

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Djilali Liabes de Sidi Bel-Abbés

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat

Spécialité : sciences biologiques

Option : Biotoxicologie et santé publique

INTITULÉ

CONTRIBUTION À L'ETUDE DE L'IMPACT DE L'ACIDE ALPHA LIPOIQUE CHEZ LES RATS WISTAR INTOXIQUÉS PAR L'ALUMINIUM

Présenté par : **BEKHEDDA HADJER**

Soutenu le :

Devant le jury composé de

| | | | |
|----------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------------|
| Président | : Kerfouf Ahmed | Professeur | Université SBA |
| Examineur | : Berroukche Abdelkrim | Professeur | Université Saida |
| Examineur | : Zairi Mohammed | MCA | Université SBA |
| Co-Promotrice | : Demmouche Abbassia | Professeur | Université SBA |
| Promoteur | : Menadi Noredine | MCA | Université SBA |

2019-2020

Laboratoire de biotoxicologie de l'université Djillali Liabes- Sidi Bel-Abbes, CRU (Ex : CFTE)

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail

à ma famille, tout particulièrement mes chers parents pour leur Soutien, leur amour et leur sagesse qui m'ont permis d'aboutir au grade de Docteur en biologie et de devenir la personne que je suis.

Mes pensées vont à mes frères, et à ma sœur, pour leur présence de tous les instants, leur sympathie, leurs encouragements qu'ils m'ont apporté. Pour tous les moments de joie et de Rigolade

J'adresse encore mes remerciements à tous les doctorants et les membres du laboratoire de toxicologie qui contribuent à créer un cadre de travail agréable

J'adresse un clin d'œil à mes chère copine Aliane Samia Bekhaled Imen Hamanei Kahina Bouad Khaloua pour tous les moments de joie

Remerciements

Nous remercions ALLAH pour la force et le courage qu'il nous a donné pour mener à terme ce projet.

*Je remercie profondément mon directeur de thèse **Dr Menadi Norredine**, pour son aide précieuse au début des recherches bibliographiques, ses conseils scientifiques sa gentillesse et sa patience. Ses commentaires et critiques ont permis l'amélioration du manuscrit final.*

*J'exprime toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude à ma co promotrice de thèse, professeur **Demmouche Abbassia** pour le temps qu'elle m'a consacré, son aide constante et ses conseils avisés. J'ai beaucoup apprécié de travailler à vos côtés, pour votre dynamisme, votre franchise, votre rigueur, votre soutien et disponibilité. Vous m'avez épaulée lors de mes recherches et mes moments de doute.*

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent tout particulièrement à professeur **kerfouf Ahmed** qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse,*

*Ma gratitude va aussi à **Dr Zairi Mohamed** et **Pr Berroukche Abdelkrim**, je suis honorée de vous compter parmi les membres de mon jury malgré votre emploi du temps chargé. Merci pour votre disponibilité, et d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Je n'oublierai pas de remercier **Dr. ARGOUB**, médecin spécialiste d'Anatomo-pathologiste pour m'avoir si bien accueillie au sein de son laboratoire mais également pour sa sympathie, son aide précieux et son encouragement. Merci pour tout ce que j'ai appris à vos côtés.*

*Je réserve une mention particulière à toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien et leur aide et tout particulièrement **dr Bouazza, dr Mai, Bekhalef, Djebbar .Menadi abderrazak; Demmouche Maissa, Aliane Samia***

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à tous ceux et celles qui, par leur soutien, leur aide et leurs encouragements, ont contribué, de près ou de loin, à la concrétisation de ce travail.

Table des matières

Dédicace

Remerciements

Résumé

Abstrat

ملخص

Résumé-----13

Introduction générale-----17

■ ■ CHAPITRE I ALUMINIUM

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | Histoire de l'aluminium | 3 |
| 2. | Présence de l'aluminium dans notre environnement. | 4 |
| 2.1. | l'air | 4 |
| | (Jean-Paul Virapoullé, 2010) | 4 |
| 2.3. | Le sol | 4 |
| 3. | LES APPORTS | 5 |
| 3.1. | Apports quotidiens | 5 |
| 3.3. | Apports par l'eau | 7 |
| 3.4. | Apports par les aliments crus | 7 |
| | Tableau 3: Teneur en Al de différents types de légumes (Rao, 1993) | 8 |
| | Tableau 4 : Teneur en Al de différents types d'épices et d'herbes Fruits Teneur en aluminium en mg/100g (Rao & Rao., 1993) | 9 |
| 3.6. | Apports par les additifs alimentaires | 10 |
| 3.7. | Apports par les produits médicamenteux et cosmétiques | 11 |
| 3.8. | Les vaccins | 12 |
| 3.9. | Cosmétiques : | 12 |
| 4. | Métabolisme de l'aluminium dans l'organisme humain | 13 |
| 4.1. | Absorption respiratoire | 13 |
| 4.2. | Absorption cutanée | 14 |
| 4.3. | Absorption digestive | 15 |
| 4.4. | L'injection | 16 |
| 4.4.1. | Voie intramusculaire | 16 |
| 4.5. | Distribution et accumulation | 17 |
| 4.6. | Elimination de l'aluminium dans l'organisme | 19 |
| 4.7. | Niveaux d'aluminium dans l'organisme | 19 |
| 5.1.3. | Effets neurologiques | 21 |
| 5.1.4. | Effets carcinogènes | 21 |
| 5.2. | Exposition orale | 21 |
| 5.2.2. | Effets immunologiques | 22 |
| 5.2.3. | Effets neurologiques | 22 |
| 5.2.4. | Effets sur la reproduction | 23 |
| 5.2.5. | Effets sur le développement | 23 |
| 5.3. | L'exposition cutanée | 24 |

| | | |
|--------|---|----|
| 5.3.2. | Effets cutanés | 24 |
| 5.3.3. | Les effets génotoxiques de l'Al. | 24 |
| 6. | Les pathologies associées à l'aluminium | 25 |
| 6.1. | Le cas des malades en insuffisance rénale. | 25 |
| 6.2. | L'encéphalopathie : | 25 |
| 6.3. | L'ostéodystrophie : | 26 |
| 6.4. | L'anémie : | 26 |
| 7. | Les pathologies où l'implication de l'aluminium est suspectée. | 27 |
| 7.2. | La myofasciite à macrophages : | 28 |
| 7.3. | La maladie d'Alzheimer : | 28 |
| 7.4. | La maladie de Crohn : | 30 |
| 8. | Mécanisme d'Action de l'Aluminium | 30 |
| 8.1. | Action sur l'os : | 30 |
| 8.2. | Mécanismes indirects impliquant la Parathormone (PTH) | 31 |
| 8.2.2. | Effet sur la neurotransmission cholinergique | 32 |
| 8.2.3. | Modification de la cascade de seconds messagers dans le cerveau | 32 |
| 8.2.4. | Contribution au stress oxydatif cérébral : | 32 |
| 8.2.5. | Modulation de l'expression des ARN messagers (ARNm) et de la synthèse protéique | 32 |
| 8.3. | Action hématologique | 32 |
| 9. | Toxicité de l'aluminium | 33 |
| 9.1. | Toxicité aiguë | 33 |
| 9.2. | Toxicité subchronique, chronique : | 35 |
| 10. | Maladies neurodégénératives | 37 |
| 10.1. | Les dégénérescences neurofibrillaires (à l'intérieur des neurones): | 38 |
| 11. | Mesures préventives | 38 |
| 11.1. | Prévention techniques Mesures collectives | 38 |
| 11.2. | Mesures individuelles | 38 |
| 11.3. | Prévention Médicale | 38 |

