrophiles qui autrement interagiraient avec des molécules cibles par des attaques nucléophiliques. Par ailleurs, le Cd lié à la métallothionéine (Cd-MT) dans la circulation sanguine est filtré au niveau des glomérules et réabsorbé dans les tubules proximaux. Au niveau des cellules tubulaires, la MT est dégradée par les lysosomes et le Cd est libéré (Squibb et al., 1984). La production de MT dans les cellules tubulaires est stimulée par le Cd présent dans le cortex rénal jusqu'à un certain seuil (supérieurs à 200 µg/g), où la synthèse de MT ne suffit plus et les niveaux de Cd non lié sont suffisamment hauts pour causer des dommages tubulaires (Staessens et al., 1984).

5.4.3- Effet sur la fonction cardiaque

Chez le rat, une augmentation significative du poids du cœur a été observée par Kutzman et al., (1986), suite à une exposition par inhalation à 1,06 mg Cd/m³ de CdCl₂ pendant 62 jours, 5 jours par semaine à raison de 6 heures par jour. Le poids corporel de ces rats était aussi significativement réduit suite à cette exposition (Tableau I).

5.4.4- Effet sur Le système nerveux

Des études chez l'humain menées par Klaassen, (2001) montrent une corrélation entre un comportement anormal et/ou une diminution de l'intelligence chez les enfants et les adultes exposés au Cd (Tableau I). En effet, la barrière hémato-encéphalique et les cellules épithéliales possédant des jonctions serrées limitent l'entrée du Cd au niveau du système nerveux central. Il se pourrait Toute fois que le Cd comme le Hg puisse pénétrer la barrière hématoencéphalique par mimétisme moléculaire

Tableau 1: Impact du cadmium sur les organes

METAL	CIBLE	PATHOLOGIE	REFERENCES
	REINS	Dommages tubulaires, dysfonction rénale	Staessens et al., 1984
CADMIUM	CŒUR	Augmentation significative du poids du cœur	Kutzman et al.1986
	Système nerveux	Diminution de l'intelligence chez les enfants et les adultes exposés (étude à vérifier)	Klassen, 2001
	FOIE	Augmentation du poids foie chez les rats par inhalation	Kutzman et al.1986
	TESTICULES	Diminution de la fertilité chez les animaux mâles, effets foetotoxiques et tératogènes chez le rongeur, chez les fumeurs, réduction de la qualité du sperme	Wu et al ., 2008
	RATE	Atrophie,immunodéficiences des splenocytes	Li., et al., 2010

5.4.5- Génotoxicité du cadmium

Plusieurs études ont montré que le Cd ne peut se lier à l'ADN que dans des expériences in vitro. Dans ces conditions, le Cd a une affinité beaucoup plus grande pour d'autres molécules comme les métallothionéines (Goering et al., 1993; Klaassen et al., 1999; Waalkes, 2003). L'exposition au Cd a été associée aux cancers de poumons, de la prostate, du pancréas, du foie et des reins (Verougstraete et al., 2002; Waisberg et al., 2003; Nawrot et al., 2006). Il a été classé comme cancérigène de type I par l'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer (IARC). Les mécanismes de cancérisation sont principalement indirects. Les ERO générés par le Cd interviennent non seulement dans toutes les phases du développement d'un cancer mais aussi dans l'induction de certains proto-oncogènes. Une exposition environnementale à long terme au Cd peut s'avérer dangereuse chez les humains

(Achanza et al., 2001). Dans des études in-vitro, il a été démontré que le Cd peut se lier à l'ADN et induire de nombreux changements biochimiques, y compris l'expression génique aberrante et la transduction du signal (Luevano & Damodaran., 2014). Cependant, cette hypothèse reste à vérifier quant à la cancérogénicité effective du cadmium. D'autres études complémentaires in vivo utilisant de faibles concentrations de Cd, qui imite l'exposition humaine chronique, sont garantis pour un éclairage supplémentaire sur l'effet du Cd comme cancérogène. La rate est le site des réponses immunitaires innées, mais l'impact du cadmium sur ce type d'immunité a été moins exploré (Jelena et al., 2014). Les effets différentiels de Cd sur les activités immunitaires de cellules de la rate pourraient contribuer à notre compréhension de la complexité des effets toxiques de ce métal (Jelena et al., 2014). C'est un immuno-toxique puissant, il affecte les immunocytes à la fois chez les humains et chez les rongeurs (Li et al., 2010). L'immunosuppression par exposition aux métaux lourds ainsi peut être un biomarqueur pour prévoir le risque de carcinogénèse provoqué par les métaux cancérogènes eux-mêmes ou l'agent cancérogène additionnel selon Sandrita et al., (2003). Des données montrant que 1 mg/kg de Cd exerce des effets pro-inflammatoires et immunosuppresseurs sur les deux types de réponses immunitaires (Jelena et al., 2014). Les propriétés immunosuppressives de cadmium ont été démontrées in vivo et in vitro sur l'homme et les rongeurs (Li et al., 2010). Ces effets immunosuppresseurs se produisent à des doses relativement faibles de cadmium, ce qui indique que le système immunitaire est très vulnérable aux effets toxiques du cadmium (Blakley, 1985). L'effets de Cd in vivo ou in vitro peut être attribuable à différents dosages ou à la durée d'exposition (Jelena et al., 2014). L'exposition in vitro fournit des informations utiles pour suggérer quelles populations cellulaires ou fonctions cellulaires doivent être examinées dans des conditions d'exposition in vivo (Blakley, 1985). L'exposition de cellules de rate de souris in vitro au cadmium affecté les lymphocytes et les macrophages spléniques (Jelena et al., 2014). In vitro l'apoptose des splénocytes a été observée chez les souris. Egalement, une suppression de la réponses des cellules T a été constatée (Jelena et al., 2014). Les réponses des lymphocytes T spléniques ont été affectées différemment par l'administration du Cd in vivo. Ce qui a entraîné une diminution de la prolifération des cellules T (Jelena et al., 2014). De nombreuses études sont similaires aux résultats obtenus à savoir que l'exposition au Cd induit la mort apoptotique et nécrotique (Li et al., 2010). Les effets Apoptogènes de Cd in vivo, sont considérés comme étant responsables de la réduction de la prolifération cellulaire splénique. L'apoptose entraîne les dommages de l'ADN et a été observés dans les lymphocytes spléniques de poulet traitées avec Cd (Li et al., 2010). Le cadmium entraîne donc la mort cellulaire par apoptose (Son et

al., 2010). Ainsi, sur la base des preuves expérimentales principalement à partir de modèles animaux *in vivo*, le Cd est capable de provoquer des dommages à la fois sur la réponse immunitaire humorale et cellulaire (Li et al., 2010). Par exemple, chez les poulets, le Cadmium provoque la suppression immunitaire, la suppression des réponses immunitaires à médiation cellulaire et humorale et entraîne une atrophie de la rate (Li et al., 2010). Le mécanisme de l'atrophie splénique est inconnue, mais dans la maladie inflammatoire de l'intestin, une atrophie splénique peut également se produire (Trewby et al., 1981). Toutefois, lors de l'exposition des rats au cadmium, aucune hématurie n'a été observée. Aussi, le cadmium entraîne-t-il la production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, et perturbe les systèmes antioxydants. Ce mécanisme est à la base de l'immuno-toxicité du cadmium (Li et al., 2010).

5.4.6- Effet moléculaire du cadmium

Le Cd n'est pas un élément essentiel. En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du Calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus. Il agit par mimétisme de métaux physiologiques ou d'autres molécules afin de traverser les membranes cellulaires. Le rayon du Cd^{2+} ($\text{Ca}^{2+} = 0,97 \text{ \AA}$ et $\text{Cd}^{2+} = 0,99 \text{ \AA}$) et sa configuration électronique ressemblent beaucoup à ceux du Ca^{2+} (Loubna., 2009). D'où une compétition où le cadmium inhibe la réabsorption de calcium éventuellement en bloquant un canal calcique situé dans le tubule distal, et cela conduit à une hypercalcinurie ainsi qu'à la formation de caillots (Barbier et al., 2004). En plus, les dommages rénaux engendrés par le cadmium provoquent une diminution de la métabolisation de la vitamine D et, ainsi, une diminution de l'absorption intestinale de calcium. Le cadmium est un métal qui n'a aucun rôle biologique connu à ce jour. Aussi, le cadmium a-t-il sa structure électronique $[\text{Kr}] 5s^2 4d^{10}$ comparable à celle du zinc $[\text{Ar}] 4s^2 3d^{10}$. Ils sont dans la même colonne du tableau périodique. Néanmoins, l'homéostasie du zinc peut-être perturbée par celui-ci. Cependant, le Zinc joue un rôle protecteur contre le cadmium. En effet, le Zinc induit la production de protéines protectrices comme les métallothionéines et les glutathion qui ont pour rôle de piéger le cadmium en vue de faciliter son élimination. Par ce mécanisme, le Zinc prévient les intoxication au Cadmium en inhibant l'apoptose (Jacquillet et al., 2006). Le taux d'absorption du cadmium chez l'humain est de 5% (WHO 1989). Ce taux varie entre 20 et 30% selon les individus (Satarug et al., 2004) et est facilité par les protéines transporteur de métaux Nramp2 tout comme le DMT1 (Tallkvist et al., 2001) surtout chez les personnes

ayant une déficience en Fer (Zoller et al., 2001). Le premier signe de lésions rénales est une augmentation de la protéinurie tubulaire, caractérisée par l'excrétion urinaire de certaines protéines de faible masse moléculaire, dont la β 2-microglobuline, l' α 1-microglobuline et la Nacetylglucosaminidase (Rousselet, 2007; Jarup, 2002). Ces protéines sont normalement filtrées par le glomérule et réabsorbées dans les tubules proximaux. Leur excrétion dans l'urine indique donc des lésions de ces tubules. L'induction de la protéinurie tubulaire par le cadmium traduit son impact cellulaire et évolue vers des dommages glomérulaires caractérisés aussi par l'excrétion urinaire de protéines de masse moléculaire élevée, comme l'albumine, ainsi que le glucose, le phosphate, le calcium et l'acide urique (Figure 14)

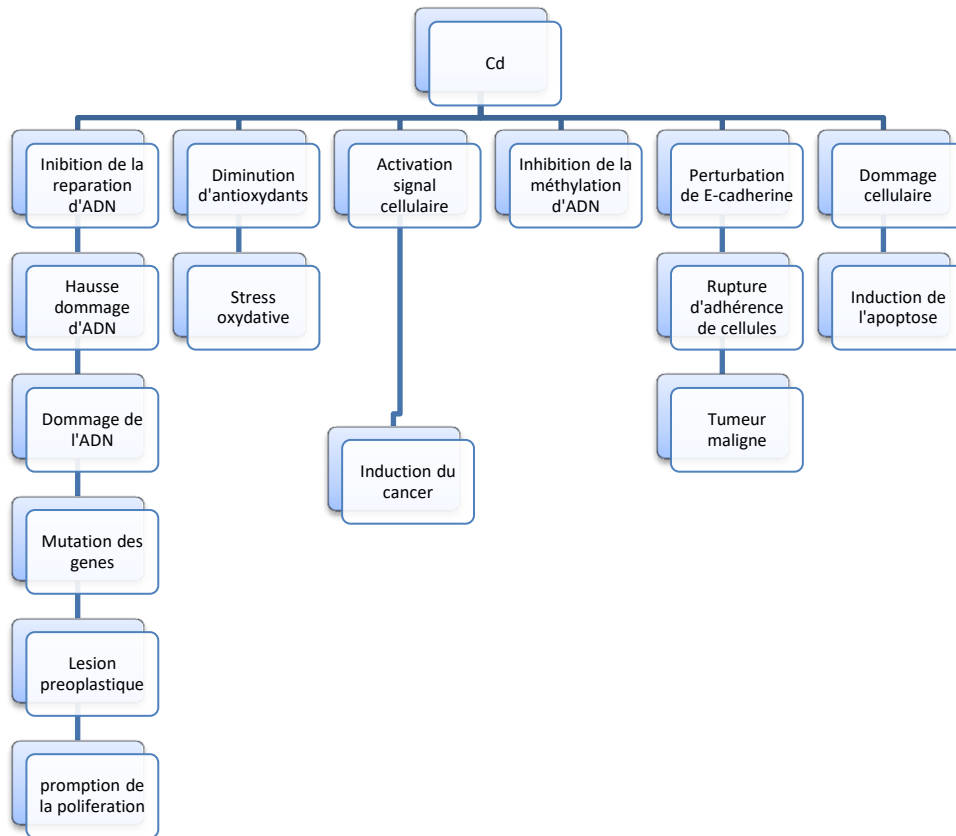


Figure 14: Schéma général des conséquences biologiques d’une intoxication cellulaire au cadmium. Proposé par Bertin, G et Averbeck, D

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes II.

II.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par les parties aériennes de figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Les cladodes d'*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) ont été prélevés d'un champ situé à Djabarat, commune rurale de wilaya de Saida de (Algérie) durant la saison hivernale (Décembre 2018/2019).

Ces échantillons ont été placés dans des sacs en plastique et immédiatement placés dans une glacière. Ramenés au laboratoire, ces échantillons ont ensuite été rincés et séchés avec du papier buvard et mis au réfrigérateur jusqu'à utilisation. Une quantité de 200 g de segment frais des spécimens de cladode de figue de barbarie a été lavée à l'eau potable, puis nettoyée avec une solution d'hypochlorite de sodium à 10% et avec de l'eau distillée, puis nettoyée avec une solution d'hypochlorite de sodium à 10% et avec de l'eau distillée. L'échantillon a été coupé en morceaux minuscules et séché dans un four à une température de 50°C pendant 72 heures, puis broyé à l'aide d'un broyeur (Fig15).