II CHAPITRE II ACIDE ALPHA-LIPOÏQUE

| | | |
|-------|--|----|
| 1. | Définition : | 40 |
| 2. | Historique : | 40 |
| 3. | Description de l'acide alpha-lipoïque | 40 |
| 4. | Noms chimiques | 41 |
| 5. | Structure et caractéristiques chimiques | 41 |
| 5.1. | Les formes d'acide alpha lipoïque : | 42 |
| 5.2. | Les propriétés physiques et chimiques de l'acide alpha-lipoïque | 43 |
| 5.3. | Propriétés redox (réduction-oxydation) de l'acide alpha-lipoïque | 44 |
| 5.4. | ALA/DHLA en tant qu'antioxydants directs et indirects | 46 |
| 6. | Sources d'acide -lipoïque | 49 |
| 6.1. | Sources alimentaires | 49 |
| 6.2. | Formes commerciales | 50 |
| 7. | Métabolisme de l'acide | 51 |
| 7.1. | Absorption | 51 |
| 7.2. | La biosynthèse de l'acide alpha lipoïque | 53 |
| 7.3. | Distribution tissulaire et devenir métabolique | 54 |
| 8. | Mécanismes d'action | 55 |
| 9. | Activités biologiques d'acide alpha lipoïque : | 56 |
| 9.1. | Acide lipoïque lié aux protéines : | 56 |
| 9.2. | Acide lipoïque non lié | 58 |
| 10. | Activités anti oxydantes | 58 |
| 10.1. | Piégeage des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote : | 58 |

| | |
|---|----|
| 10.2. Régénération d'autres antioxydants :----- | 59 |
| 11. Activation des voies de signalisation des antioxydants :----- | 60 |
| b. Régulation d'autres voies de signalisation----- | 62 |
| c. Carence----- | 63 |
| 11. Traitement des maladies ----- | 63 |
| a. Diabète sucré ----- | 63 |
| d. Neuropathie autonome :----- | 68 |
| e. Rétinopathie diabétique ----- | 68 |
| f. La sclérose en plaques----- | 69 |
| g. Effets de AL sur le système vasculaire----- | 70 |
| h. LA comme agent hypotenseur----- | 71 |
| i. LA comme agent anti-inflammatoire----- | 72 |
| j. Des effets neuroprotecteurs----- | 75 |
| k. Déficiences cognitives et démence----- | 76 |
| l. Gestion du poids ----- | 77 |
| 12. Pharmacomodulation de l'acide lipoïque :----- | 77 |
| 13. Toxicité de l'acide alpha lipoïque----- | 80 |

■ ■ CHAPITRE I I I MATERIELS ET METHODES.

| | |
|---|----|
| Matériel biologique----- | 81 |
| Classification systématique----- | 81 |
| 1. DESCRIPTION DES PRODUIT ----- | 83 |
| 1.2. L'Acide lipoïque ----- | 83 |
| 2. Protocole Expérimentale :----- | 84 |
| 1. Etude de l'évolution pondérale et poids des organes :----- | 86 |
| 2. Prélèvement sanguin----- | 86 |
| 3. Examens hématologiques----- | 86 |
| 4. Examens biochimiques----- | 86 |
| I. Dosage d'Aspartate aminotransférase (AST/TGO): Selon la fiche technique Spinreact :----- | 87 |
| V. Dosage de la Glycémie----- | 88 |
| VII. Dosage des Triglycérides----- | 89 |
| 5. Prélèvements des échantillons----- | 89 |
| I. L'étude histologique :----- | 90 |
| Fixation----- | 90 |
| Déshydratation des échantillons----- | 90 |
| L'inclusion et réalisation des blocs----- | 91 |
| Les Coupes et la coloration des échantillons----- | 91 |
| 2. Analyse statistique----- | 92 |

■ ■ Chapitre IV Resultats Et Discussion

| | |
|--|-----|
| I. Intoxication au chlorure d'aluminium chez les rats Wistar femelles----- | 94 |
| 1. Bilan hépatique :----- | 94 |
| 1.2. L'évolution de TGP ----- | 95 |
| 2. Evaluation du bilan hormonal----- | 96 |
| 3.1. Parenchyme hépatique----- | 98 |
| 3.3. Etude architecturale Cérébrale----- | 105 |
| 1. Evolution pondérale ----- | 109 |
| 2. Les paramètres hématologiques----- | 111 |
| 3. Variation des paramètres biochimiques ----- | 117 |

| | |
|------------------------------------|-----|
| 3.2. Urée :----- | 118 |
| 4. Etude histopathologique : ----- | 119 |

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| 51 Parenchyme hépatique..... | 98 |
|-------------------------------------|-----------|

| | |
|---|------------|
| 2.5.2 Etude architecturale des ovaires | 103 |
|---|------------|

| | |
|--|------------|
| 2.5.3 Etude architecturale Cerebrale..... | 106 |
|--|------------|

| | |
|---|-----|
| .2 Variation des paramètres hematologique | 112 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| 2.6.2 Variation des paramètres biochimiques..... | 117 |
|--|-----|

| | |
|-------------------------------|-----|
| Etude histopathologique | 119 |
|-------------------------------|-----|

| | |
|-------------------------------------|------------|
| ■ ■ CONCLUSION GENERALE----- | 135 |
|-------------------------------------|------------|

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des tableaux

| | |
|---|-------------|
| Tableau 1. Concentrations moyennes de l'Aluminium dans l'environnement. | 5. |
| Tableau 2 : Données sur des concentrations courantes en aluminium dans l'environnement. | 3 |
| Tableau 3: Teneur en Aluminium de différents types de légumes. | 8 |
| Tableau 4 : Teneur en Aluminium de différents types d'épices et d'herbes Fruits Teneur en aluminium .en mg/100g. | 9 |
| Tableau 5 : Teneur en Aluminium dans différents types de fruits. | 9 |
| Tableau 6 : Teneur en Aluminium dans différents types de légumes | 9 |
| .. | |
| Tableau 7 : Teneur en Aluminium dans différents types de produits animaux. | 9 |
| Tableau 9 : Valeurs de DL50 orales et intra péritonéales pour différents sels d'aluminium. | 35. |
| Tableau 10 : physiques et chimiques de l'acide alpha-lipoïque. | 4.3. |
| Tableau 11 : Composition de l'alimentation des rats. | 82 |
| Tableau12: Évolution du poids corporel (g) chez les rats. | 11 |

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure 1: Sources de l'aluminium pour l'homme..... | 6 |
| Figure 2 : Absorption quotidienne et distribution de l'aluminium dans l'organisme..... | 20 |
| Figure 3 : Changements dans la perméabilité de la barrière hématoencéphalique (BHE) | 31 |
| Figure 4 : Cortex cérébral | 31 |
| Figure 5 : Dégénérescences neurofibrillaires..... | 37 |
| Figure 6 : Structure de l'acide alpha lipoïque..... | 40 |
| Figure 7: Les deux énantiomères R et S de l'α-acide lipoïque..... | 41 |
| Figure 8. Structure de l'acide lipoïque et du DHLA. | 45 |
| Figure 9 : Complexe pyruvate déshydrogénase (PDC). TPP (pyrophosphate de thiamine) | 48 |
| Figure 10 : Structure de l'acide lipoïque et du DHLA | 52 |
| Figure 11 : La synthèse endogène de l'acide lipoïque | 53 |
| Figure 12 : Le mécanisme de clivage de la glycine..... | 54 |
| Figure 13 : Le complexe multi enzyme cétoacide déshydrogénase..... | 58 |
| Figure 14 : Activité antioxydante d'acide alpha lipoïque | 61 |
| Figure 9 : Nouvelles structures d'esters obtenues par couplage de l'acide lipoïque avec des phénol | 78 |
| Figure 15: Nouveaux esters hydrosolubles obtenus par régulation de l'acide..... | 79 |
| Figure 16: Structures de molécules anticancéreuses dérivées de l'acide lipoïque. | 79 |
| Figure 17 : Structures des chromans analogues de l'acide lipoïque douées de propriétés antioxydantes et antiarrhythmiques..... | 80 |
| Figure 18 : Conditionnement des rats dans l'animalerie de l'université..... | 80 |
| Figure 19 : Acide alpha lipoïque..... | 83 |
| Figure 20 : Répartition des lots expérimentaux..... | 85 |
| Figure 21 : Gavage oral intra gastrique chez rats wistar / injection intrapéritonéale | 85 |
| Figure 22 : Fixation des organes pour examen histologique | 90 |
| Figure 23 : Taux de TGO en UI/L chez les rats intoxiqués (I) par AlCl ₃ | 94 |
| Figure 24 : Taux de TGP en UI/L chez les rats intoxiqués par AlCl ₃ | 95 |
| Figure 25 : Variation du taux de progestérone chez les rats intoxiqués par AlCl ₃ | 96 |
| Figure 26 : variation du taux de LH chez les rats intoxiqués par AlCl ₃ | 97 |
| Figure 27 : observation microscopique du parenchyme hépatique d'un lot témoin..... | 98 |
| Figure 28 : étude microscopique de parenchyme hépatique | 99 |
| Figure 29: étude microscopique de parenchyme ovarien | 99 |
| Figure 30 : étude microscopique de parenchyme ovarien | 101 |
| Figure 31: étude microscopique de parenchyme | 103 |
| Figure 32: étude microscopique de parenchyme ovarien d'un groupe intoxiqué..... | 104 |

| | |
|--|-----|
| Figure 34 Coupes histologiques du tissu du cortex cérébral dans le cerveau de rats colorés avec H&E(groupe témoin Gx10..... | 106 |
| Figure 35 : Coupes histologiques du cortex cérébral dans le cerveau de rats colorés avec H&E (groupe témoin).Gx100..... | 106 |
| Figure 36. Coupes histologiques dans le cerveau de rats montrant une légère fibrose neuronale et une caryopknose des cellules neuronales du cortex cérébral de rats Wistar du groupe I, | 107 |
| Figure 37. Coupes histologiques dans le cerveau des rats montrant une légère vacuolisation neuronale du Cortex Cérébral de rats Wistar du groupe G X40..... | 107 |
| Figure 38. Coupes histologiques montrant la nécrose du cortex cérébral dans le cerveau de rats du groupe III colorés avec H&E.GX10. | 108 |
| Figure 39. Résultats des paramètres hématologiques chez les rats intoxiqués par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiquer et traité par acide alpha lipoïque..... | 113 |
| Figure 40 : Évolution le taux de glycémie chez les rats intoxiqués par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiquer et traité par acide alpha lipoïque..... | 117 |
| Figure 41 : Évolution le taux de l'urée chez les rats intoxiqués par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiquer et traité par acide alpha lipoïque..... | 118 |
| Figure 42 : Coupes histologiques du du parenchyme cérébral des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin).Gx10..... | 120 |
| Figure 43: Coupes histologiques du parenchyme cérébelleux des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin).Gx10..... | 120 |
| Figure 44: Coupes histologiques du parenchyme cérébelleux : cellules de Purkinje des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin).Gx10..... | 121 |
| Figure 44: Coupes histologiques du Plexus choroïde des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin).Gx10..... | 121 |
| Figure 45: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : congestion vasculaire des rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3) Gx10..... | 123 |
| Figure 46: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : cellules vacuolisées des rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3) Gx10..... | 123 |
| Figure 47: Coupes histologiques Parenchyme cérébral : infiltration de cellules inflammatoires des rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3) Gx10..... | 123 |
| Figure 48: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : présence de plaque de nécrose avec des fibres nerveuses dégénéréesdes rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3) x10..... | 124 |
| Figure 49: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : fibrose et œdème du cortex des rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3)G x10..... | 125 |
| Figure 50: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : œdème péri cellulaire (spongieuse) des rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3). G x10..... | 125 |
| Figure 51: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux : faible épaisseur de la couche moléculaire des rats wistar (groupe Alcl3). Colorés avec H&E Gx10..... | 126 |
| Figure 52: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux : hyperplasie de la couche des grains des rats wistar colorés avec H&E (groupe Alcl3).Gx10..... | 126 |

| | |
|--|-----|
| Figure 53: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux : infiltration de cellules de la couche moléculaire des rats wistar colorés avec H&E (groupe AlCl ₃).Gx10..... | 127 |
| Figure 54: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : des rats wistar traité à l'acide alpha lipoïque colorés avec H&E (groupe ALA).Gx10..... | 127 |
| Figure 55: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux des rats wistar traité à l'acide alpha lipoïque colorés avec H&E (groupe ALA). Gx10..... | 129 |
| Figure 56: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux des rats wistar traité à l'acide alpha lipoïque+ chlourure daluminium colorés avec H&E (groupe ALA+ALCL ₃).x10..... | 129 |
| Figure 57: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : hyperplasie des cellules pyramidales des rats wistar colorés avec H&E (groupe ala-AlCl ₃)Gx10..... | 131 |
| Figure 58: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : hyperplasie des cellules pyramidales des rats wistar colorés avec H&E (groupe ala- AlCl ₃) Gx 10..... | 134 |
| Figure 59 : Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : hyperplasie des cellules pyramidales et gliales des rats wistar (groupe ala- AlCl ₃) | 134 |

Liste des abreviation

AaL : Acide alphalipoique

LAA: Lipoic acid alpha

ALT: Alanine amino transferase

ANSES : Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail

β -A : Peptide β -Amyloïde

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

Créa : Créatinine

DL50 : Dose Létale 50

DNF : Dégénérescence Neurofibrillaire

DHLA : dihydrolipoique acid

FSH: Hormone stimulant le follicule **Glu** : Glucose

GnRH : Gonadolibérine

H : Heures

H&E : Hématoxyline Éosine

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineuse

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LH : Hormone lutéinisante

Max. : Maximum **Min.** : Minimum **ml** : Millilitre

N : Normal, Azote

Na⁺ : Sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

SC : Sous-cutanée

SNC : Système Nerveux Central

PH : Potentiel d'hydrogène

TG: Triglycéride

x : Moyenne **σ** : écart type **g**: gramm

Résumé

L'Acide α -lipoïque (A α -L) est un composé pléiotropique ayant une valeur pharmacologique potentielle contre une série de maladies physiopathologiques. Ses actions protectrices contre les dommages oxydatifs en piégeant les ROS ont été impliquées dans la neurodégénérescence, en réduisant la production de radicaux libres causés par les métaux lourds notamment l'aluminium (Al) qui traverse facilement la barrière hémato-encéphalique (BHE) et s'accumule dans le cerveau, entraînant des troubles neurodégénératifs, caractérisés par une déficience cognitive. La présente étude porte sur l'évaluation du rôle protecteur de l'acide α -lipoïque contre les effets toxiques induites par $AlCl_3$ chez les rats Albinos Wistar.