Figure15: Etapes de l'obtention de poudre des cladodes d'*Opuntia ficus indica* , (a): découpage, séchage b) broyage c)

Les différents échantillons ont été macérés séparément, sous agitation, dans quatre solvants différents : 100 % éthanol, 100 % méthanol, eau distillée et dans une solution hydroalcoolique (éthanol-eau ; v/v) à 10 g de type matière sèche avec 100 ml de chaque solvant (10e g/100 ml). Après 48 heures Fig2, les macérats ont été filtrés avec un tamis de

0,75 mm Les homogénats obtenus ont ensuite été centrifugés à 12 000 g pendant 20 min à une température de 4°C. Les surnageant des extraits obtenus ultérieurement ont été évaporés à une température de 40°C en utilisant un évaporateur rotatif pour éliminer l'éthanol et le méthanol. Les extraits ainsi obtenus ont été conservés à -4°C jusqu'à utilisation jusqu'à utilisation Fig2

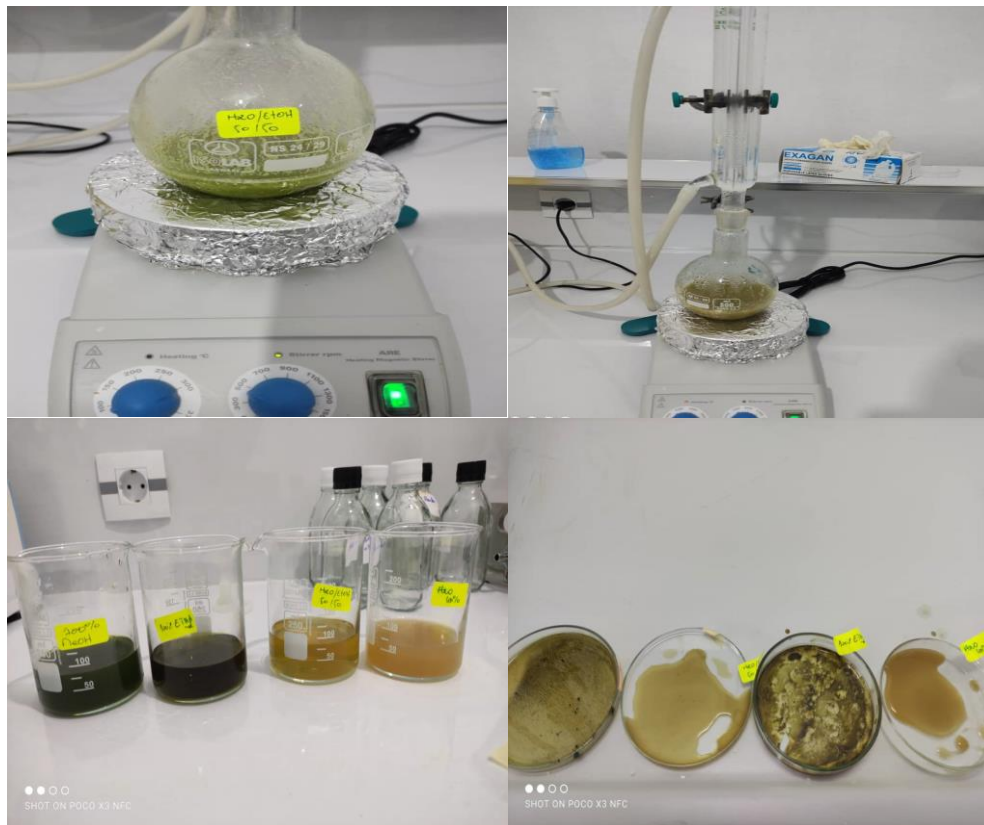


Figure 1 Etapes de l'extraction par macération partir des cladodes

Fig16: Etapes de l'extraction par macération partir des cladodes d'*OFI*,

II.2.1. Détermination des polyphénols

La quantité de contenu phénolique total d'extrait aqueux de cladodes d'*opuntia ficus indica* a été déterminée par la méthode Folin – Ciocalteu (Singleton et al., 1999). En bref, Un volume de 0.5 ml de chaque extrait a été mélangé avec 0.5 mL de réactif Folin-Ciocalteu, 5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de Na₂CO₃ à 10%. L'absorbance a été mesurée à 760 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible après 1 h d'incubation à température

ambiante. L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence et la teneur totale en composés phénoliques a été exprimée en équivalents d'acide gallique en mg par g de matières végétales.

II.2.2. Détermination des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux d'extrait a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Woisky et Salatino, 1998). Une quantité de 1 ml de chaque extrait a été mélangée avec 1 ml de chlorure d'aluminium à 2 %. Après l'incubation à température ambiante pendant 10 min, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible. La quercétine a été choisie comme standard et les niveaux de teneur totale en flavonoïdes ont été déterminés en triple et exprimés en équivalents de quercétine en mg par g de matières végétales.

II.2.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante par réduction de DPPH•

Le DPPH• est un radical libre stable qui possède une couleur violet foncé et une forte absorption autour de 517 nm Fig3. Les composés antioxydants présents dans le milieu convertissent le radical DPPH• en un produit moléculaire DPPH• plus stable en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Le changement de couleur du violet du radical DPPH• au jaune pâle de forme réduite de DPPH• permet la détermination spectrophotométrique de l'activité antioxydante (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995). L'évaluation de l'effet antioxydant d'extraits aqueux d'*Opuntia ficus indica*, est réalisée par la technique de réduction du radical libre du DPPH (2,2, diphényl-1-picrylhydrazyle) suivant la méthode préconisée par Arnous et al. (2002), où un volume de 50 µl de l'extrait aqueux testé à différentes concentrations (0.5, 1, 5 et 10 µg/ml) est mélangé avec 1.95 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.025 g/l). Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 515 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les essais ont été effectués en triple. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'activité antioxydante, en utilisant la formule suivante : % d'activité antioxydante = [(Abs control – Abs extrait)/Abs control *100] Abs est l'absorbance à la longueur d'onde de 515

nm.

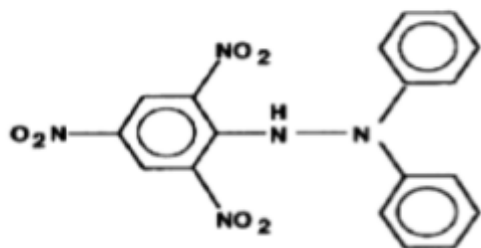


Figure 17 : Structure chimique du non radical DPPHH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine).

II.2.3.2 Piégeage des radicaux libres par le test FRAP

Le dosage du pouvoir antioxydant par la méthode FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) a été fait selon la méthode de Benzie et Strain (1996). La méthode a été initialement développée par Benzie et Strain en 1996 pour mesurer le pouvoir de réduction dans le plasma, par la suite l'essai a été adapté et utilisé pour le dosage des antioxydants botaniques. La réaction mesure la réduction du TPTZ (2,4,6 ferrique tripyridyl-s-triazine) ferreux qui se traduit par un changement de couleur Fig3

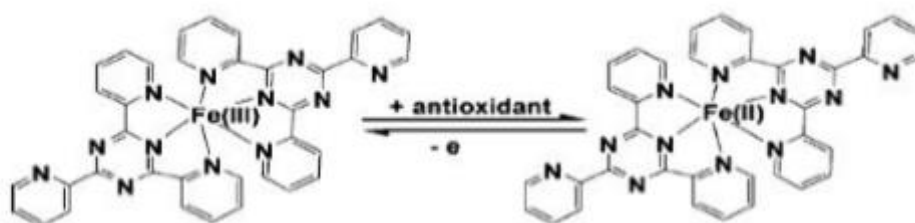


Figure 18 : Réaction FRAP entre Fe³⁺ -TPTZ et l'antioxydant.

. II.2. 4. Détermination de la composition chimique de l'extrait aqueux par HPLC/UV

Les constituants de l'extrait aqueux de cladodes d'*Opuntia ficus indica* ont été identifiés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la détection UV (Agilent 1100). La séparation a été réalisée dans un appareil d'HPLC équipé d'une colonne Agilent poroshell 120EC de 100 mm de longueur, de 2.1 mm de diamètre et de 2.7

µm d'épaisseur. La phase mobile était le solvant A (eau / TFA / acide formique (99: 0.25: 0.75)) et le solvant B (acétonitrile) selon le gradient suivant (t / min,% B): (0, 0), (1, 10), (2, 12.5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), (14, 0) avec post 5 min. Les conditions analytiques ont été posé comme suit : la température de la colonne a été maintenue à 50°C, un débit de 0.6 ml/min, et des aliquotes (10 µL) ont été directement injectées. L'absorbance a été contrôlée à 270 et 320 nm. L'échantillon a été traité dans l'extrait aqueux avec 1: 100 (v / v) de méthanol dilué. Par comparaison de leurs temps de rétention et leurs spectres UV avec différents standards phénoliques et flavonoïdes L'(acid cinapique, Acide scorbique nicotamide, l'acide Tannic , Cafein, Vanilline, Kaempherol Quercetine , Myirecetine epicatechine/catechine) et d'autres composés (acide ascorbique, menthol), les constituants d'extrait aqueux d'*Opuntia ficus indica* ont été déterminés. Des solutions mères ont été obtenues en dissolvant les étalons dans le méthanol à 1 mg/ml. Les constituants ont été quantifiés à l'aide de courbes standards exprimées en mg pour 1 g d'*Opuntia ficus indica*

II.3. Animaux d'expérimentation

Les expériences sont réalisées sur des rats. , Vingt-huit rats Wistars mâles adultes pesant 200–250 g (10–12 semaines). Les animaux ont été gardés dans des cages à fond grillagé dans une pièce dans des conditions d'éclairage standard avec un cycle lumière-obscurité de 12 h à 25 ± 1 ° C pendant une semaine jusqu'au début de traitement. Ils ont été alimentés en eau du robinet et équilibrés régime à volonté. Les animaux sont acclimatés dans l'animalerie de Département de Biologie, Faculté des sciences, l'université de Saïda.

II.3.1 Protocole expérimental

Pour étudier les effets protecteurs de l'extrait aqueux d'*Opuntia ficus indica* sur la toxicité du cadmium, des rats mâles adultes ont été répartis au hasard en quatre groupes de sept rats chacun.

Groupe I

A servi de témoin et a reçu 300 µL de solution saline par voie orale voie d'administration tous les jours pendant 7 jours.

Groupe II

A reçu une administration orale quotidienne de 200 mg d'extrait aqueux/kg de poids corporel

pendant 7 jours,

Groupe III (Cd)

A Reçu quotidiennement 300 µL de solution saline par voie orale, et après 1 heure, ils ont reçu une injection intrapéritonéale de 6,5 mg CdCl₂/kg de poids corporel (pc) pendant 7 jours.

Groupe IV (extrait aqueux + Cd)

Les animaux du ont reçu une administration de 200 mg d'extrait aqueux/kg de poids corporel 1 heure avant l'injection de cadmium et quotidiennement pendant 5 jours. Après 24 h de la dernière injection de CdCl₂,

II.4.Sacrifice

A la fin des tests neurocomportementaux, les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures puis ont été anesthésiés par l'inhalation avec de chloroforme avant d'être décapités. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes (héparines, EDTA) étiquetés. Le sang mis dans des tubes héparines a été centrifugé à 3000 tours/min pendant 15 minutes, le plasma a été récupéré dans des tubes secs pour le dosage hormonal (cortisol) et des paramètres biochimiques (glycémie, ALAT, ASAT, PAL, γ-GT, urée, créatinine), le sang mis dans des tubes contenant l'anticoagulant EDTA a été utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques. Le culot cellulaire restant est lavé avec l'eau physiologique. Les érythrocytes sont lysés par addition d'eau distillée glacée avec une incubation de 15 min. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 tr/min pendant 5 min. Le lysat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser les paramètres du stress oxydatif au niveau des érythrocytes. Les animaux sacrifiés ont été disséqués pour le prélèvement de certains organes : foie, cœur, reins et cerveau, qui ont été lavés avec une solution saline de chlorure de sodium à 0.9 % et pesés, puis une partie des organes a été fixée dans le formol à 10 % pour réaliser l'étude histologique et le reste a été stocké au congélateur à -80 °C pour le dosage des paramètres du stress oxydatif et les marqueurs d'inflammation. Le péritoine a été rincé dans le PBS (10 mM PO₄³⁻/300 mM NaCl, pH 7.4).

II.5. Préparation de la matrice mitochondriale

La préparation de la matrice mitochondriale se fait selon la méthode décrite par Rustin et al. (1994). Après prélèvement, une partie des organes récupérés (foie, reins, cœur) a été rapidement placée dans un tampon glacé d'isolation des mitochondries (10 mM tris-HCl, pH 7.4, 250 mM Sucrose, 0.5 mM EDTA et 0.5% bovine serum albumin (BSA)). La préparation est ensuite homogénéisée, l'homogénat récupéré est centrifugé à 10000 rpm pendant 10 min

à 4°C. Le culot mitochondriale a été lavé deux fois avec le tampon d'isolation et remis en suspension dans le même tampon. La suspension mitochondriale est congelé-décongelé de 6 à 8 fois avec homogénéisation répétée, afin d'éclater les mitochondries. Après centrifugation de 10 min à 10000 rpm, le surnageant est utilisé pour déterminer les paramètres du stress oxydatif.

II.6. Dosage des paramètres biochimiques

II.6.1. Glycémie

Le glucose sanguin est estimé en utilisant le kit BIOLABO. Le glucose est oxydé par le glucose oxydase en acide gluconique et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui réagit en présence de peroxydase avec le chloro-4-phénol et le 4-amino-antipyrine pour former une quinonéimine rouge. L'absorbance du complexe coloré, proportionnelle à la concentration en glucose dans l'échantillon est mesurée à 500 nm.

II.6.2. Urée

L'urée sanguine est dosée en cinétique selon le Kit BIOLABO. L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase pour produire de l'ammoniac (NH₃) et du dioxyde de carbone (CO₂). L'ammoniac produit dans la première réaction associé à l'oxoglutarate et au NADH en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) forme du glutamate et du NAD⁺.
Urée + H₂O → 2 NH₃ + CO₂
Oxoglutarate + NH₃ + NADH + H⁺ → Glutamate + NAD⁺ + H₂O
La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon. PAL
γ-GT Uréase GLDH

II.6.3 Créatinine

La méthode utilisée pour la détermination de la créatininémie repose sur la réaction de Jaffe (1886), en utilisant le kit BIOLABO. Le principe général de cette méthode consiste à mesurer, à 490 nm, l'intensité de la coloration du complexe coloré formé par la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin. La vitesse de formation de la coloration étant proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.

II.6.4. Aspartate-aminotransférase (ASAT)

L'activité enzymatique d'aspartate aminotransférase (ASAT/ GOT) a été mesurée selon le Kit BIOLABO. L'aspartate aminotransférase catalyse le transfert du groupement amine de l'aspartate à l'oxoglutarate avec formation du glutamate et de l'oxaloacétate. Ce dernier est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) en présence du nicotinamide adénine di nucléotide (NADH) réduite. La réaction mesurée cinétiquement à 340 nm par la diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de la NADH en NAD⁺ est proportionnelle à l'activité enzymatique d'ASAT présente dans l'échantillon.

$$2\text{-oxoglutarate} + \text{L-Aspartate} \rightarrow \text{L-Glutamate} + \text{Oxaloacétate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{L-Malate} + \text{NAD}^+$$

II.6.5. Alanine aminotransférase (ALAT)

La détermination cinétique de l'activité alanine aminotransférase (ALAT/ GPT) a été réalisée en utilisant le kit BIOLABO. L'alanine aminotransférase catalyse le transfert du groupement amine de l'Alanine à l'oxoglutarate avec formation du glutamate et du pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) en présence du nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH). La réaction mesurée cinétiquement à 340 nm par la diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de la NADH en NAD⁺ est proportionnelle à l'activité enzymatique d'ALAT présente dans l'échantillon.

$$2\text{-oxoglutarate} + \text{L-Alanine} \rightarrow \text{L-Glutamate} + \text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{L-Lactate} + \text{NAD}^+$$

II.6.6. Phosphatase alcaline (PAL)

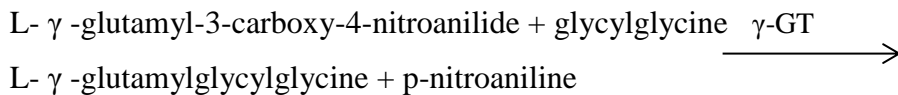
Le dosage de phosphatase alcaline (PAL) a été réalisé selon le Kit BIOLABO. En milieu alcalin, La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophenyl phosphate produisant le p-nitrophenol et le phosphate. La vitesse d'apparition du p-nitrophenol, proportionnelle à l'activité PAL est mesurée à 405 nm



II.6.7. Gamma glutamyl transférase (γ-GT)

Le dosage de gamma-glutamyl transférase (γ-GT) a été réalisé selon le Kit BIOLABO. Le substrat L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide, en présence de glycylglycine, est converti par la γ-GT de l'échantillon, en L-γ-glutamylglycylglycine et p-nitroaniline. La vitesse de formation du p-nitroaniline, directement proportionnelle à l'activité γ-GT dans le plasma, est

mesurée à 405 nm. Le schéma réactionnel est le suivant :



II.7. Histologie

L'analyse histologique des organes prélevés a été réalisée selon La technique décrite par Drury et Wallington (1980) qui comporte les étapes suivantes : - La fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment biopsique à plusieurs semaines pour un cerveau humain entier). Les échantillons de notre étude sont introduits dans le formol à 10%. - L'inclusion a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse. Dans certains cas, on utilise d'autres milieux d'inclusion (celloïdine, résines plastiques, etc.).

Les coupes du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 μm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre. - Les colorations réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans l'eau distillée. Les colorations de routine utilisent deux colorants différents : l'Hématoxyline Eosine (HE) associe l'hématoxyline qui colore les noyaux en violet et l'éosine les cytoplasmes en rose. - Le montage : Après avoir subi une déshydratation (par bains d'alcool de degré croissant puis bains de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine

synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une « préparation microscopique » (simplement appelée « lame » dans le langage courant) prête à être observée au microscope optique.

II.8. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (S.E.M). La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test t de Student. La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (CP, T) et/ou le facteur traitement (EEA, Solvant) suivie éventuellement du test Post-Hoc Student-Newman-Keuls. Les ANOVA à mesures répétées ont été utilisées pour l'analyse du facteur temps. Une probabilité $p < 0,05$ est considérée significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SigmaStat (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).



Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Teneur totale en phénols (TP) et teneur totale en flavonoïdes (TF)

Les composés polyphénoliques font partie d'un groupe de métabolites secondaires à haute capacité antioxydante et sont naturellement présents dans la plupart des plantes comestibles et non comestibles. Les TP des quatre extraits *d'Opuntia ficus indica* sont présentés dans Tab1

Echantillons	Extrait méthalonique	Extrait aqueux	Extrait éthanoli 100 %	Extrait Ehanolique 50%
[] $\mu\text{g EC /mg E}$	3,55	10,75	1,80	3,51

Tableau 2 :

Résultat en polyphénols totaux chez *Opuntia ficus indica*

Les valeurs de TP les plus élevées et les plus basses ont été obtenues dans l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique 10,75 $\mu\text{g EC /mg E}$, 1,80 $\mu\text{g EC /mg E}$ respectivement, 3,55 $\mu\text{g EC /mg E}$ dans l'extrait méthalonique et 3,51 $\mu\text{g EC /mg E}$ dans l'extrait hydroéthanolique. En fait, la plus grande valeur de TP a été observée dans l'extrait aqueux.

En fait, nos résultats indiquent que la grande majorité des polyphénols sont solubles dans l'eau. Pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il faut donc utiliser des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau comme par ex. Extrait éthanolique 50% (v/v). L'addition d'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols. Cette augmentation peut être due à l'affaiblissement des liaisons hydrogène dans les solutions aqueuses. Cela pourrait également être dû à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions. La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupes hydroxyle, du poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonée dans le squelette de base. Les résultats que nous avons obtenus sont inférieurs à ceux de BOUTAKIOUT, A et al., (2015). Et proches de celles trouvées par BENATTIA F., et al., (20017).

Les flavonoïdes ont émergé comme une classe importante de métabolites secondaires qui ont un large éventail d'activités biologiques. Antioxydant, anti-mutagène, anti-cancérogène, anti-prolifératif et anti-inflammatoire pour n'en nommer que quelques-uns. La valeur la plus élevée de FT a été observée dans l'extrait méthanolique 7,99 $\mu\text{g EC /mg E}$ sur la figure 1 et a

diminué dans l'ordre de l'extrait aqueux 7, 52 $\mu\text{g EC /mg E}$, 1, 32 $\mu\text{g EC /mg E}$ d'extrait éthanolique et enfin $\mu\text{g EC /mg E}$ dans l'extrait hydroéthanolique Tab2.

La teneur en flavonoïdes dans la pulpe d'épineux a été signalée comme étant de $0,98 \pm 3,0$ mg/100 g (Kuti, 2004). . Dans le jus de raisin, réputé le plus riche en flavonoïdes, sa teneur atteint 7,24 mg/100 mL (Dos santos lima et al., 2014). Par conséquent, nos extraits aqueux et hydroéthanoliques de cladode contiennent une plus grande quantité de flavonoïdes.

Echantillons	Extrait methalonique	Extrait aqueux	Extrait ethanoli 100 %	Extrait Ehanolique 50%
[] $\mu\text{g EC /mg E}$	7.99	7,52	1,32	1,31

Tableau 3 :

Résultat des flavonoïdes totaux chez *Opuntia ficus indica*.

3.2.1. Test DPPH et FRAP

L'activité antioxydante de certains aliments est basée sur le contenu d'une combinaison d'antioxydants avec différents moyens d'action, c'est pourquoi il est essentiel de combiner différentes méthodes pour déterminer la capacité antioxydante in vitro. Le tableau 3 montre l'effet de piégeage de l'extrait aqueux d'*Opuntia ficus indica* sur les radicaux libres DPPH et FRAPS. L'IC50 a été utilisée pour comparer l'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux. La valeur IC50 montre que la valeur IC50 ($0,187 \pm 0,024$ mg/mL) et ($187 \pm 24,3$ $\mu\text{g/ml}$) présente l'activité antiradicalaire la plus élevée contre le radical libre DPPH. Cette valeur était significativement plus élevée ($p < 0,05$). Dans le cas du test de capacité de réduction ferrique (FRAP), la valeur EC50 variait significativement ($p < 0,05$) et était de $0,75 \pm 0,0021$ mg/ml et $750 \pm 2,1$ $\mu\text{g/mL}$. Nous notons que le test FRAP comparé au test DPPH a donné des résultats plus intéressants dans cette étude suggérant que les antioxydants présents dans cet extrait exercent une forte activité antioxydante plutôt que piégeante. Une faible activité de piégeage similaire de l'extrait aqueux d'*Opuntia ficus indica* a été rapportée par BOUTAKIOUT, Let al. (2015) en raison de la présence en grande quantité de composés pour

lesquels aucune activité antioxydante puissante n'a été établie dans la littérature (Fig 5a,5b)

L'analyse FRAP est basée sur l'hypothèse suivante : les réactions s'effectuent si rapidement qu'elles sont terminées entre 4 à 6 minutes, mais ceci n'est pas toujours vrai. Les résultats du test FRAP peuvent varier énormément en fonction du temps. Les phénols ont une réaction rapide en se liant au fer ou se décomposent en composés ayant une réactivité inférieure, par conséquent, ils ont un temps de réaction court (4min). Toutefois, certains polyphénols réagissent plus lentement et nécessitent de plus longues durées de réaction, par exemple, 30 min. L'ordre de réactivité d'une série d'antioxydants peut varier considérablement et même s'inverser, selon le temps d'analyse (Pulido et al., 2000). Il a été montré que le dosage des polyphénols alimentaires avec le test FRAP se fait sur des extraits de méthanol et d'eau. L'absorption augmente lentement pour les polyphénols tels que l'acide caféique, l'acide tannique, l'acide férulique, l'acide ascorbique et la 133 quercétine, allant jusqu'à plusieurs heures de temps de réaction. Ainsi, la détermination du temps de fin de réaction en un seul point peut ne pas représenter une réaction terminée. Le test FRAP mesure en fait seulement la capacité de la réduction de l'ion ferrique, qui n'est pas en rapport avec l'activité antioxydante ou antiradicalaire de façon mécanique et physiologique (Pulido et al., 2000).

L'activité antioxydante des acides phénoliques et leurs esters dépend du nombre de groupes hydroxyles dans la molécule qui serait renforcée par encombrement stérique (Rodrigues-Felix et al., 1988). Les propriétés chimiques des polyphénols en terme de disponibilité des hydrogènes phénoliques comme donneurs d'hydrogènes et piègeurs de radicaux prédisent leur activité antioxydante (Renaud et al., 1992)

Pour qu'un polyphénol soit défini comme un antioxydant, il doit satisfaire deux conditions fondamentales, d'une part, lorsqu'il est présent en faible concentration par rapport au substrat à oxyder, il peut retarder ou prévenir l'auto-oxydation ou l'oxydation du radicalaire libre, d'autre part, le radical résultant formé après oxydation doit être stable par liaison hydrogène intramoléculaire (Halliwell, 1990). Il a été reporté que les flavan-3-ols sont des antioxydants très puissants (Wang et al., 2000). Les flavonols (par exemple, la quercétine) et les acides hydroxycinnamiques (par exemple, l'acide caféique et l'acide férulique) sont plus puissants que l'acide ascorbique (vitamine C) comme inhibiteur de l'oxydation forcée de l'acide linoléique en présence du radical libre AAPH (2,2'-azobis-2- methyl-propanimidamide, dihydrochloride) (fig.49) (Counet et al., 2003).

Une étude récente a montré que le jus de citron a une activité antioxydante plus basse que le jus de cladode: DPPH ($0,26 \pm 0,09 \mu\text{mol TE/ mL}$), FRAP ($0,32 \pm 0,08 \mu\text{mol TE/ mL}$), ABTS ($14,46 \pm 0,30 \mu\text{mol TE/ mL}$) (Barreca et al., 2011). Pour le jus de grenade, la valeur la

plus grande avec le test ABTS qui a été enregistrée avec le jus de cladode de l'espèce épineuse du mois d'août ($23,10 \pm 0,17 \mu\text{mol ET/ mL}$) coïncide plus au moins avec son activité antioxydante ($23,78 \pm 4,88 \mu\text{mol ET/ mL}$) (Vegara et al., 2014). Avec le test FRAP le jus de grenade donne de plus grands résultats ($13,04 \pm 2,03 \mu\text{mol ET/ mL}$) comparant à notre jus de cladode (Vegara et al., 2014). Il a été reporté que la teneur des métabolites primaires et secondaires est fortement influencée par le stress de la plante quand elle exposée aux conditions de sécheresse sévère pour les feuilles de raisin. La teneur de la majorité des métabolites (environ 60% des métabolites primaires et environ 85% des polyphénols) a augmenté lors de la sécheresse et cela est dû au stress. Parmi les métabolites primaires, on cite l'acide citrique et l'acide glycérique qui ont été fortement influencés par un traitement de stress face à une sécheresse courte et prolongée, alors que les polyphénols ont été influencés par un traitement de sécheresse prolongée (Griessera et al., 2015)

III.2.2. Résultats de l'analyse chromatographique par HPLC

Opuntia ficus-indica est une plante médicinale active et un remède naturel du fait de son remarquable polymorphisme chimique, l'extrait analysé par HPLC est l'extrait aqueux qui représente une quantification significative des composés phénoliques détectés par l'analyse colorimétrique. La phase mobile utilisée pour l'analyse quantitative de nos extraits est un mélange de solvants. Dans l'analyse HPLC 15 composés phénoliques purs ont été utilisés comme étalons, dont leurs temps de rétention (Tr) sont donnés dans le tableau (n°3)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	1,700	325,663	4,193	3,2	3,2	1,65	Unknown
2	2,967	9,227	0,781	0,1	0,6	0,26	acid cinapic
3	4,143	300,882	7,845	3,0	6,0	0,48	Ascorbic acid
4	4,637	271,855	7,288	2,7	5,6	0,71	Nicotamide
5	5,290	282,006	6,151	2,8	4,7	0,68	Unknown
6	7,530	104,201	2,513	1,0	1,9	0,42	Unknown
7	9,127	33,849	1,285	0,3	1,0	0,39	Unknown

8	10,847	41,501	0,557	0,4	0,4	0,66	Tannic acid
9	14,460	5,402	0,299	0,1	0,2	0,31	Cafein
10	14,930	7,314	0,311	0,1	0,2	0,43	Unknown
11	16,227	10,851	0,247	0,1	0,2	0,51	Unknown
12	18,113	789,574	15,499	7,8	11,9	0,83	Vanilline
13	20,087	4263,627	18,505	41,9	14,2	4,28	Kaempferol
14	27,900	79,126	0,860	0,8	0,7	1,63	Unknown
15	28,943	1308,478	22,579	12,9	17,4	1,12	Quercetine
16	30,007	858,068	16,778	8,4	12,9	0,91	Myirecetine
17	30,967	1486,317	24,348	14,6	18,7	0,73	epicatechine/catechine
	Total	10177,942	130,039	100,0	100,0		

Tableau 4 :

Résultat de l'analyse chromatographique HPLC d'*Opuntia ficus indica*

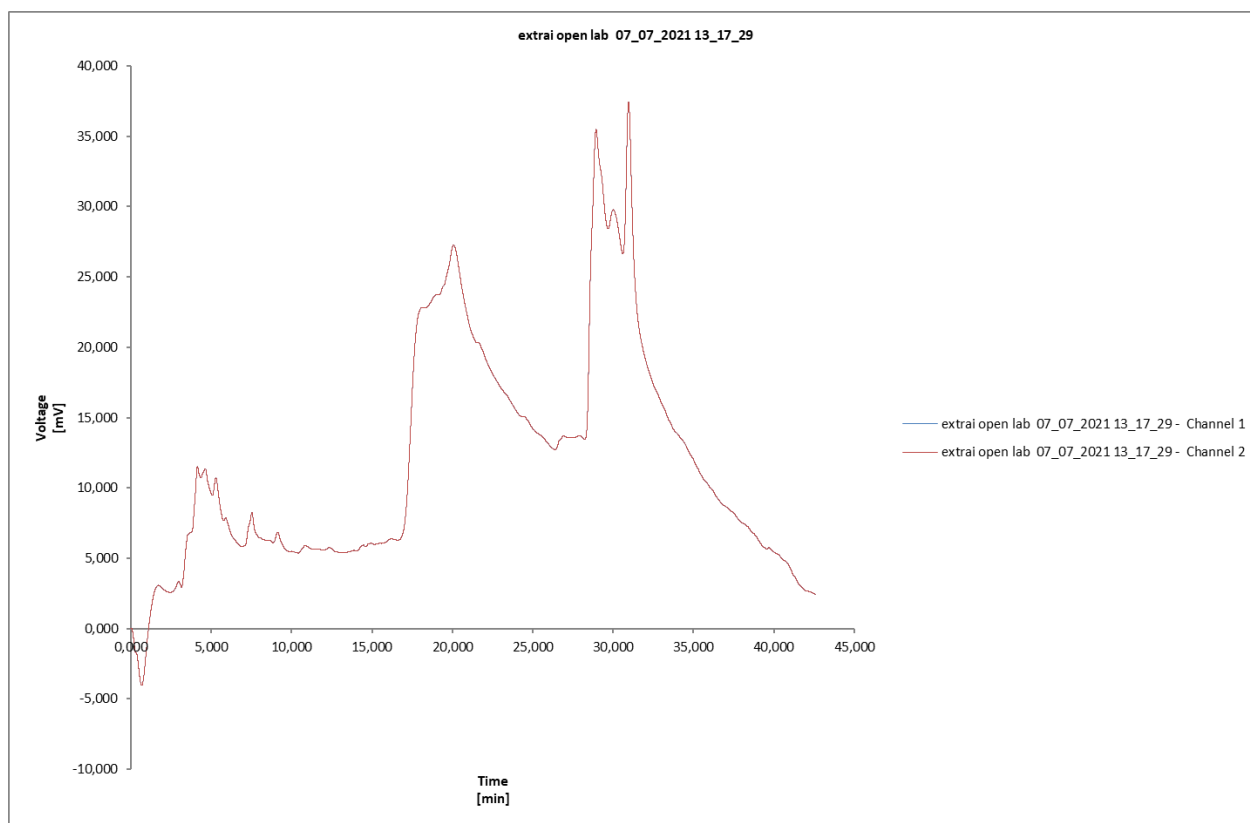


Figure 19: Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait aqueux de cladodes d'*Opuntia ficus indica* à une longueur d'onde de 270 et 320 nm

Dans le jus de cladode d'*Opuntia ficus-indica*, 14 composés ont été quantifiés et sont classés par ordre décroissant comme suit : kaempferol (41 %), épicatechine/catéchine (14,5 %), quercétine (12,9 %), myricétine (8,9 %), vaniline (7,8%), acide ascorbique (3,1%), nicotamide (2,7), acide tannique (0,4%), caféine (0,1%), acide cinaprique (0,1%),.