L'expérience a été réalisée sur 40 rats femelles répartis en cinq groupes de 8 rats chacun : groupe (A) témoin, groupe 2 traité par le ($AlCl_3$) à raison de (100mg/kg de poids corporel), groupe 3 traité par l'acide alpha lipoïque (A α -L); groupe 4 ($AlCl_3$ + A α -L) traité par le chlorure d'aluminium et l'acide alpha lipoïque (100 mg/kg de poids corporel) au même temps et groupe 5 (A α -L - $AlCl_3$) traité par le l'acide alpha lipoïque après intoxication par le chlorure d'aluminium. Le traitement est poursuivi pendant trois semaines. Les résultats ont montré une augmentation significative (**p=0,001**) du poids corporelle chez les groupes intoxiqué au chlorure d'aluminium par rapport au témoin. Le bilan biochimique a révélé une augmentation significative du glucose sanguin, TGO, TGP proportionnelle à la durée de l'intoxication en comparaison avec le témoin. Pour le bilan hormonal, les taux de la progestérone et de LH montrent une différence significative entre les deux groupes (pubère et pré-pubère), ($p<0,01$). S'agissant des coupes histologiques, les résultats ont montré des altérations graves (l'apparition de lésions cellulaires grave, infiltration des foyers inflammatoires et une dégénérescence tissulaire au niveau de parenchyme hépatique ; avec l'apparition des cloisons fibro-vascularisée entre les corps progestatif au niveau des ovaires). Une diminution de la concentration plasmatique en glucose a été notée chez les groupes traités par l'acide alpha lipoïque et chez les groupes traités par la combinaison $AlCl_3$ et A α -L. L'administration du chlorure d'aluminium a induit une augmentation du taux de l'urée chez les rats femelles à la dose de 100 mg/kg pc ($0,87 \pm 0,08$) par rapport aux lots témoins ($0,68 \pm 0,05$ g/L). Chez le groupe traité par l'A α -L seul, une diminution significative du taux de l'urée est observée par rapport aux autres groupes. Pour le bilan hématologique le chlorure d'aluminium provoque une réduction significative des paramètres tels que les neutrophiles, lymphocytes, basophiles, l'hémoglobine et VGM par rapport aux autres groupes. L'exposition au $AlCl_3$ a provoqué des lésions histopathologiques au niveau du cerveau caractérisées par des destructions cellulaires marquées par des congestions vasculaires + plaque nécrotique + vacuolisation spongieuse et la présence d'œdèmes. Chez les rats traités par l'acide alpha lipoïque, une richesse cellulaire de type (cellules gliales) et le corps de Nissl ont été observés. L'A α -L, en tant qu'un complément alimentaire, a montré un rôle potentiel dans les fonctions cognitives avec une amélioration du système cholinergique possédant ainsi un effet thérapeutique intéressant, ce produit peut être utilisé dans le traitement des troubles neurodégénératifs.

Mots clés: Aluminium ; acide alpha lipoïque ; rats wistar ; histologie; anti-oxydant

Abstract

α -lipoic Acid (A α -L) is a pleiotropic compound with potential pharmacological value against a range of pathophysiological diseases. Its protective actions against oxidative damage by scavenging ROS have been implicated in neurodegeneration, reducing the production of free radicals caused by heavy metals, particularly aluminum (Al), which easily crosses the blood-brain barrier (BBB) and accumulates in the brain, leading to neurodegenerative disorders characterized by cognitive impairment. The present study evaluates the protective role of α -lipoic acid against AlCl₃-induced toxic effects in Wistar Albino rats.

The experiment was performed on 40 female rats in five groups of 8 rats each: control group (A), group 2 treated with (AlCl₃) at (100mg/kg body weight), group 3 treated with alpha lipoic acid (A α -L); group 4 (AlCl₃+ A α -L) treated with aluminum chloride and alpha lipoic acid (100 mg/kg body weight) at the same time and group 5 (A α -L -AlCl₃) treated with alpha lipoic acid after aluminum chloride intoxication. The treatment is continued for three weeks.

The results showed a significant increase ($p=0.001$) in body weight in the aluminum chloride intoxicated groups compared to the control. The biochemical assessment revealed a significant increase in blood glucose, GTT, GPR proportional to the duration of intoxication compared to the control.

For the hormonal assessment, the levels of progesterone and LH showed a significant difference between the two groups (pubescent and pre-pubescent), ($p<0.01$).

For the histological sections, the results showed serious alterations (the appearance of severe cellular lesions, infiltration of inflammatory foci and tissue degeneration at the level of hepatic parenchyma; with the appearance of fibro-vascularized partitions between the progesterone bodies at the level of the ovaries).

A decrease in plasma glucose concentration was noted in the alpha lipoic acid-treated groups and in the AlCl₃ and A combination-treated groups α -L. Administration of aluminum chloride induced an increase in urea levels in female rats at 100 mg/kg bw (0.87 ± 0.08) compared to control lots (0.68 ± 0.05 g/L).

In the group treated with A α -L alone, a significant decrease in urea levels was observed compared to the other groups. For the haematological assessment aluminium chloride causes a significant reduction of parameters such as neutrophils, lymphocytes, basophils, haemoglobin and VGM compared to the other groups. Exposure to AlCl₃ caused histopathological lesions in the brain characterized by cellular destruction marked by vascular congestion + necrotic plaque + spongy vacuolization and the presence of edema. In rats treated with alpha lipoic acid, a rich cell type (glial cells) and nissl body were observed. A α -L, as a dietary supplement, has shown a potential role in cognitive functions with an improvement of the cholinergic system thus having an interesting therapeutic effect; this product can be used in the treatment of neurodegenerative disorders.

Key words: Aluminum ; alpha-lipoic acid ;wistar; rats, histology; anti-oxidant

ملخص

حمض ألفا ليبويك هو مركب متعدد الاتجاهات له قيمة علاجية دوائية محتملة ضد مجموعة من الأمراض الفيزيولوجيا المرضية. إن أفعاله الوقائية ضد الضرر التأكسدي عن طريق محاصرة ROS متورطة في التنكس العصبي ، عن طريق تقليل إنتاج الجذور الحرة التي تسببها المعادن الثقيلة بما في ذلك الألومنيوم (Al) الذي يعبر بسهولة الحاجز الدموي الدماغي (BBB) و يتراكم في الدماغ ، مما يؤدي إلى اضطرابات تنكسية عصبية تتميز بضعف الإدراك. تقيم الدراسة الحالية الدور الوقائي لحمض ألفا ليبويك ضد التأثيرات السامة التي يسببها كلوريد الألومنيوم AICl₃ في جردان ألبينو ويستار . أجريت التجربة على 40 أنثى جرد مقسمة إلى خمس مجموعات كل منها 8 جردان: مجموعة التحكم (A) ، المجموعة 2 المعاملة بكلوريد الألومنيوم AICl₃ بمعدل (100 مجم / كجم من وزن الجسم) ، المجموعة 3 المعاملة بحمض ألفا ليبويك (A α-L) ؛ المجموعة 4 (AICl₃ + A α-L) المعالجة بكلوريد الألومنيوم وحمض ألفا ليبويك (100 مجم / كجم من وزن الجسم) في نفس الوقت والمجموعة 5 تعامل مع حمض ألفا ليبويك بعد التسمم بكلوريد الألومنيوم. يستمر العلاج لمدة ثلاثة أسابيع.