Des études portées sur les cladodes du figuier de Barbarie ont montré la présence de

teneurs et de composés différents: acide gallique (0,64 – 2,37 µg /g), acide coumarique (14,08 – 16,18 µg /g), 3,4-dihydroxybenzoïque (0,06 – 5,02 µg /g), 4- hydroxybenzoïque (0,5 – 4,72 µg /g), acide férulique (0,56 – 34,77 g /g), salicylicacid (0,58 – 3,54 µg /g), isoquercétine (2,29 – 39,67 µg /g), isorhamnétine3-O-glucoside (4,59 – 32,21 µg /g), nicotiflorin (2,89 – 146,5 µg /g), rutine (2,36 – 26,17 µg /g) et narcissin (14,69 – 137,1 µg /g) (El-Mostafa et al., 2014).

Dans des études récentes, de nouvelles structures ont été identifiées dans un extrait éthanolique des cladodes d'*Opuntia dillenii* extraites avec du n-butanol dans l'ordre décroissant suivant: opuntioside, isorhamnétine 3 rutinoside, opuntiol, manghaslin (quercétine 3-2G-rhamnosylrutinosid), acide p-hydroxybenzoïque, 1- heptanecanol, acide férulique, 3,4-dihydroxybenzoïque, acide vanillique, 3,3'- dimethylquercetin, acide malique, kaempférol 7-OBD-glucopyranoside, 3-Omethylquercetin 7-O-β-D-glucopyranoside, rutine (quercétine 3-rutinoside), 3,4- dihydroxybenzoïque acide éthylique, 4-éthoxy-6-hydroxyméthyl-α-pyrone, et le kaempférol 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside. Les composés opuntioside et 4-éthoxy-6-hydroxyméthyl-α-pyrone ont été signalés pour la première fois, tandis que pour l'opuntiol (2-hydroxyméthyl-4-méthoxy-α-pyrone) avait été précédemment détecté dans *Opuntia elatior* et *Opuntia polyacantha* (Qiu et al., 2003). Pour l'espèce *Opuntia megacantha* 15 composés ont été détectés et qui sont classés par ordre décroissant comme suit: isoquercétine (245,90 µg /mL), hyperoside (164,50 µg /mL), acide paracoumarique (39,72 µg /mL), d'épicatéchine gallate (34,83 µg /mL), procyanidine B2 (27,12 µg /mL), épicatechine (19,49 µg /mL), acide vanillique (14,57 µg /mL), épigallocatechine (8,05 µg / mL), rutine (6,98 µg /mL), acide ellagique (5,45 µg /mL), phloridzine (3,80 µg /mL), acide férulique (3,26 µg /mL), acide gallique (2,92 µg /mL), acide sinapique (2,36 µg /mL) et la quercétine (1,59 µg /mL).l'environnement, le type de sol et le climat pourraient illustrer ces écarts dans la teneur en phénols du jus de cladode (Boutakiout2 et al., 2015).Le jus de cladode extrait des cladodes épineux est plus riche en composés phénoliques que les cladodes sans épines.

Se référant au kaempférol comme un composé naturel essentiel présent dans de nombreuses plantes et légumes tels que le chou, le brocoli, le thé et les haricots (Holland TM et al; 2019), le kaempférol a une activité anti-myloïdogène, chélate les métaux et contrôle le stress oxydatif (Simunkova M , et al;2019) et il a également été démontré qu'il inhibe l'agrégation plaquettaire et la thrombose et qu'il a des effets intéressants sur les formes vasculaires du déclin cognitif (Choi JH, Park et al;2015). comment le kaeamphérol qui en résulte protège contre le déclin cognitif par rapport aux autres composés flavonoïdes majeurs (myricétine et quercétine) (Root M, Ravine E, Harper A; 2015) et ont montré des effets bénéfiques dans des modèles expérimentaux de la maladie d'Alzheimer (Beg

T, J yoti S et al; 2018).

De plus, plusieurs études, telles que GIOVANNA GINESTRA., et al., 2009, ont confirmé la présence de fortes concentrations de kaempférol chez *Cladodes Opuntia Ficus Indica*, tandis que les analyses par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ont principalement montré la présence de kaempferol (38,8%) et quercétine (21,1%). Une autre étude a démontré l'existence de kaempférol et de quercétine dans le fruit entier, la pulpe et la peau de 6 figues de barbarie mexicaines et espagnoles (*Opuntia ficus indica* L. Mill) acide phénolique, acide piscidique. La teneur phénolique la plus élevée a été observée dans le cultivar espagnol Morada (49 012 µg/g de peau sèche) Tomás García-Cayuela, et al; 20019).

En résumé, en raison de la richesse des extraits d'*Opuntia ficus indica* en flavonoïdes, en composés phénoliques et en activité antioxydante in vitro, ces résultats utilisant la figue de barbarie comme culture fourragère alternative peuvent être exploités, compte tenu de son intérêt et de son importance en nutrition humaine et animale. Et, en matière de nutrition, la reconversion agro-industrielle à travers les techniques de valorisation, d'extraction et d'utilisation des produits à base de ce type dans les domaines de la nutrition, de la médecine et de la cosmétique. De plus, des études sont également en cours pour évaluer les composés bioactifs inconnus d'*Opuntia ficus indica*.

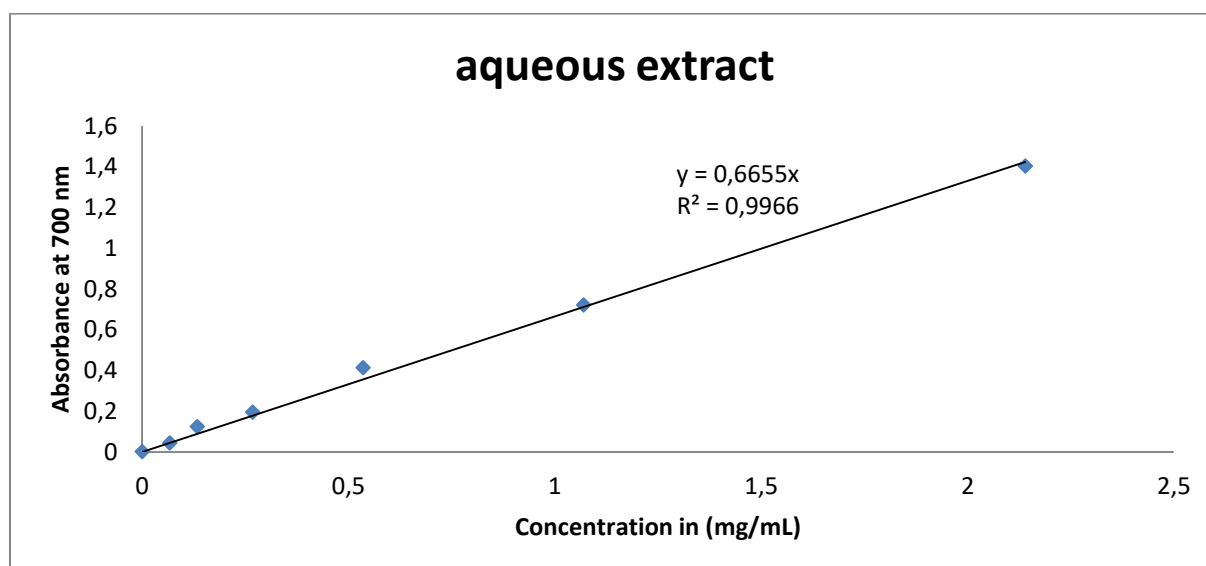


Fig20a. Activité antioxydante de l'extrait aqueux de cladodes d'*Opuntia ficus indica* par le pouvoir antioxydant de réduction ferrique (FRAP)

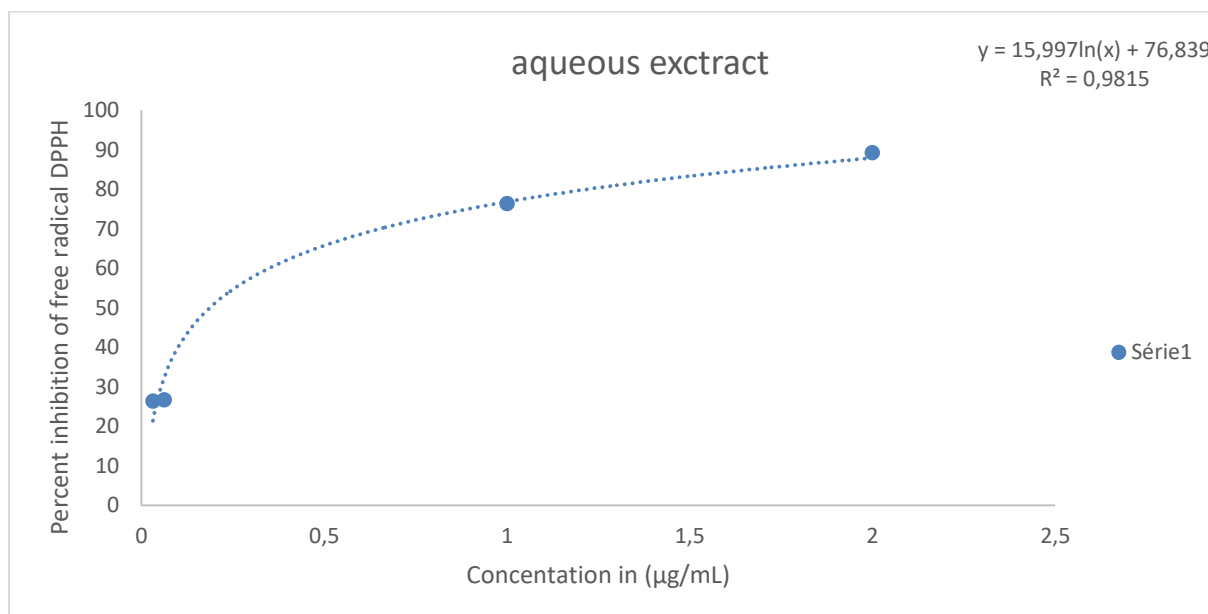


Fig20b. L'effet de la concentration sur les niveaux d'activité de piégeage de l'extrait aqueux des cladodes d'*Opuntia ficus indica* contre radical DPPH.

Extrait Aqueux *	DPPH		FRAP	
	CI ₅₀ (mg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)	CE ₅₀ (mg/mL)	CE ₅₀ (µg/mL)
	0,187±0,024	187±24,3	0,75 ± 0,0021	750 ± 2,1

Tableau5

. Calcul des CI₅₀ et CE₅₀(*CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%, *CE₅₀ : Concentration efficace à 50%, * Moyenne ± écart type)

Partie IV : Effet de l'extrait aqueux de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la toxicité induite par le cadmium

IV.1. Résultats III.1.1. Les paramètres biochimiques

IV.1.1. Glycémie

L'injection de 6,5 mg CdCl₂/kg aux rats du groupe G3 a engendré une augmentation significative ($P < 0.05$) de la glycémie (1,13g/L) en comparaison avec le groupe témoin G1 (fig. 21). En revanche, les rats qui ont reçu une dose de 200 mg/kg de l'extrait aqueux d'*OFI* G2 (T-plant) ont montré un taux de glycémie similaire aux rats témoins (G1). En outre, les rats du G4 qui ont reçu une dose de 6,5 mg CdCl₂/kg et 200 mg/kg d'extrait aqueux de cladodes de figuier de barbarie au même temps ont montré une diminution significative ($p < 0.05$) de -29.20% par rapport aux rats du groupe 3 qui ont reçu une dose de 6,5 mg CdCl₂/kg. Fig21

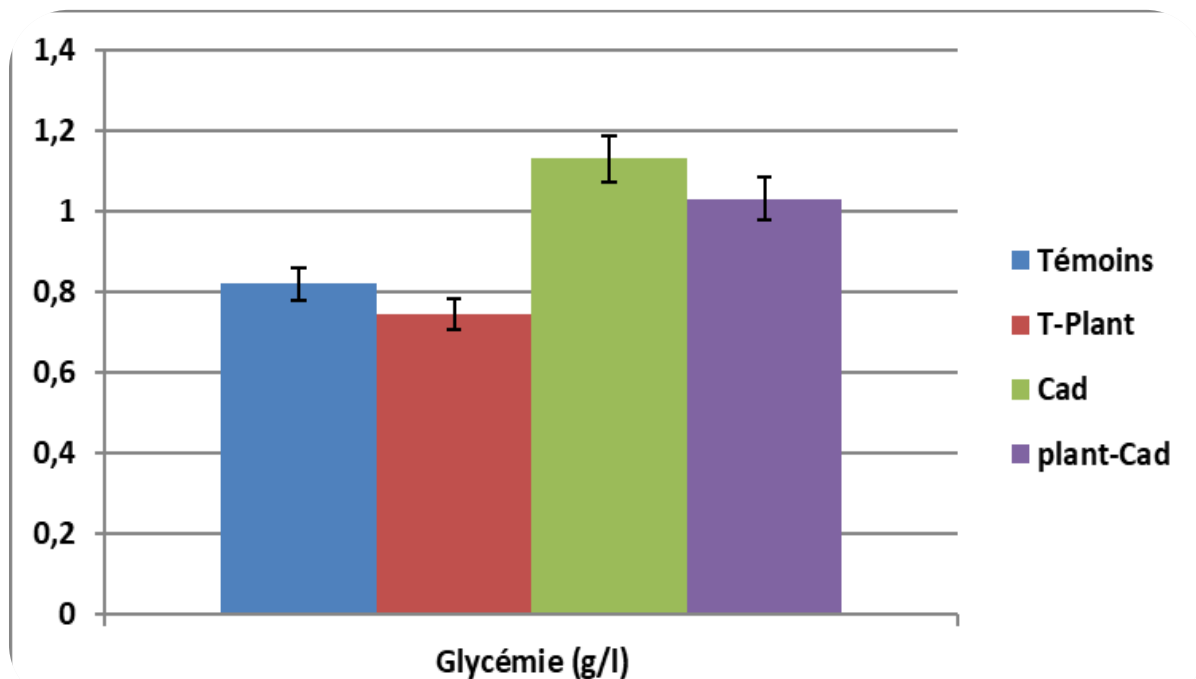


Figure 21: Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl₂Cd) sur la glycémie chez les rats males

IV.1.1.2. Urée

Le Cd a augmenté de manière significative ($P < 0.05$) le taux d'urée chez les rats du groupe G3 (+2,83 g/l) en comparaison avec les rats témoins (G1). En revanche, les rats du groupe G4 (traités par l'extrait aqueux et exposés au Cd en même temps) présentent une diminution significative ($P < 0.01$) du taux de l'urée (-2,40g/l) avec le groupe 2 (T-plant) Fig22

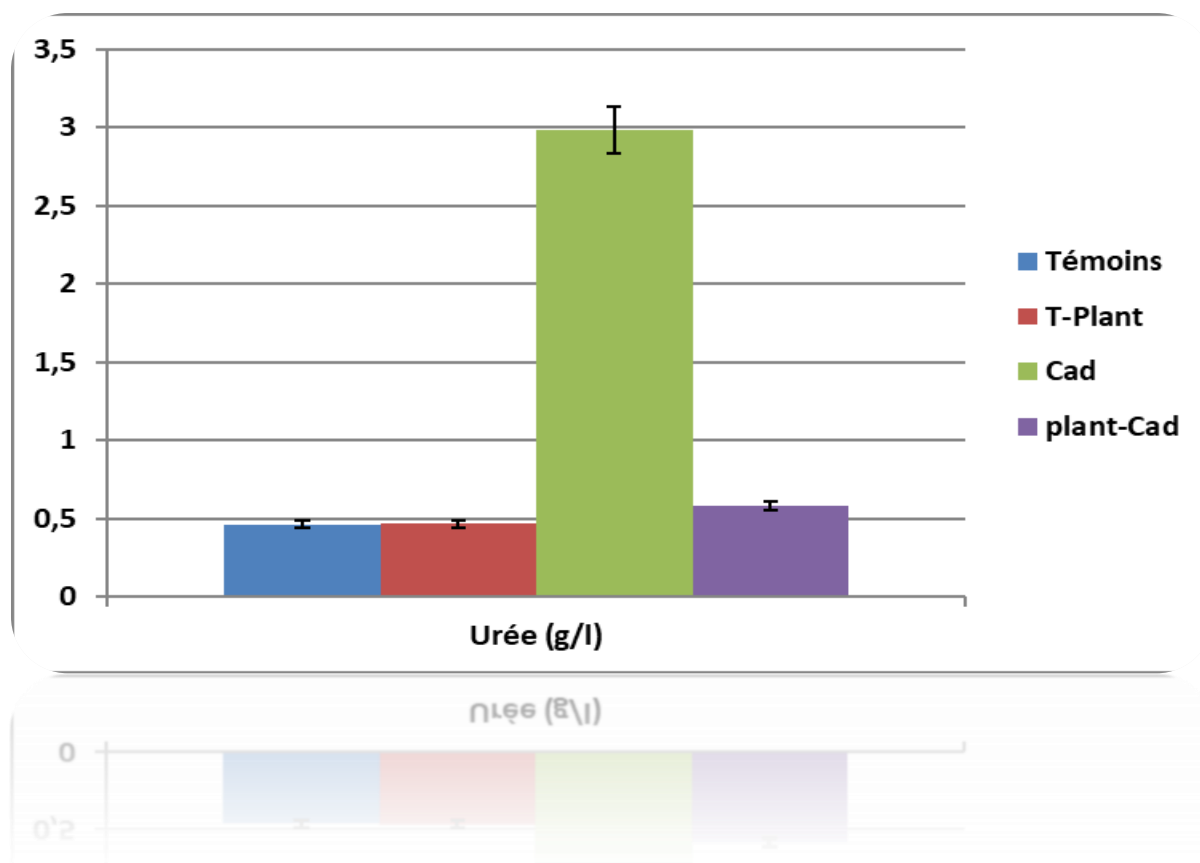


Figure 22: Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl₂Cd) sur l'urée chez les rats males

IV.1.1.2. Créatinine

Nos résultats montre qu'il y a une élévation significativement plus importante ($P < 0.01$) de 72,02% du taux de créatine sanguin chez le groupe 3intoxiqué par le Cd en comparaison avec le groupe témoin G1. En outre , les rats du groupe 4(Cd- Plant) ont montré une diminution significative avec -4mg/l du taux de créatine par rapport au groupe exposé seulement au Cd Fig23

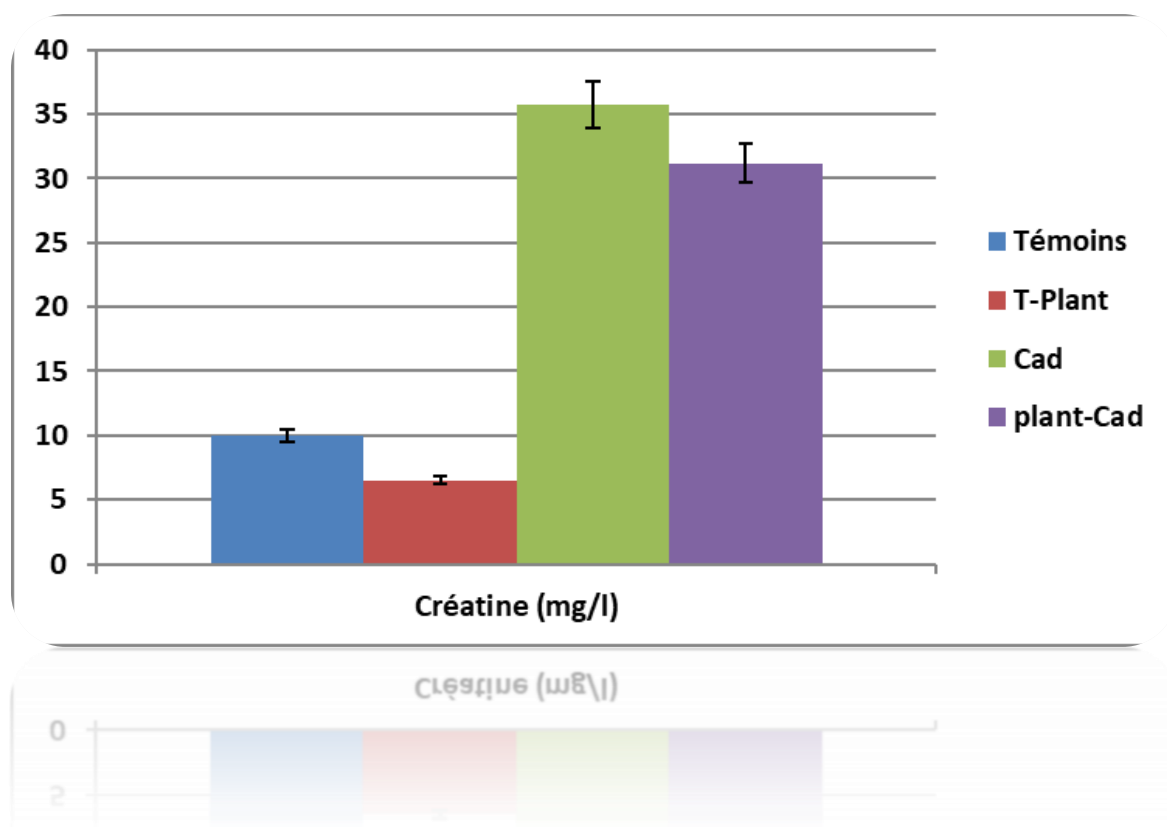


Figure 2: Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur la créatine chez les rats males

IV.1.3.. Aspartate-aminotransférase (ASAT)

Le traitement statistique des données concernant le taux d'é'ASAT a révélé que l'injection de Cd aux rats (G3) a engendré une augmentation significative ($P < 0.01$) de 26 % d'ASAT par rapport à celui des rats témoins (G1). Tandis que l'administration orale d'extrait aqueux de cladodes d'*OFI* chez les rats intoxiqués par le Cd (G4) a provoqué une

diminution significative ($p < 0.01$) de -25 % du taux d'ASAT comparativement aux rats du groupe G3 (fig23).

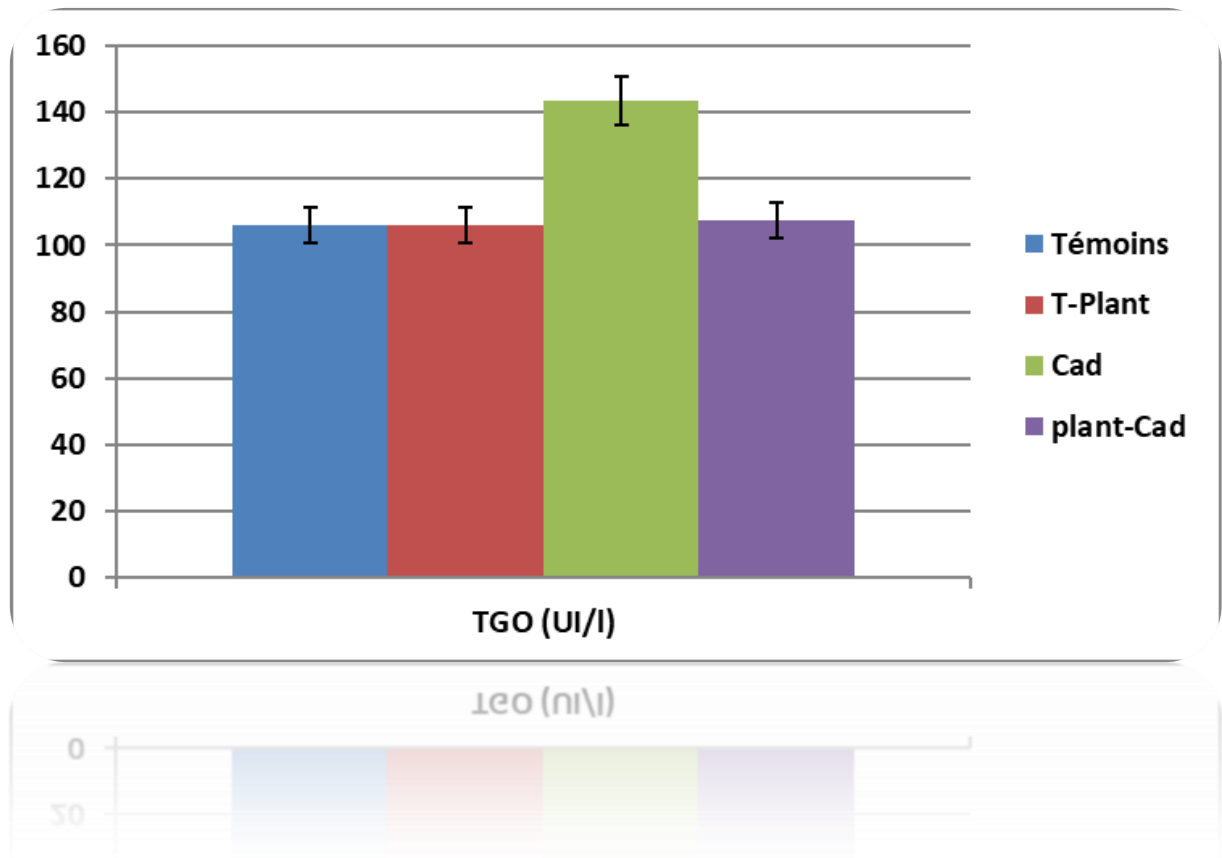


Figure 23: Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl_2Cd) sur l'ASAT chez les rats males

IV.1.1.4. Alanine aminotransférase (ALAT)

Nos résultats obtenus montrent une augmentation significative ($P < 0.05$) de 30,49 % du taux d'ALAT chez les rats du groupe G3 (exposé au Cd) par rapport à celui de groupe témoin (G1). En revanche, l'administration de l'extrait aqueux d'OFI aux rats intoxiqués par le Cd (G4) a diminué significativement ($P < 0.05$) le taux d'ALAT (-28,40 %) en comparaison avec les rats du groupe G3 (fig24).

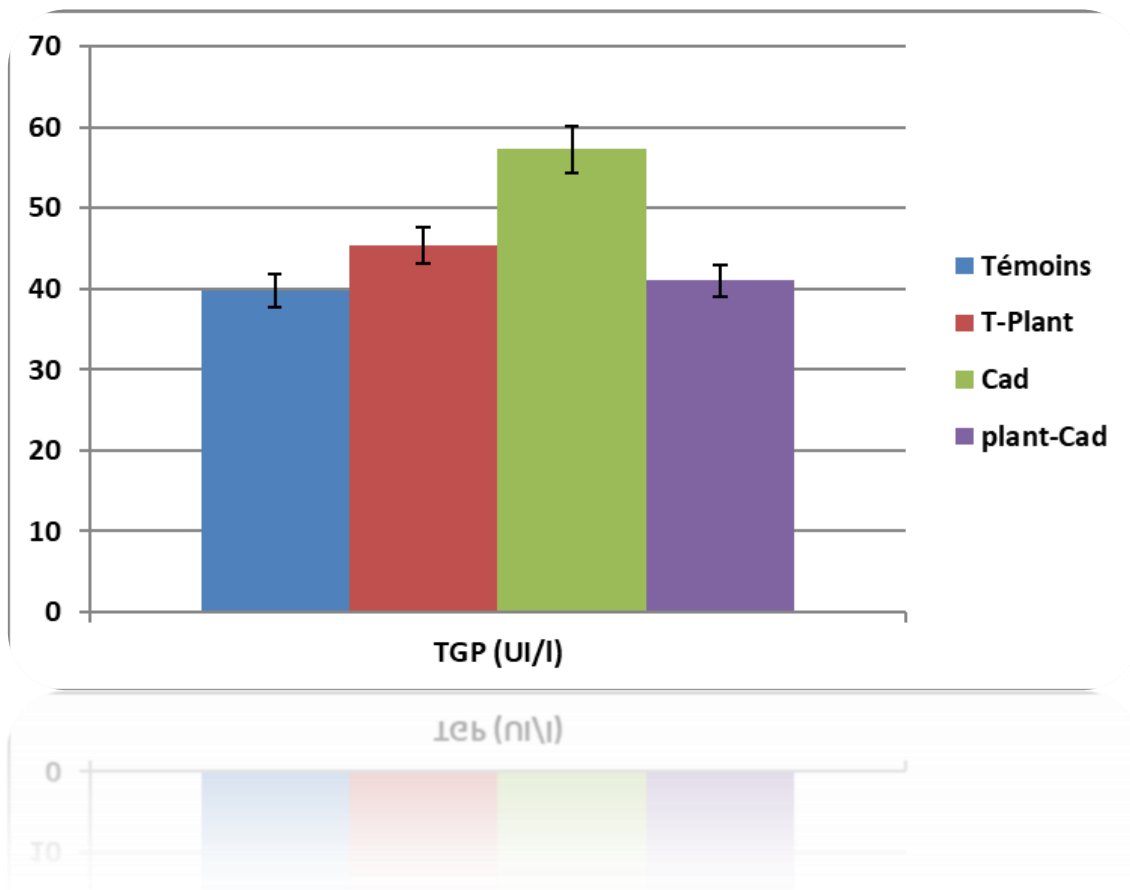


Figure 24: Effet comparé de chlorure de Cadmium (CdCl_2) sur l'ALAT chez les rats males

IV.1.1.5. Gamma glutamyl transférase (γ -GT)

La concentration sérique du gamma glutamyl transférase (γ -GT) (+145,66 UI/L) des rats du groupe G2 (exposé aux Cd) était significativement supérieure ($P < 0,001$) à celle du groupe G1 (témoin). L'extrait aqueux de cladodes de figuier de barbarie a réduit de manière significative ($P < 0,001$) le taux sérique du γ -GT (- 121 UI/L) chez le groupe G4 (6,5 mg CdCl_2/kg et 200 mg/kg d'extrait aqueux de cladodes de figuier de barbarie au même temps) par rapport au groupe G2 (fig. 25).