أظهرت النتائج زيادة معنوية (P = 0.001) في وزن الجسم في المجموعات المسمومة بكلوريد الألومنيوم مقارنة بالمجموعة الضابطة. كشف التقييم البيوكيميائي عن زيادة معنوية في نسبة الجلوكوز في الدم ، TGO ، TGP متناسبة مع مدة التسمم مقارنة بالسيطرة. بالنسبة للتقييم الهرموني ، تظهر مستويات هرمون البروجسترون و LH فرقا معنويًا بين المجموعتين محتضن وما قبل البلوغ. (p < 0.01) فيما يتعلق بالأقسام النسيجية ، أظهرت النتائج تغيرات خطيرة (ظهور آفات خلوية خطيرة ، تسلسل بؤر التهابية وتلف الأنسجة في النسيج الكبدي ؛ مع ظهور فواصل ليفية وعائية بين أجسام البروجسترون في المبايض). لوحظ انخفاض في تركيز الجلوكوز في البلازما في المجموعات المعالجة بحمض ألفا ليبويك وفي المجموعات المعالجة بمزيج كلوريد الألومنيوم و حمض ألفا ليبويك تسبب إعطاء كلوريد الألومنيوم في زيادة مستوى اليوريا في إناث الجرذان بجرعة 100 مجم / كجم من وزن الجسم (0.08 ± 0.87) مقارنة بمجموعات التحكم (0 ± 0.68 ، 05 جم / لتر). في المجموعة التي عولجت باستخدام حمض ألفا ليبويك وحده لوحظ انخفاض كبير في مستويات اليوريا مقارنة بالمجموعات الأخرى. بالنسبة لعملية فحص أمراض الدم ، يتسبب كلوريد الألومنيوم في انخفاض كبير في البارامترات مثل العدلات ، والخلايا الليمفاوية ، والخلايا القاعدية ، والهيموغلوبين ، و VGM مقارنة بالمجموعات الأخرى. تسبب التعرض ل كلوريد الألومنيوم في حدوث آفات نسيجية مرضية في الدماغ تتميز بتدمير الخلايا يتميز باحتقان الأوعية الدموية + لويحات نخرية + تراكم إسفنجي ووجود وذمة. لوحظ ثراء نوع الخلية (الخلايا الدبقية) وجسم نيسل في الفئران المعالجة بحمض ألفا ليبويك. أظهر حمض ألفا ليبويك كمكمل غذائي ، دورًا محتملاً في الوظائف الإدراكية مع تحسين نظام الكولين وبالتالي يمتلك تأثيرًا علاجيًا مثيرًا للاهتمام ، ويمكن استخدام المنتج في علاج الاضطرابات التنكسية العصبية.

الكلمات الأساسية: الألومنيوم ؛ حمض ألفا ليبويك ؛ فئران ويستار ، الأنسجة ، مضاد للأكسدة



Introduction Générale

Introduction générale

L'exposition à des composés contenant de l'aluminium (Al) est très courante dans la vie quotidienne car il est largement distribué dans l'environnement du aux applications industrielles **(Verstraeten SV et al ,2008)**

La pénétration de l'Al dans les tissus est un problème majeur car une fois localisé, il peut rester dans le corps pendant de nombreuses années **(Priest ND,et al.1998)**. En 1978, Ward et al. ont signalé que la toxicité de l'aluminium est un problème pour les patients dialysés souffrant d'insuffisance rénale chronique, qui est généralement liée à l'encéphalopathie de dialyse et aux troubles métaboliques. Sinon, l'exposition à des quantités relativement importantes de Al peut se produire à la suite d'une ingestion orale d'aliments tels que le fromage jaune, les produits céréaliers (farine), le sel et les épices, le thé et les feuilles de légumes, les ustensiles de cuisine, les cosmétiques et les récipients **(Türkez H,et al.2010)**.

En outre, l'aluminium est présent dans l'eau potable en raison de la contamination des eaux usées **(Malekshah AK,et al.2005)**. Les sels d'Al dans un organisme peuvent ne pas avoir d'impact prooxydant direct car cet élément n'est pas un métal de transition. Néanmoins, Al peut induire des lipides la peroxydation dans le corps **(Ozkaya A, et al .2010)**.

α -L'acide lipoïque (AL) peut être apporté dans l'organisme par synthétiser de novo ou l'apport alimentaire**(Carreau JP.1979)**. AL est généré par la contribution de deux atomes de soufre au groupe octanoyle à partir de l'acide octanoïque dans les mitochondries, et il est situé dans les cellules de mammifères qui ont un grand nombre de mitochondries et une grande activité comme le foie, le cœur, et testicule **(Morikawa T,et al .2001)**. Cette molécule est convertie en acide dihydrolipoïque (DHLA) par le dihydrolipoamide mitochondrial la déshydrogénase et la glutathion réductase cytosolique systèmes enzymatiques **(Pick U, et al.1995)**.

La DHLA peut agir comme un puissant réducteur agent pouvant interagir avec le glutathion oxydé et d'autres antioxydants oxydés tels que la vitamine E et la vitamine C **(Moini H, et al.2002)**. En plus de ses propriétés de piégeage des radicaux, la vitamine C le DHLA et LA ont tous deux un rôle important dans la désintoxication en raison de la capacité de chélation des différents métaux lourds **(Ou P et al., 1995)**.

Une exposition à long terme à l'Al et à d'autres métaux lourds peut produire de nombreuses altérations métaboliques et fonctionnelles dans le foie, car il est le principal organe de détoxification de l'organisme.

L'objectif de cette etude est de :

D'étudier l'effet protecteur possible de l'acide alpha-lipoïque chez des rattes albinos intoxiquée par le chlorure d'aluminium.

Notre thèse repose sur trois axes principaux :

- Le premier objectif est d'évaluer les perturbations hématologiques, biochimiques, et hormonales ainsi que la modification histologique chez des rattes intoxiquées par l'aluminium.
- Le second objectif est d'examiner l'impact de la supplémentation de complément alimentaire en acide alpha lipoïque sur la variation des paramètres biologiques chez des rattes intoxiquées par l'aluminium.



Chapitre I

Chapitre I : ALUMINIUM

1. Histoire de l'aluminium

L'aluminium n'a été isolé qu'au milieu du XIXe siècle. En ce sens, c'est un métal "jeune" comparé au fer, au cuivre ou à l'or, connus depuis l'antiquité.

1782- Antoine Lavoisier, créateur de la chimie moderne, soupçonne que dans la croûte terrestre abonde un oxyde d'un métal inconnu

1807- Humphrey Davy (Grande-Bretagne) propose le nom ALUMIUM pour le métal (**Lanthony, 1960**). Ce nom plutôt difficile à prononcer est bientôt remplacé par aluminium et plus tard le mot aluminium est adopté par l'union internationale des chimistes purs et appliqués afin de se conformer à la fin d'"ium" de la plupart des éléments (**IAI 2000 ; Lanthony., 1960**).»

1821: P. Berthier (France) découvre une argile dure, rougeâtre, contenant 52% d'oxyde D'aluminium près du village des Baux en France méridionale qu'il appelle bauxite. C'est le Minerai le plus commun de l'aluminium.

1825: Hans Christian Oersted (Danemark) produit de petites quantités d'aluminium purifié (Edwards et al.1930).

1846 : Le chimiste Henry Sainte Claire Deville met au point la première méthode permettant D'isoler l'aluminium métallique en assez grande quantité.

1884- William Frishmuth place une pyramide de 2,80 kg d'aluminium couronnant le monument de Washington. Ce constituait le plus grand objet en aluminium pur de l'histoire, étant le prix du métal à l'époque similaire à l'or et l'argent.

1886- Charles Martin Hall y Paul L.T. Héroult découvrent séparément et presque simultanément un procédé d'électrolyse économiquement viable pour obtenir aluminium à partir de l'alumina.