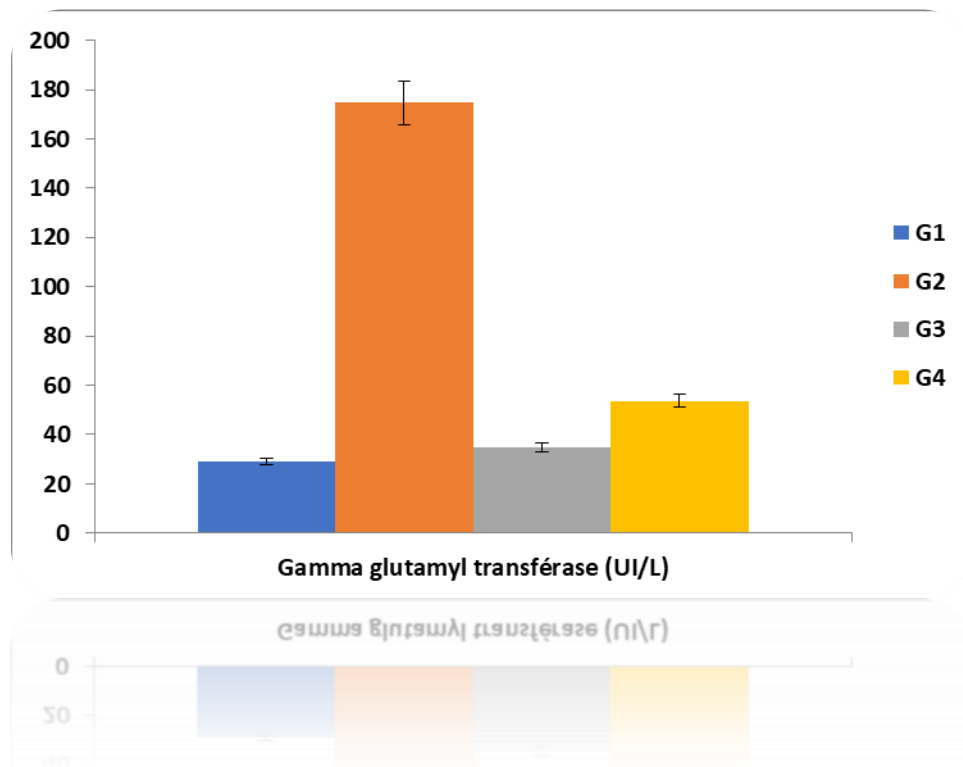


Figure 25: Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl₂Cd) sur Le taux de gamma glutamyl transférase (γ -GT) chez les rats males.

IV.1.1.6. Phosphatase alcaline (PAL)

L'exposition des rats au Cadmium(G2) a entraîné une augmentation significative ($p < 0,001$) de +75 % du taux sérique de phosphatase alcaline par rapport aux rats témoins G1. Les rats du groupe G4 (exposés au Cd et traités par 200 mg/kg d'extrait aqueux) ont montré une réduction significative ($p < 0,001$) de -63 % du taux de la PAL par rapport au groupe G2. Tandis que, les rats qui ont reçu uniquement l'extrait aqueux d'OFI pendant 28 jours (G3), n'ont montré aucune différence significative du taux de PAL par rapport au groupe G1 (fig. 26)

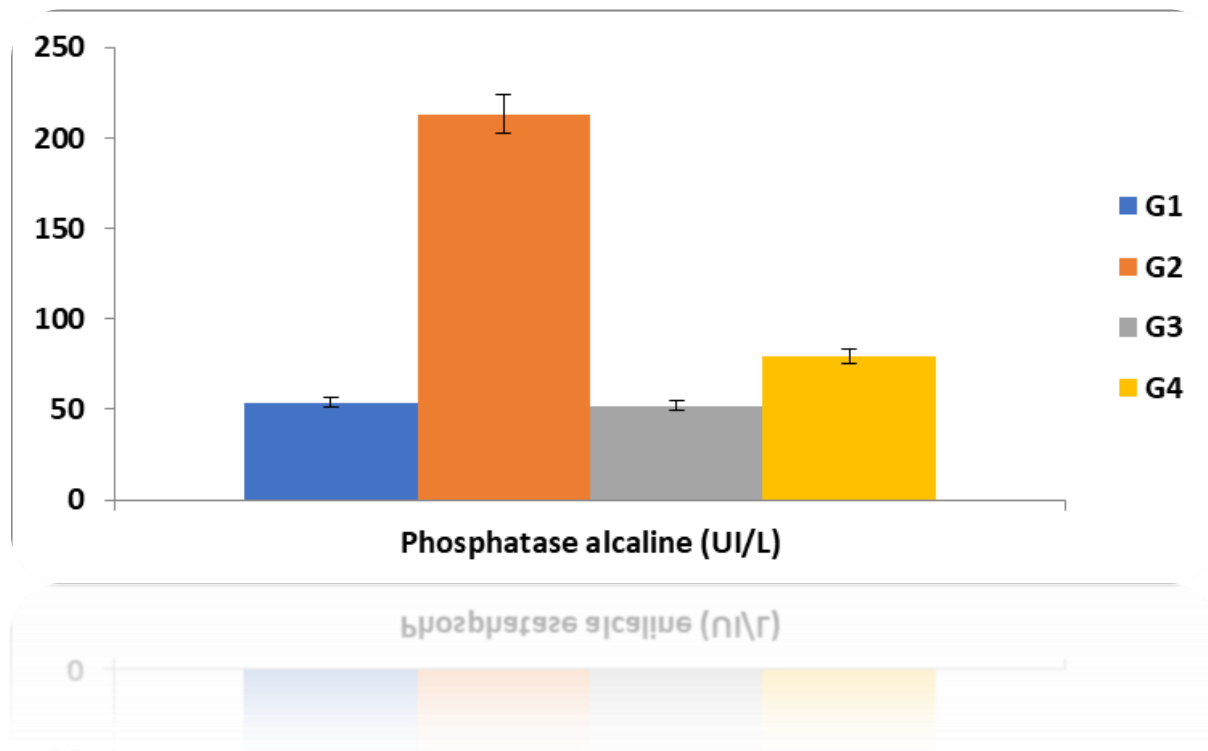
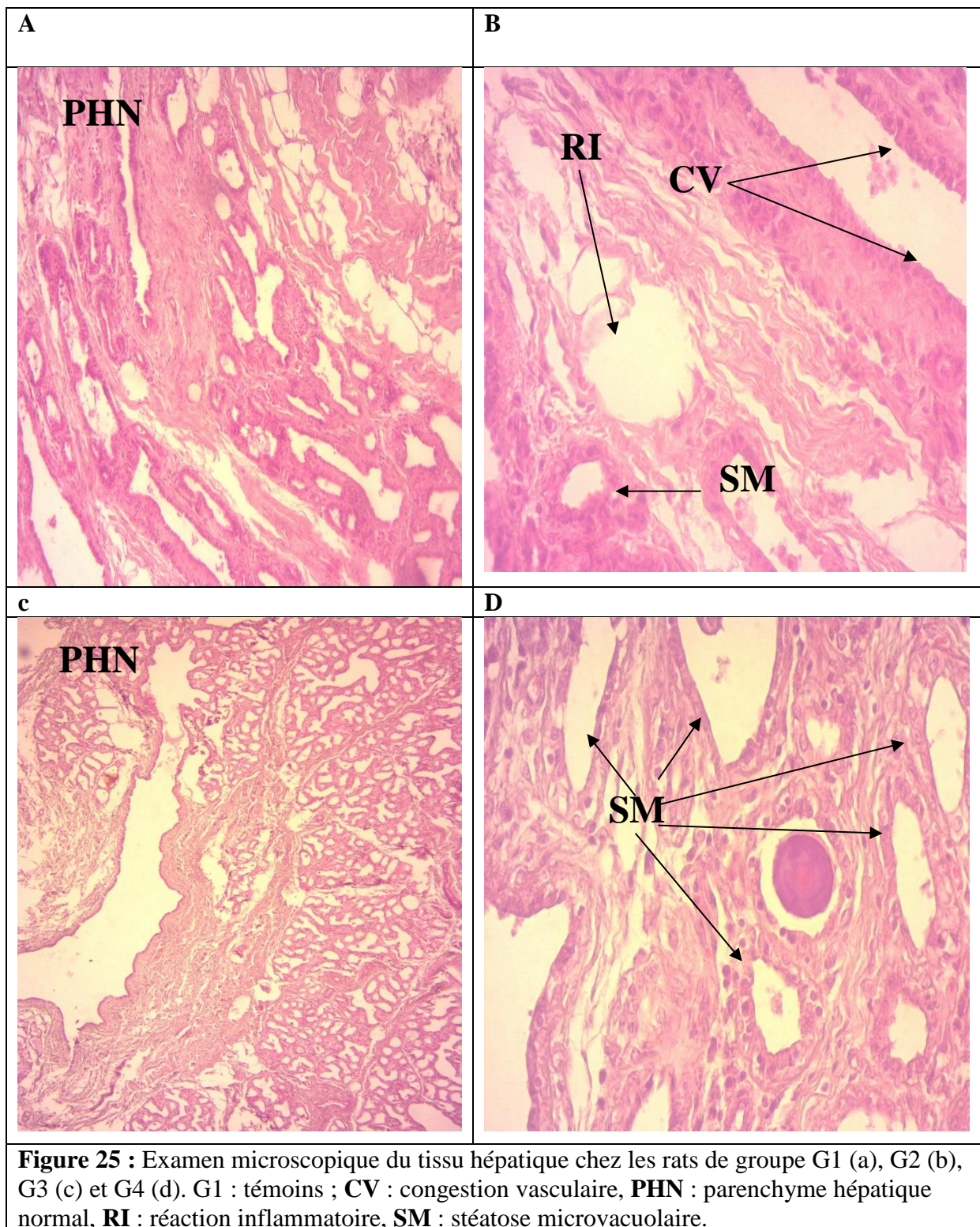


Figure 26 : Effet comparé de chlorure de Cadmium (Cl₂Cd) sur Le taux de phosphatase alcaline (PAL) chez les rats males

IV.2 Etude histologique



La figure 26 (a) (b) (c) (d) montre l'effet du Cacl2 et l'extrait aqueux d'OFI sur le tissu

hépatique chez les rats males WASTERS. Chez le groupe témoins G1, (Fig26a) l'architecture de la coupe tissulaire du foie est normale avec un parenchyme hépatique normal, cependant les animaux traités ont vu leur structure tissu modifié en fonction de l'administration de l'administration de l'extrait aqueux de cladodes de l'*Opuntia ficus indica* et l'injection de CdCl₂.

A la dose de 6 mg /kg de CdCl₂ chez le groupe G3 (Figure 26b) l'architecture de parenchyme est modifiée avec une réaction inflammatoire et une congestion vasculaire, le Cd a induit l'apparition d'une stéatose microvacolaire, par ailleurs : une administration de 200 mg d'extrait aqueux/kg de poids corporel 1 heure avant l'injection de cadmium et quotidiennement pendant 5 jours. Après 24 h de la dernière injection de CdCl₂, dans le groupe G4 (Figure 26d) à améliorer l'architecture du parenchyme hépatique, réduction de la réaction l'inflammatoire et une atténuation de la stéatose microvacolaire. La figure 26 C montre que l'induction uniquement d'une dose de 200 mg/kg d'extrait aqueux de cladodes n'a pas modifié l'architecture de tissu hépatique



IV.3. Discussion

Opuntia ficus indica a suscité l'intérêt des chercheurs ces dernières années en raison de son activité antioxydante. Cependant, les mécanismes d'action possibles d'OFI dans la protection du foie et des reins n'ont pas été complètement étudiés., La présente étude a montré que l'injection intraveineuse 6,5 mg CdCl₂/kg chez les rats entraînait une augmentation significative des taux sériques d'urée et de créatinine la réduction significative ($p < 0,05$) du niveau de protéines totales dans le groupe de rats traités au Cd par rapport aux rats témoins normaux peut être attribué à l'oxydation des protéines formant ainsi adduit protéique responsable des dommages oxydatifs. Cependant, l'élévation significative ($p < 0,05$) du taux de protéines totales du groupe de rats traités au Cd co-traités avec l'extrait aqueux de cladodes du figuier de barbarie ainsi que des groupes de rats normaux traités avec du l'extrait aqueux de cladodes du figuier de peut être le résultat d'une lésion des cellules rénales et hépatiques induite par une intoxication au Cd qui par la suite perturbation de la biosynthèse des protéines (Chawla 2003). Cependant, cet effet était plus profond et efficace dans le l'extrait aqueux de cladodes du figuier de seulement traité groupe indiquant le potentiel du l'extrait aqueux de cladodes du figuier de à régénérer les tissus rénaux et hépatiques endommagés, et donc à augmenter les protéines synthèse dans les tissus endommagés (Salama et El-Bahr2007). L'augmentation des taux sériques d'urée, d'acide urique et de créatinine dans le groupe de rats traités au Cd peut être attribuée à déséquilibre oxydatif dans le rein entraînant une urée élevée, acide urique et créatinine dans le sang. Les conclusions de cet étude en corrélation avec le rapport donné par Gilrolami et al. où le niveau d'urée a été élevé à la suite de l'induction de Cd (Girolami et al. 1989). L'augmentation significative ($p < 0,05$) Le niveau de créatinine dans le groupe de rats traités au Cd par rapport au groupe de rats normaux peut être attribué aux dommages oxydatifs au rein permettant ainsi plus libération de créatinine dans le sang. Ceci est en accord avec des rapports antérieurs de Renugadevi et Prabu où Cd l'administration entraîne une élévation du taux de créatinine (Renugadevi et Prabu 2009). Cela était également lié déficit de filtration. En outre, Shatti a rapporté que l'augmentation du taux de créatinine est une indication de lésions tubulaires rénales dues à la néphrotoxicité induite par le Cd (Shatti 2011). La réduction des taux élevés d'urée, d'acide urique et de créatinine par le cadmium peut suggérer que le l'extrait aqueux de cladodes du figuier de exerce une action néphro-protectrice effet lorsqu'il est exposé au Cd.

ALAT et ASAT, γ -GT , PAL , sont considérés comme des indicateurs établis de dommages

hépatocellulaires (Al-Habori et al. 2002). En raison du déséquilibre du rapport antioxydants/oxydants dans les cellules, les taux d'enzymes hépatiques (γ -GT, PAL, ALAT, ASAT) peuvent indiquer des dommages aux tissus hépatiques, probablement par une altération de la perméabilité de la membrane cellulaire conduisant à la fuite des enzymes du tissu vers le sérum. Dans cette étude, une atteinte hépatique sévère a été observée par l'élévation significative de l'activité des enzymes hépatiques ALAT, ASAT et dans le sérum du groupe d'hépatotoxicité induite par le Cd par rapport avec le groupe témoin normal. La conclusion de cette étude est similaire aux travaux précédemment rapportés par Soufy et al. Qui ont rapporté l'effet hépatotoxique du Cd chez des rats exposés au métal (Renugadevi et Prabu 2009). Ils ont en outre affirmé que ces changements pourraient être dus à des effets toxiques du toxique (Cd) sur les hépatocytes puisque le foie est le site de détoxification de tous les types de toxines et les produits chimiques (Renugadevi et Prabu 2009 ; Soufy et al. 2007). Le foie étant l'organe le plus souvent associé à la détoxification et la biotransformation de la plupart des composés étrangers qui pénètrent dans le corps obtiennent leur régulation mécanisme altéré en raison de l'accumulation de substances toxiques qui pourraient entraîner des lésions tissulaires (Camargo et Martínez 2006). Ceci est en accord avec un rapport de Liu et coll. que le PCA exerce un puissant effet atténuant sur les lésions hépatiques induites par les graisses (Liu et al. 2010). De même, diverses études ont rapporté le potentiel antioxydant in vitro, l'effet antibactérien et l'activité chimio préventive du cancer du PCA (Li et al. 2011 ; Chao et Yin 2009 ; Tanaka et al. 2011) montrant sa pertinence pharmacologique générale. Dans cette étude, l'accumulation de Cd dans le foie pourrait être déployé pour être ce qui représentait l'hépatocellulaire blessure constatée. Fait intéressant, les taux sériques du système rénal marqueurs fonctionnels et les activités des enzymes hépatiques mesurés dans cette étude ont été améliorés lors du co-traitement de Cd et l'extrait aqueux de cladodes du figuier de alors qu'aucun effet indésirable n'a été observé après l'administration de l'extrait aqueux de cladodes du figuier de chez les rats, ce qui suggère une utilisation sûre de ce composé phénolique à base de plantes et la dose utilisée dans cette étude sur le rein et le foie.