1889- Karl Josef Bayer trouve un processus pour extraire l'alumina à partir de la bauxite. Comme conséquence, les prix de l'aluminium commencent à baisser considérablement et apparaissent les premières applications.

1960- commence à recycler l'aluminium, puisque le coût de recyclages est un 95% inférieur au prix de son extraction de la bauxite. (**Kerr, 1969**).

2 Présence de l'aluminium dans notre environnement.

L'Al est le métal le plus présent dans notre environnement et le troisième élément le plus abondant de la croûte terrestre. L'Al est très réactif et n'est jamais rencontré sous forme libre dans l'environnement, il est toujours couplé à d'autres éléments tels que l'oxygène, le silicium ou le fluor.

L'aluminium est stocké dans les milieux naturels, peut être mobilisé par les pluies acides et être rejeté dans l'air par les procédés industriels. D'autres utilisations conduisent à la présence d'Al dans l'eau potable ou les denrées alimentaires (*Krewski et al., 2007*). Ce composé chimique est retrouvé dans le sol, les minéraux, les roches, et les Terrains argileux.

2.1. L'air

L'Aluminium est présent sous forme de nanoparticules de silicates, d'oxydes et d'hydroxydes. Ces particules ne peuvent être oxydées, ce qui exclut toute transformation chimique lors de leur transport atmosphérique. La majorité de ses particules est associée encore à des microparticules de diamètre $> 2\mu\text{m}$ et ce qui explique le fait qu'elles soient déposées au sol à proximité de la source d'émission

(**Jean-Paul Virapoullé, 2010**)

2.2. L'eau

L'Al élémentaire est insoluble dans l'eau et est considéré comme amphotère du

fait du comportement de ses complexes hydroxyliques :

$\text{PH} < 4$: Complexe hydraté $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})^{63+}$;

$5 < \text{pH} < 6$: $\text{Al}_2(\text{OH})^{24+}$, $\text{Al}(\text{OH})^{52-}$; l'Aluminium peut être également dans ce cas complexé par les phosphates

$5.2 < \text{pH} < 8.8$: forme insoluble $\text{Al}(\text{OH})^3$;

$\text{PH} > 9$: $\text{Al}(\text{OH})^4$ seule espèce présente à $\text{pH} > 10$.

2.3. Le sol

Dans les sols l'Aluminium entre dans la composition de nombreux minéraux. L'acidification du milieu contribue à la solubilité de l'Aluminium. Les formes les plus solubles de l'Aluminium dans un sol acide sont les complexes organiques en l'absence de silice. La présence d'argile peut modifier la mobilité de l'Al par les réactions d'absorption ou de désorption de cet élément à la surface des microparticules (**Jean-Paul,2010**)

Tableau 1. Concentrations moyennes de l'Aluminium dans l'environnement (Nagler et al., 2009)

| Mili eu | | Concentration |
|-------------|------------------------|----------------------------------|
| Air | | 5 à 180 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ |
| eau | – eau de mer | < 0.1 mg/L |
| | – eau souterraine | <1 $\mu\text{g}/\text{L}$ |
| | – eau douce de surface | <100 $\mu\text{g}/\text{L}$ |
| Sols | | 0.7 à 100 g/Kg |

3. LES APPORTS

Les apports d'aluminium sont principalement assurés par l'environnement, les produits alimentaires, et les eaux (*Who, 1997 ; Scacar, 2004*). La principale source aluminium ingéré par l'homme correspond aux aliments (57%). Trente huit pourcent de l'aluminium ingéré est apporté par les additifs alimentaires tels que colorants, les raffermissant, les levants et autres adjuvants, à base de sel d'aluminium soluble, que contiennent par exemple les fruits confits, les préparations à base de blanc d'œuf, la saumure, le vinaigre, les cornichons ou certains fromages (*Arruda, 1994*).

3.1. Apports quotidiens

Les apports journaliers d'aluminium par l'alimentation varient selon les études, en relation avec les concentrations présentes dans l'environnement, l'eau de boisson, les aliments et leur Préparation.

L'essentiel de l'aluminium consommé provient d'aliments et de boissons autres que l'eau pure, notamment, les aliments transformés, les produits de boulangerie (l'aluminium est utilisé pour stabiliser la levure chimique et la farine), et les boissons fermentées (*Harasick, 1995 ; Scott, 2003*). La répartition des apports quotidiens d'aluminium en fonction des sources (*Buclez, 1997*) est représentée sur la figure 1 :

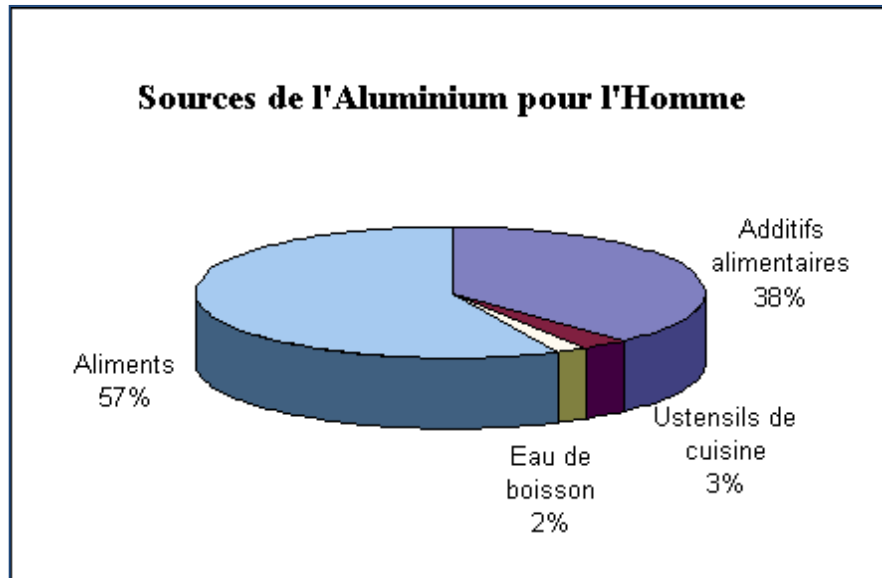


Figure 1 : Sources de l'aluminium pour l'homme (Buclez, 1997)

3.2. Apport par l'environnement

L'aluminium est le 3^{ème} élément minéral le plus répandu dans la croûte terrestre après la silice. Il est donc omniprésent dans l'environnement. Puisque l'aluminium est omniprésent dans l'environnement et est utilisé dans divers produits et procédés, il est inévitable que la population y soit exposée quotidiennement (*Jones et Bennett., 1985*).

Tableau 2 : Données sur des concentrations courantes en aluminium dans l'environnement (*Jones et Bennett, 1985*)

| Environnement | Concentration de l'aluminium |
|--------------------|------------------------------|
| Air urbain | 160-7000 ng/m ³ |
| Air rural | 150-325 ng/ m ³ |
| Sol agricole | 10 000-300 000 mg/kg |
| Eau douce | 1-2250 µg .L-1 |
| Océan (dissous) | 1-5 µg .L-1 |
| Plantes terrestres | 50-600 mg/kg |

On ne le trouve jamais, dans la nature sous forme métallique, mais toujours combiné avec d'autres éléments, notamment avec l'oxygène sous forme d'oxyde d'aluminium anhydre ou hydraté, ou de microcristaux d'aluminosilicates (*Buclez., 1997*). Jones et Bennett (1985) ont récapitulé les données sur des concentrations en aluminium dans l'environnement (tableau 2).

3.3. Apports par l'eau

Les concentrations en aluminium des eaux douces de surface peuvent varier de manière significative, en fonction des divers facteurs physico-chimiques, minéralogiques et Environnementaux (*Who, 1997*).