Une étude récente a démontré que Le Cd peut initier l'apoptose neuronale via le stress oxydatif et altèrent l'homéostasie du Ca^{2+} , ce qui altère le potentiel de la membrane mitochondriale, provoquant la libération de cytochrome c, qui stimule ensuite la cascade des caspases et provoque finalement la fragmentation de l'ADN (Yuan et al., 2013). La pré-administration de l'extrait aqueux de cladodes du figuier de barbarie a atténué l'événement apoptotique produit par CdCl₂ en inhibant la signalisation mitochondrie-

caspase calcique. Le traitement par l'extrait aqueux de cladodes du figuier de barbarie a augmenté le taux de survie et atténué l'apoptose des cardiomyocytes dans l'hypertension (Deng et al., 2014). De plus, l'administration de l'extrait aqueux de cladodes du figuier de barbarie a inhibé l'apoptose cellulaire induite par la privation d'oxygène et de glucose en inhibant la caspase-3 (Kang et al., 2013). De plus, Guan et al. (2006) ont découvert que l'ACP empêchait l'apoptose en atténuant le changement dans la mitochondrie la perméabilité membranaire, la diminution du stress oxydatif et l'amélioration de l'expression de Bcl-2 dans la déficience mitochondriale induite par le MPP⁺ et l'apoptose dans les cellules PC12. De plus, Yoswaris et al. (2014) ont démontré que le l'extrait aqueux de cladodes du figuier de barbarie améliorait la fonction mitochondriale et augmentait le niveau de Bcl-2 dans les tissus cardiaques des rats diabétiques



Conclusion et perspectives

La naissance de la « chimie pour la santé humaine » a commencé avec la découverte que Mère Nature nous a fourni le remède à de nombreuses maladies sous forme de produits naturels, ou les soi-disant métabolites secondaires. Le monde végétal et microbien offre une grande diversité de composés qui peuvent servir de nouveaux pharmacophores passionnants avec de nouveaux mécanismes d'action pour contrôler les processus pathologiques. Plus tard, les produits naturels marins ont ajouté une plus grande diversité à l'architecture structurale. Le défi de comprendre la chimie magique de la nature stimule continuellement une grande partie de notre réflexion intellectuelle. Pensées, découvertes scientifiques et avancées technologiques. Comprendre les structures des métabolites secondaires est sans doute le point de départ qui progresse dans la recherche pharmaceutique. L'intérêt croissant pour le rôle des composés bioactifs alimentaires dans la santé humaine a augmenté la recherche de sources naturelles, comme les figues de barbarie *Opuntia ficus-indica* L ou leurs dérivés pouvant servir de source biologique de phytonutriments (Barba et al., 2017). *Opuntia ficus indica* possède une forte teneur en phénols, les plus importants étant les dérivés flavonoïdes. Parmi les signaux des flavonoïdes dans *O. ficus-indica*, . Ils montrent des bénéfices de santé intéressants en termes d'effets anti-inflammatoires et chimiopréventifs (Antunes-Ricardo et al., 2017). Le but de cette étude était de procéder à l'identification et quantification des principaux composés phénoliques, dont flavonoïdes, dans différents extraits d'*Opuntia ficus indica* (aqueux, éthanoïque 100%, hydro éthanoïque et méthanoïque) du violet, cultivars mexicains et espagnols de figue de barbarie rouge et jaune/orange à l'aide d'un protocole unique d'extraction et d'analyse chromatographique. Dans cette étude, on peut conclure que l'induction de Cd de peroxydation lipidique et élévation des enzymes marqueurs hépatiques et les paramètres rénaux dans le sérum peuvent interférer avec l'équilibre cellulaire dans le rein et le foie causant ainsi des dommages oxydatifs. Cependant, *O. ficus-indica* a modulé la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité induites par le Cd chez les rats.

Les objectifs assignés au cours de cette étude n'ont pas été tous atteints. Cependant, des perspectives restent à venir pour mieux étudier le Chlorure de cadmium. En perspective,

nous souhaiterions,

→ A court terme, déterminer la teneur en cadmium dans les denrées à grande consommation souvent exposées à l'air libre tel que les poissons fumées, fruits et légumes et les poissons en Algérie . Aussi souhaiterions-nous étudier l'effet de la pollution des décharges en Algérie sur la santé

→ A moyen terme, nous comptons : - Etudier l'expression des gènes qui interviennent dans le phénomène d'apoptose à savoir les caspases. - Déterminer l'effet du cadmium sur le cycle cellulaire à travers son action sur la protéine P53

→ A long terme, incorporer le bilan métallique (bilan cadmique) aux analyses de routine de laboratoire

Références bibliographique



Références bibliographiques

- Achanza et al., 2001 Achanzar W. E., Diwan B. A., Liu J., Quader S. T., Webber M. M., Waalkes M. P., 2001. Cadmium-induced malignant transformation of human prostate epithelial cells. *Cancer Research*. 61(2):455–8 .
- Adamis *et al*, 2004 Amir W, Jahanzaib A, Farhat I, Ashif S, Zahid M, Ghulam M. 2014. Pollution
- ADAMS M.R., MOSS M.O. Food Microbiology. The Royal Society Of Chemistry, Cambridge, 1995, p. 156-251
- AGARWAL, Puja, HOLLAND, Thomas M., WANG, Yamin, *et al*. Association of strawberries and anthocyanidin intake with Alzheimer’s dementia risk. *Nutrients*, 2019, vol. 11, no 12, p. 3060.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, GA; 1999 (accès 6 juin 2008). <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.html>
- AHMAD, Naseer et MACDIARMID, Alan G. Inhibition of corrosion of steels with the exploitation of conducting polymers. *Synthetic Metals*, 1996, vol. 78, no 2, p. 103-110.
- AL ADAWI, Ali Obaid, BARNES, Irene, KHAN, I. A., *et al*. Ceratocystis manginecans associated with a serious wilt disease of two native legume trees in Oman and Pakistan. *Australasian Plant Pathology*, 2013, vol. 42, no 2, p. 179-193.
- Al-Habori M., Al-Mamary, M., A. Al-Aghbari, M., & Baker. M. (2002). Investigation des effets toxicologiques des feuilles de *Catha edulis*: Une étude à court terme chez l’animal. *Phytotherapy Research*, 16, 127-132.
- Andersen O, Nielsen JB, Nordberg GF. Nutritional interactions in intestinal cadmium uptake-- possibilities for risk reduction. *Biometals* 2004;17:543-7.
- Andersen O. Principles and recent developments in chelation treatment of metal intoxication. *Chem Rev* 1999;99:2683-710.
- ANDERSON E. F. The Cactus Family, Timber Press, Portland, 2001, p. 15–72.
- Andujar et al., 2010 Andujar P., Bensefa-Colas L., Descatha A., 2010. Acute and chronic cadmium poisoning. *Revue de Médecine Interne*, 31(2): 107-115. Anonyme 1,

-
2007. La destruction d'armes chimiques de la guerre de 14 a laissé des traces, Le Figaro, 2007-06 -21.
- ARBA M. Le cactus opuntia, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. Sym. Inter. Agriculture durable en région Méditerranéenne (ADUMED), 2009, p. 215-222.
 - Barbier et al., 2004 Barbier, O., Jacquillet, G., Tauc, M., Poujeol, P. & Cougnon, M., 2004. Acute study of interaction among cadmium, calcium, and zinc transport along the rat nephron in vivo. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 287: F1067-1075.
 - Barnhart S, Rosenstock L. Cadmium chemical pneumonitis. *Chest* 1984 ; 86 : 789-91.
 - BEG, Tanveer, JYOTI, Smita, NAZ, Falaq, *et al.* Protective effect of kaempferol on the transgenic Drosophila model of Alzheimer's disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 2018, vol. 17, no 6, p. 421-429.
 - BELYAGOUBI N. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat, 2001, p. 34-35.
 - BENATTIA, F. K., ARRAR, Z., et KHABBAL, Y. Evaluation of the anti-inflammatory activity of the seeds extracts of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L). *Pharma Chemica*, 2017, vol. 9, p. 14-17.
 - Bernard A and Lauwerys R. Chapter 5 : Effects of Cadmium Exposure in Humans. In : *Handbook of Experimental Pharmacology*, vol 80. Edited by EC Foulkes. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg, 1986.
 - Bernard et Lauwerys., 1986
 - Bismuth, 2000 Bismuth C., 2000. Toxicologie clinique. 5e éd, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, France, p106-107.
 - Blakley, 1985 Blakley B. R., 1985. The Effect of Cadmium Chloride on the Immune Response in Mice. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 49: 104-108.
 - Blanc PD, Boushey HA. The lung in metal fume fever. *Semin Respir Med* 1993 ; 14 : 212-25.
 - Blanusa M, Varnai VM, Piasek M, Kostial K. Chelators as antidotes of metal toxicity: therapeutic and experimental aspects. *Curr Med Chem* 2005;12:2771-94.

-
- BOUTAKIOUT, Amale. *Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit: jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (Opuntia ficus-indica et Opuntia megacantha)*. 2015. Thèse de doctorat. Université d'Angers.
 - BOUTAKIOUT, Amale. *Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit: jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (Opuntia ficus-indica et Opuntia megacantha)*. 2015. Thèse de doctorat. Université d'Angers.
 - BOUTAKIOUT1 A., ELOTHMANI D., MAHROUZ M., HANINE H. Effect of seasons on proximate composition of cladode juice of two species of cactaceae. *International Journal of Technology Enhancements And Emerging Engineering Research*, 2015, 1 (03), 1-8.
 - BRAND-WILLIAMS, Wendy, CUVELIER, Marie-Elisabeth, et BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 1995, vol. 28, no 1, p. 25-30.
 - Buchet et al., 1990
 - Buchet J. P., Lauwerys R., Roels H., 1990. Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet*, 336: 699-702
 - Camara O, Kavallaris A, Nöschel H, et al. Ensemencement des cellules épithéliales dans la circulation lors de la chirurgie du cancer du sein : le devenir des cellules mobilisées malignes et bénignes. *Monde J Surg Oncol*. 2006 ; 4 : 67. doi : 10.1186/1477-7819-4-67.
 - Carlson LA, Friberg L. The distribution of cadmium in blood after repeated exposure. *Scand J Clin Lab Invest* 1957;9:67-70.
 - chiens épileptiques. *VetClinPathol* 33:215–222,2004
 - CHOI, Jin Kyeong, OH, Hyun-Mee, PARK, Jee Hun, *et al.* Salvia plebeia extract inhibits the inflammatory response in human rheumatoid synovial fibroblasts and a murine model of arthritis. *Phytomedicine*, 2015, vol. 22, no 3, p. 415-422.
 - CHOUGUI, Nadia, TAMENDJARI, Abderezak, HAMIDJ, Wahiba, *et al.* Oil composition and characterisation of phenolic compounds of Opuntia ficus-indica seeds. *Food chemistry*, 2013, vol. 139, no 1-4, p. 796-803.
 - Cossa et Lassus, 1989 Cossa D. & Lassus P., 1989. Le cadmium en milieu marin-biogéochimie et écotoxicologie. *Rapports scientifiques et techniques de l'Infirmier*. 16p.

-
- Courtois B. Valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques en France. ED 984. INRS 2007, page 11.
 - Davison AG, Fayers PM, Taylor AJ, Venables KM, Darbyshire J, Pickering CA et al. Cadmium fume inhalation and emphysema. *Lancet* 1988;1(8587):663-7.
 - décembre 2007 page 20244.
 - Décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles.
 - Décret n° 2007-1754 du 13 décembre 2007 révisant et complétant les tableaux de maladies professionnelles annexés au livre IV du code de la sécurité sociale. JORF n°0291 du 15
 - DELATTRE J. J., BEAUDEUX L., BONNEFONT D., ROUSSELOT L. Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Editions médicales Internationales, 2005, 1- 108.
 - DELATTRE J. J., BEAUDEUX L., BONNEFONT D., ROUSSELOT L. Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Editions médicales Internationales, 2005, 1- 108.
 - Directive 2002/95/CE du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 2003, relative à la limitation de l'utilisation de certaines substances dangereuses dans les équipements électriques et électroniques.
 - Directive 91/157/CEE du Conseil du 18 mars 1991 relative aux piles et accumulateurs contenant certaines matières dangereuses, amendée par la directive 98/101.
 - Directive 91/338/CEE du Conseil du 18 juin 1991 relative au rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses.
 - do Pico GA. Toxic gas inhalation. *Curr Opin Pulm Med* 1995 ; 1 : 102-8.
 - DOK-GO, Hyang, LEE, Kwang Heun, KIM, Hyoung Ja, *et al.* Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin,(+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain research*, 2003, vol. 965, no 1-2, p. 130-136.
 - DOS SANTOS LIMA, Marcos, SILANI, Igor de Souza Veras, TOALDO, Isabela Maia, *et al.* Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape

juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. *Food chemistry*, 2014, vol. 161, p. 94-103.

- EL-MOSTAFA K., EL KHARRASSI Y., BADREDDINE A., ANDREOLETTI P., VAMECQ J., EL KEBBAJ M.S., LATRUFFE N., LIZARD G., NASSER B., CHERKAOUI-MALKI M. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Molecules*, 2014, 19, 14879-14901.
- EL-MOSTAFA, Karym, EL KHARRASSI, Youssef, BADREDDINE, Asmaa, *et al.* Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 2014, vol. 19, no 9, p. 14879-14901.
- El-Zein M, Malo JL, Infante-Rivard C, Gautrin D. Prevalence and association of welding related systemic and respiratory symptoms in welders. *Occup Environ Med* 2003 ; 60 : 655-61.
- ESHUN K., HE Q. Aloe vera: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries – a review. *Crit. Rev. FoodSci. Nutr*, 2004, 44, 91–96.
- European Union Risk Assessment Report (accès 6 juin 2008). http://ecb.jrc.it/documents/ExistingChemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/cdmetaireport303.pdf
- FAVIER A. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 2003, p. 108-115.
- Fernández MA, Sanz P, Palomar M, Serra J, Gadea E. Fatal chemical pneumonitis due to cadmium fumes. *Occup Med (Lond)* 1996 ; 46 : 372-4.
- Fernández, 1996 ernández M. A., Sanz P., Palomar M., Serra J., Gadea E., 1996. Fatal chemical pneumonitis due to cadmium fumes. *Occupational medicine (Lond)*, 46: 372-374
- Fournier L, Thomas G, Garnier R, et al. 2,3-Dimercaptosuccinic acid treatment of heavy metal poisoning in humans. *Med Toxicol Adverse Drug Exp* 1988;3:499-504. 31
- Friberg L. Chronic cadmium poisoning. *AMA Arch Ind Health* 1959;20:401-7.
- Fuortes L, Leo A, Ellerbeck PG, Friell LA. Acute respiratory fatality associated with exposure to sheet metal and cadmium fumes. *J Toxicol Clin Toxicol* 1991 ; 29 : 279-83.

-
- GALATI, E. M., MONFORTE, M. T., MICELI, N., *et al.* Opuntia ficus indica (L.) Mill. mucilages show cytoprotective effect on gastric mucosa in rat. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 2007, vol. 21, no 4, p. 344-346.
 - GALATI, E. M., TRIPODO, M. M., TROVATO, A., *et al.* Biological effect of Opuntia ficus indica (L.) Mill.(Cactaceae) waste matter: Note I: diuretic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 2002, vol. 79, no 1, p. 17-21.
 - GALATI, Enza Maria, MONDELLO, Maria Rita, GIUFFRIDA, Daniele, *et al.* Chemical characterization and biological effects of Sicilian Opuntia ficus indica (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, vol. 51, no 17, p. 4903-4908.
 - GARCÍA-CAYUELA, Tomás, GÓMEZ-MAQUEO, Andrea, GUAJARDO-FLORES, Daniel, *et al.* Characterization and quantification of individual betalain and phenolic compounds in Mexican and Spanish prickly pear (Opuntia ficus-indica L. Mill) tissues: A comparative study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2019, vol. 76, p. 1-13.
 - GARDES-ALBERT M., BONNEFONT-ROUSSELOT D., ABEDINZADEH Z., D. JORE. Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique, 2003, 91-96
 - Gaskill et al. (2005). Gaskill CL, Hoffmann WE, Cribb AE. Serum alkaline
 - GEBHARDT R. Variable influence of kaempferol and myricetin on in vitro hepato cellular cholesterol biosynthesis. *Planta Med*, 2003, 69, 1071–1074.
 - GINESTRA, Giovanna, PARKER, Mary L., BENNETT, Richard N., *et al.* Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2009, vol. 57, no 21, p. 10323-10330.
 - Goering et al., 1993; Goering P. L., Fisher B. R., Kish C. L. 1993. Stress protein synthesis induced in rat liver by cadmium precedes hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 122: 139-48.
 - GOLDSTEIN G., ANDRADE L., NOBEL P. Differences in Water Relations Parameters from the Chlorenchyma and the Parenchyma of the Opuntia ficusindica under Wet versus Dry Conditions. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 1991, 18(2), 95-107.
 - Gordon et Fine., 1993 Gordon T., Fine J. M., 1993. Metal fume fever. *Occupational medicine*. 8: 504-17.

-
- Gordon T, Fine JM. Metal fume fever. *Occup Med* 1993 ; 8 : 504-17.
 - GRIESSERA M., WEINGART G., SCHOEDL-HUMMEL K., NEUMANN N., BECKER M., VARMUZAD, LIEBNER K.F., SCHUHMACHER R., FORNECK A. Severe drought stress is affecting selected primary metabolites, polyphenols, and volatile metabolites in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 88, 17-26.
 - Habeebu et al., 2000 Habeebu S. S., Liu J., Liu Y. P., Klaassen C. D., 2000. Metallothionein-null mice are more sensitive than wildtype mice to liver injury induced by repeated exposure to cadmium. *Toxicological Sciences*, 55(1): 223–32.
 - HALLIWEL B. How to characterise a biological antioxidant, *Free Radic. Res. Commun.*, 1990, p. 1-32.
 - HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd edn. Oxford: Clarendon Press, 1999.
 - HERNÁNDEZ-URBIOLA M.I., PÉREZ-TORRERO E., RODRÍGUEZ-GARCÍA M.E. Chemical Analysis of Nutritional Content of Prickly Pads (*Opuntia ficus indica*) at Varied Ages in an Organic Harvest. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2011, 8, 1287-1295.
 - Heully F, Lamy P, Pernot C, Couillault S. intoxications aiguës par vapeurs de cadmium. *Arch Mal Prof* 1963;24:547-9.
 - HIGDON, Jane V., DELAGE, Barbara, WILLIAMS, David E., *et al.* Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological research*, 2007, vol. 55, no 3, p. 224-236.
 - Hise EC, Fulkerson W. Chapter VI Environmental impact of cadmium flow in cadmium : the dissipated element. Fulkerson W et Goeller HE. Ed., Oak Ridge National Library, 1973. 33 Buckler HM, Smith WD, Rees WD. Self poisoning with oral cadmium chloride. *Br Med J* 1986;292:1559-60.
 - Honey., 2015
 - Horiguchi H, Oguma E, Sasaki S, Miyamoto K, Ikeda Y, Machida M, Kayama F. Comprehensive study of the effects of age, iron deficiency, diabetes mellitus, and cadmium burden on dietary cadmium absorption in cadmium-exposed female Japanese farmers. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;196:114-23.

-
- IARC 1993; Nakagawa & Nishijo 1996 IARC, 1993. Cadmium and cadmium compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, International Agency for Research on Cancer, 58: 119-239.
 - IARC. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. Lyon, France, 1993 ; 58 : 444 pages.
 - Ikeda M, Ezaki T, Tsukahara T, Moriguchi J. Dietary cadmium intake in polluted and no-polluted areas in Japan in the past and in the present. *Int Arch Occup Environ Health* 2004;77:277-34.
 - Il'yasova D, Schwartz GG. Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;207:179-86.
 - INRS. Les maladies professionnelles. Guide d'accès aux tableaux du régime général et du régime agricole de la Sécurité sociale. ED 835. INRS 2007, pages 256 et 305. 33
 - Internationaux cadmiums Association. (accès 6 juin 2008). <http://cadmium.org/>
 - Jacquillet et al., 2006 Jacquillet G., Barbier O., Cougnon M., Tauc M., Namorado M.C., Martin D., Reyes J.L. & Poujeol P., 2006. Zinc protects renal function during cadmium intoxication in the rat. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 290 (1): 127-137.
 - Järup L, Persson B, Edling C, Elinder CG. Renal function impairment in workers previously exposed to cadmium. *Nephron* 1993;64:75-81.
 - Järup L, Rogenfelt A, Elinder CG, Nogawa K, Kjellström T. Biological half-time of cadmium in the blood of workers after cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health* 1983;9:327-31.
 - Jarup, 2002 Jarup L., Elinder C. G., & Spang G., 1988. Cumulative blood-cadmium and tubular proteinuria: a dose-response relationship. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 60(3): 223-229. Jarup, L., 2002. Cadmium overload and toxicity. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 17 (Suppl 2): 35 39.
 - Jelena et al., 2014
 - Jelena et al., 2014 Jelena Demenesku a, Ivana Mirkova, Marina Ninkova, Aleksandra Popov Aleksandrov, Lidija Zolotarevski b, Dragan Kataranovski a,c, Milena Kataranovski a,d,, 2014. Acute cadmium administration to rats exerts both immunosuppressive and proinflammatory effects in spleen *Toxicology*; 326: 96–108.

-
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food contaminants: Sixty-fourth report 2005, Roma, Italy, page 305.
 - KHAN, Hafiz Azhar Ali, SHAD, Sarfraz Ali, et AKRAM, Waseem. Resistance to new chemical insecticides in the house fly, *Musca domestica* L., from dairies in Punjab, Pakistan. *Parasitology research*, 2013, vol. 112, no 5, p. 2049-2054.
 - Kjellström T. Mechanism and epidemiology of bone effects of cadmium. IARC Sci Publ 1992;118:301-10.
 - Klaassen et al., 1999; Klaassen C. D., 2001. Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of poisons, 6th Ed, McGraw-Hill, New York, p533.
 - Klaassen, (2001 Klaassen C. D., 2001. Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of poisons, 6th Ed, McGraw-Hill, New York, p533.
 - KUTI, Joseph O. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food chemistry*, 2004, vol. 85, no 4, p. 527-533.
 - Kutzman et al., (1986 Kutzman R. S., Drew R. T., Shiotsuka R. N., 1986. Pulmonary changes resulting from subchronic exposure to cadmium chloride aerosol. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 17: 175- 189.
 - LAMB B. Le guide des cactus dans le monde. Delachaux et Niestlé, 1991, 2-144.
 - LAURA, A., VAZQUEZ-FLORES, Alma A., ALVAREZ-PARRILLA, Emilio, *et al.* Content of major classes of polyphenolic compounds, antioxidant, antiproliferative, and cell protective activity of pecan crude extracts and their fractions. *Journal of functional foods*, 2014, vol. 7, p. 219-228.
 - Lauwerys, 1990 Lauwerys R., 1990. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 3è ed, Masson, Paris, France, p136-144.
 - Leopoldini et al., 2011 Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). A comparative study of the antioxidant power of flavonoid catechin and its planar analogue. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(19), 7944–7949.
 - LEOPOLDINI M., RUSSO N. TOSCANO M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 2011, 125(2), 288-306.
 - Li et al., 2010
 - Li et al., 2010 Li J. -L., Hui-Xin L., Shu L., Zhao-Xin T., Shi-Wen X., Xiao-Long W., 2010. Oxidative Stress Mediated Cytotoxicity of Cadmium in Chicken Splenic Lymphocytes. *Polish Journal of Environmental Studies*, 19(5): 947-956. 124

-
- Llewellyn T. O., 1994. Cadmium. (Materials Flow). U.S. Department of Interior, Bureau of Mines, Information Circular 9380. <http://pubs.usgs.gov/usbmic/ic-9380/cadmium.pdf>. (consulté le 28 septembre 2015)
- Liu et al., 1998
 - Liu J., Liu Y., Habecbu S. S., 1998. Susceptibility of MTnull mice to chronic CdCl₂ induced Nephrotoxicity indicates that renal injury is not mediated by the CdMT complex. *Toxicological Sciences*, 46: 197-203.
 - Llewellyn, 1994 ; Llewellyn T. O., 1994. Cadmium. (Materials Flow). U.S. Department of Interior, Bureau of Mines, Information Circular 9380. <http://pubs.usgs.gov/usbmic/ic-9380/cadmium.pdf>. (consulté le 28 septembre 2015)
 - LÓPEZ-ROMERO, Patricia, PICHARDO-ONTIVEROS, Edgar, AVILA-NAVA, Azalia, *et al.* The effect of nopal (*Opuntia ficus indica*) on postprandial blood glucose, incretins, and antioxidant activity in Mexican patients with type 2 diabetes after consumption of two different composition breakfasts. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 2014, vol. 114, no 11, p. 1811-1818.
 - Loubna., 2009 Loubna E. I., 2009. Cytotoxicité du cadmfum, du plomb et du mercure et caractérisation du transport membranaire de cadmfum dans les cellules alvéolaires (A549) et bronchiolaires (H441). Université du QUÉBEC, MONTRÉAL. Mémoire de maîtrise en Biologie, 101p.
 - Luevano & Damodaran., 2014 Luevano J. et Damodaran C., 2014. A Review of Molecular Events of Cadmium-Induced Carcinogenesis. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 33(3): 183–194.
 - Mace, 2003. MACE TONY, MACE SUZANNE. Cactées et succulentes. Hachette livre, 2003, p.12-20.
 - MALAININE2 M. E., DUFRESNE A., DUPEYRE, VIGNON M. R, MAHROUZ M. First evidence for the presence of weddellite crystallites in *Opuntia ficus indica* parenchyma. *Pubmed*, 2003, 58, 11-12.
 - Mancebo-Campos et al., 2014 MANCEBO-CAMPOS V., DESAMPARADOS SALVADOR M., FREGAPANE G. Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil minor compounds evaluated at mild temperature (25 and 40 °C) as compared to accelerated and antiradical assays. *Food Chemistry* , 2014, 150, 374–381.

-
- MANCEBO-CAMPOS V., DESAMPARADOS SALVADOR M., FREGAPANE G. Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil minor compounds evaluated at mild temperature (25 and 40 °C) as compared to accelerated and antiradical assays. *Food Chemistry* , 2014, 150, 374–381.
 - Miller AL. Dimercaptosuccinic acid (DMSA), a non-toxic, water-soluble treatment for heavy metal toxicity. *Altern Med Rev* 1998;3:199-207.
 - MILLER, Patrick JO, ANTUNES, Ricardo N., WENSVEEN, Paul J., *et al.* Dose-response relationships for the onset of avoidance of sonar by free-ranging killer whales. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 2014, vol. 135, no 2, p. 975-993.
 - MOKHTAR, Adel, ABDELKRIM, Soumia, HACHEMAOUI, Mohammed, *et al.* Layered silicate magadiite and its composites for pollutants removal and antimicrobial properties: A review. *Applied Clay Science*, 2020, vol. 198, p. 105823.
 - MULAS M., MULAS G. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres atriplex et opuntia dans la lutte contre la désertification. Short and Medium - Term Priority Environmental Action Programme, 2004.
 - MUNOZ DE CHAVEZ M., CHAVEZ A., VALLES V., ROLDAN J. A. The nopal: a plant of manifold qualities. *World Rev. Nutr. Dietetics*, 1995, 77, 109–134.
 - Nandi M, Slone D, Jick H, Shapiro S, Lewis GP. Cadmium content of cigarettes. *Lancet* 1969;2:1329-30.
 - Nawrot *et al.*, (2006). Nawrot T., Plusquin M., Hogervorst J., Roels H. A., Celis H., Thijs L., Vangronsveld J., Van Hecke E., Staessen J. A., 2006. Environmental exposure to cadmium and risk of cancer: a prospective population-based study. *The Lancet Oncology*, 7: 119-26.
 - Nawrot TS, Van Hecke E, Thijs L, Richart T, Kuznetsova T, Jin Y, Vangronsveld J, Roels HA, Staessen JA. Cadmium-related mortality and long-term secular trends in the cadmium body burden of an environmentally exposed population. *Environ Health Perspect* 2008;116:1620-8.
 - Nicaud P, Lafitte A, Gros A. symptoms of chronic cadmium intoxication. *Arch Mal Prof Med Trav Secur Soc* 1942 ;4 :192-202.
 - Nordberg G, Kjellström T and Nordberg M. Kinetics and Metabolism, cadmium and health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal. In Vol I : Exposure, Dose

and Metabolism. Edited by L Friberg, CG Elinder, T Kjellström, and GF Nordberg, 1985, Boca Raton CRC Press. 103-78.

- Nordberg G, Slorach S, Stenström T. [Cadmium poisoning caused by a cooled-soft-drink machine]. *Lakartidningen* 1973;70:601-4.
- Nordberg GF, Nordberg M. Different binding forms of cadmium--implications for distribution and toxicity. *J UOEH* 1987;9 Suppl:153-64.
- Nordberg GF, Piscator M, Nordberg M. On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 1971;30:289-95.
- Nriagu JO. Production, Uses, and Properties of Cadmium. In : Nriagu JO. *Environment, Part 1: Ecological Cycling*. Toronto : John Wiley and Sons, 1980. p. 35-70.
- Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 823-39.
- Olsson IM, Bensryd I, Lundh T, Ottosson H, Skerfving S, Oskarsson A. Cadmium in blood and urine--impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environ Health Perspect* 2002;110:1185-90.
- PARK, E.-H. et CHUN, M.-J. Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. *Fitoterapia*, 2001, vol. 72, no 2, p. 165-167.
- Pascal et al., 2010 Pascal Andujar., Bensefa-Colas L., Descatha A., 2010. Acute and chronic cadmium poisoning. *Revue de Médecine Interne*, 31(2): 107-15.
- phosphataseisoenzyme pro Fitraité par lésinphénobarbital
- Pillière F, Conso F. BIOTOX. Guide biotoxicologique pour les médecins du travail. ED 791. INRS 2007, pages 81-2.
- Prior et al., 2005
- PRIOR R.L., LAZARUS S.A., CAO G., MUCCITELLI H., HAMMERSTONE J.F. Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*vaccinium* spp.) using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49, 1270-1276.
- PRIOR R.L., WU X., SCHAICH K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53, 4290-4302.

-
- PULIDO R., BRAVO L., SAURA-CALIXTO F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 3396-3402.
 - QIU Y., CHEN Y., PEI Y., MATSUDA H., YOSHIKAWA M. New constituents from the fresh stems of *Opuntia dillenii*. *J. Chin. Pharm. Sci.*, 2003, 12, 1-5.
 - QUIÑONES, Mar, MIGUEL, Marta, et ALEIXANDRE, Amaya. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacological research*, 2013, vol. 68, no 1, p. 125-131.
 - Reeves et Chaney, 2004 Reeves P. G., Chaney R. L., 2002. Nutritional status affects the absorption and whole-body and organ retention of cadmium in rats fed rice-based diets. *Environmental Science & Technology*, 36: 2684-92.
 - Reeves PG, Chaney RL. Marginal nutritional status of zinc, iron, and calcium increases cadmium retention in the duodenum and other organs of rats fed rice-based diets. *Environ Res* 2004;96:311-22. 30
 - Reeves PG, Chaney RL. Nutritional status affects the absorption and whole-body and organ retention of cadmium in rats fed rice-based diets. *Environ Sci Technol* 2002;36:2684-92.