L'aluminium est présent sous différentes formes dans l'eau douce, en suspension ou dissous. Il est lié avec des ligands organiques, des ligands inorganiques ou sous forme d'ion libre Aluminium. Il peut exister comme monomère dans l'eau normale, mais il a tendance à se Polymériser en fonction du temps. (*Gauthier et al., 2000*),

La spéciation de l'aluminium est déterminée par le pH, les concentrations en carbone organique dissous le fluorure, le sulfate, le phosphate, le silicate et les particules en suspension (*Bérubé et al., 1999*)

3.4. Apports par les aliments crus

La plupart des aliments contiennent naturellement moins de 0,5mg/100g d'aluminium (tableaux 10 à 15). Les aliments les plus riches en aluminium sont les coquillages et certains aliments d'origine Végétale comme le basilic, les épinards, les lentilles et surtout le thé qui accumule ce métal au Niveau de ses feuilles et la levure alimentaire (*Scott, 2003*). Certaines épices et fines herbes, ont de hautes teneurs en aluminium (*Eaa, 2001*). En revanche, les viandes n'en contiennent que très peu. Chaque jour, une personne en absorbe environ 10mg par l'alimentation. La teneur en Al dans différents types d'aliments (*Rao, 1993*) est présentée dans les tableaux suivants :

Tableau 3: Teneur en Al de différents types de légumes (Rao, 1993)

| Légumes | Teneur en Aluminium en mg/100g |
|-----------------|---------------------------------------|
| Pommes de terre | 0,09± 0,01 |
| Concombre | 0,09±0,009 |
| Chou | 0,02±0,008 |
| Haricots | 0,09±0,012 |
| Chou-fleur | 0,08±0,018 |
| Petits pois | 0,19±0,009 |

Tableau 7 : Teneur en Al dans différents types de produits animaux (Rao & Rao., 1993)

| produits animaux | Teneur en Aluminium en mg/100g |
|-------------------------|---------------------------------------|
| Lait | 0,06 ± 0,01 0,02 ± 0,008 |
| Fromage | 0,2 ± 0,08 |
| Œufs | 0,085 ± 0,009 |

Tableau 4 : Teneur en Al de différents types d'épices et d'herbes Fruits Teneur en aluminium en mg/100g (Rao & Rao., 1993)

| Epices et herbes | Teneur en Aluminium en mg/100g |
|-------------------------|---------------------------------------|
| Cannelle | 0,06 ± 0,01 |
| Clou de girofle | 0,02 ± 0,005 |
| Coriandre | 0,04 ± 0,008 |
| Moutarde | 0,02 ± 0,009 |
| Poivre | 0,081 ± 0,02 |
| Safran des indes | 0,060 ± 0,01 |

Tableau 5 : Teneur en Al dans différents types de fruits (Rao & Rao., 1993)

| Fruits | Teneur en Aluminium en mg/100g |
|---------------|---------------------------------------|
| Orange | 0,04 ± 0,002 |
| Raisin | 0,05 ± 0,008 |
| Pomme | 0,08 ± 0,006 |
| Mangue | 0,03 ± 0,008 |

Tableau 6 : Teneur en Al dans différents types de boissons (Rao, 1993)

| Boissons | Teneur en Aluminium en mg/100g |
|-----------------|---------------------------------------|
| Cacao | 0,03 ± 0,009 |
| Thé | 25,0 ± 2,2 |
| Café | 0,08 ± 0,01 |
| Eau potable | 1,5 ± 0,42 |

3.5. Apports par les ustensiles et les emballages

Il existe une contamination des aliments par contact, c'est à dire que l'aluminium peut également s'introduire dans la nourriture à partir des casseroles, des ustensiles de cuisine et des emballages (rouleaux ménagers de papier d'aluminium pour protéger les aliments mis au réfrigérateur ou des barquettes du même métal Pour des plats destinés à être mis au four). (*Rajwanshi, 1997 ; Semwal et al., 2006 ; Karbouj, 2007*).

Les apports à partir des aliments cuits dans des casseroles en aluminium, ou à partir des feuilles d'aluminium ou des boîtes boissons, est presque négligeable normalement, de l'ordre

De 0,1 mg/jour (*Eaa, 2001*).

La seule exception concerne des aliments très acides ou très salés s'ils sont cuisis pendant de très longues périodes dans des ustensiles en aluminium non revêtus. Certains laits pour nouveau-nés renferment de l'aluminium et peuvent représenter une source de contamination pour les enfants (*Arruda, 1994; Fernandez et al., 1999*).

Dans l'alimentation normale, l'apport journalier d'aluminium est estimé de 2 à 14 mg, selon le type d'alimentation et l'âge (**tableau 6**). Des apports de 2 à 6 mg/jour sont usuellement observés chez les enfants et atteignent de 6 à 14 mg/jour pour des adolescents et des adultes.

Les sources principales à ces apports d'aluminium sont les grains et leurs dérivés, les produits Laitiers, les desserts et les boissons. (*Greger et al., 1985*)

La consommation d'autres aliments contenant des niveaux élevés d'aluminium (par exemple les épices, les herbes, et les concombres marinés) peut également considérablement augmenter les apports d'aluminium (*ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1985 ; Havas and Jaworski, 1986 ; Sorenson et al., 1974*)

3.6. Apports par les additifs alimentaires

Pour les denrées transformées ou en conserves, l'aluminium présent peut provenir de l'ajout d'additifs alimentaires.

Il existe 11 additifs alimentaires à bases de sels d'aluminium autorisés en France. Leurs usages et quantités sont définis par l'arrêté du 2 octobre 1997 relatifs aux additifs pouvant être employés dans la fabrication de denrées destinées à l'alimentation humaine. Cet arrêté fait suite aux directives européennes 94/35/CE et 95/2/CE.

L'Annexe 5 précise le nom, les quantités maximales autorisées et les aliments dans lesquels on peut les trouver. Les additifs alimentaires à base d'aluminium sont principalement utilisés comme (*Pennington et Schoen, 1995*):

- Colorants (E 173 : aluminium métallique)
- Antiagglomérants (E 554 : silicate alumino-sodique, E 555 : silicate alumino- potassique, E 556 : silicate alumino-calcique, E 559 : silicate d'aluminium)
- Agents affermissant et épaississants (E 520 : sulfate d'aluminium, E 521 : sulfate d'aluminium sodique, E 522 : sulfate d'aluminium potassique)
- Correcteur de pH (E 523 : sulfate d'aluminium ammonique)
- stabilisant (E 541 : phosphate d'aluminium sodique).

Parmi ces additifs, les 5 plus utilisés sont : E 523, E 541, E 554, E 556 et E 559. Et dans les aliments fabriqués par l'industrie agroalimentaire, ces additifs vont rentrer dans la composition (*Graves et al., 1990*).

- Des produits secs comme les poudres de lait et lactosérums
- Des fruits et légumes cristallisés et glacés pour les pâtisseries, cake et glaces
- Des génoises de biscuits et pâtisseries.

3.7. Apports par les produits médicamenteux et cosmétiques

L'aluminium connaît aussi des usages médicaux et paramédicaux puisque l'hydroxyde d'aluminium et le phosphate d'aluminium colloïdal sont employés dans les préparations anti-acides et anti-diarrhéiques. Des sels d'aluminium sont également ajoutés aux dentifrices fluorées afin d'améliorer les propriétés de polissage. On l'utilise en poudre ou en feuilles pour

la thérapeutique des brûlures ou des plaies à cause de ses propriétés cicatrisantes (*Lione, 1985 ; Alfrey, 1976 ; Alfrey, 1978 ; Grinberg, 2003 ; Lanthony., 1960*).

L'aluminium est également présent en quantité importante dans le tabac et diverses drogues telles que le cannabis (*Exley et al., 2006*). Malgré cela, les plus fortes doses d'intoxication par voie orale proviennent des traitements médicamenteux. En effet, Les antiacides visant à traiter l'hyperacidité gastrique sont composés de 104 à 208 mg d'Al hydroxyde par comprimé ou capsule (*Zhou and Yokel, 2005*).

Une étude de Lione a également déterminé les concentrations d'Al dans les comprimés de plusieurs traitements. Ainsi il y a de 9 à 52 mg d'Al dans l'aspirine tamponnée, 36 à 1 450 mg d'Al dans l'anti diarrhéique, et 207 mg d'Al pour un médicament antiulcéreux.

La posologie journalière potentielle en Al peut donc varier de 126 à 5000 mg en fonction du traitement suivi (*Lione ,1985*).

3.8. Les vaccins

L'aluminium est utilisé dans les vaccins comme adsorbant et comme adjuvant pour stimuler l'immunité. Autrement dit, un adjuvant sert à améliorer l'efficacité d'un vaccin. Il faut noter que seuls les vaccins inactivés contiennent des adjuvants. Les vaccins vivants atténués n'ont pas besoin d'adjuvant car ils gardent leur capacité à stimuler le système immunitaire. Actuellement, sur les 51 vaccins inactivés commercialisés en France, 31 contiennent des sels d'aluminium soit environ 60% (*Hem,2020*)

Bien que l'utilisation des sels d'aluminium comme adjuvants soit inscrite à la pharmacopée depuis 1926, on ne connaît toujours pas précisément leur mécanisme d'action.

selon les études, les adjuvants agiraient à plusieurs niveaux de la réponse immunitaire mise en jeu lors d'une vaccination. (*Verdier et al., 2005*)

Tout d'abord, ils induiraient un "effet dépôt" au site d'injection. C'est-à-dire que l'adjuvant va libérer progressivement les antigènes contenus dans le vaccin (et donc limiter la réaction inflammatoire au site d'injection). Cette libération s'effectuerait en six à sept semaines selon d'anciennes études. Mais cette durée est maintenant contestée par d'autres études plus récentes qui ont montré que 80% des antigènes sont libérés en quelques heures et que la totalité des antigènes est libérée au plus tard en sept jours.

cette libération progressive n'augmenterait pas le recrutement ni l'activation des cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques ici) et donc n'influerait pas sur la réponse immunitaire déclenchée par la vaccination (*Siergrist, 2005*). Comme on le voit sur la Figure 14, une fois que l'antigène est couplé à différents types de récepteurs (PRR, TLR, NLR ou RLR suivant le type d'antigène), il va rentrer dans la cellule, être découpé en peptides afin d'activer les CMH (Complexe Majeur Histocompatibilité) de type 2. (*Flarend et al., 1999*)

3.9. Cosmétiques :

L'aluminium entre dans la composition de nombreux produits cosmétiques. Il est utilisé pour diverses fonctions :

- anti transpirant dans les déodorants
- Abrasif dans les produits dentaires et les produits pour le visage et le corps
- Agent de viscosité dans les produits de soins et de maquillage
- absorbant dans les masques pour le visage.

L'aluminium entre dans la composition d'un grand nombre de produits cosmétiques sous forme de sels et dérivés solubles (catégorie directe) ou insolubles (catégorie indirecte) susceptibles de libérer l'aluminium par réaction chimique ou peuvent contenir réglementairement (directive, 76/768/CEE) 20 % de sels solubles d'Al.

Les produits pour soins du visage et soins du corps représentent les plus grands chiffres de vente, mais leur teneur en sels d'aluminium solubles (2 % et 1 %) est bien inférieure à celles des antiperspirants. (*Darbre, 2006*)

Sur la base d'une application de 0,5 g/j de produit antiperspirant (Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation-SCCNFP 10/2000), les experts de l'Afssaps ont estimé qu'une utilisation journalière d'antiperspirants pouvait correspondre à une application de 100 mg d'Al sur la peau. (*Exley et al., 2007b*)

Les antiperspirants, ces déodorants qui limitent la sudation, renferment pour la plupart environ 20 % de chlorure d'aluminium. Récemment, l'équipe du professeur Creppy, a découvert, en testant ce type de produit sur des souris, que l'aluminium absorbé par la peau pénètre très facilement dans l'organisme (*Anane et al., 1995*).

Un danger réside également dans l'utilisation de déodorant en spray. En effet dans le cas d'inhalation accidentelle du contenu de ces produits, l'aluminium peut alors, dans ce cas, directement accéder au cerveau par la voie nasale (*Anane et al., 1995*). Les produits personnels de soin sont les contributeurs potentiels à la charge du corps de l'aluminium et l'évidence récente a lié le cancer de sein avec les antiperspirants basés en *aluminium* (*Darbre, 2005 ; Darbre, 2006 ; Exley et al., 2007b*).

4. Métabolisme de l'aluminium dans l'organisme humain

L'aluminium peut être absorbé par plusieurs voies :

4.1. Absorption respiratoire

La voie respiratoire est systématiquement décrite comme une voie mineure d'exposition à l'aluminium. L'aluminium peut être absorbé à partir de l'air par le nez et la bouche. En situation normale, les poumons reçoivent en continu de l'aluminium, majoritairement sous forme de particules de silicates et autres composés faiblement solubles.

Une partie des particules contenant de l'aluminium qui se déposent au niveau du tractus respiratoire est repoussée par action mucociliaire. Ces particules sont mélangées à la salive, dégluties, et rejoignent alors le tractus digestif. Il a été suggéré qu'une partie de l'aluminium inhalé pouvait également être absorbé à travers le système olfactif et atteindre par transport axonal le cerveau. Selon Van Oostdam et al. (*Roberts ,1986 ; Exley et al., 1996*).

la fraction de particules d'aluminium effectivement retenue dans les poumons serait de 35 % de la quantité totale inhalée. Une petite fraction, environ 4,5 % du dépôt dans le poumon, serait dissoute et pénétrerait le flux sanguin. Au total, la fraction absorbée à partir du poumon serait de l'ordre de 1 à 3 %. (*Yokel et Mcnamara, 2001*).

L'aluminium s'accumule alors principalement dans les voies respiratoires (*Voisin et al., 1996*) et dans les poumons, y créant de la fibrose (*Jederlinic et al.,1990*) Il peut aussi provoquer des symptômes nerveux comme des maux de tête, de l'irritabilité, des insomnies et des troubles de concentration (*Sinczuk et al.,2003*)

Des pesticides contenant de l'aluminium peuvent aussi provoquer des intoxications par inhalation. L'un deux, le phosphore d'aluminium, utilisé contre les rongeurs, s'avère être particulièrement toxique.

Une exposition aiguë à ce produit provoque des anomalies du taux de sucre sanguin (*Abder-rahman, 1999*), une chute du magnésium sanguin (*Singh ,2000*), les troubles du rythme cardiaque (*Siwach et al., 1998*) et bien souvent la mort (*Abder-rahman et al.,2000*). La toxicité du produit provient de l'aluminium qui s'accumule dans le sang, le foie et le cerveau et de la phosphine, gaz toxique libéré lors de l'emploi de ce pesticide (*Anger et al., 2000*). L'aluminium contenu dans l'air est capable également, par la voie nasale, de passer directement dans le cerveau en suivant le trajet du nerf olfactif (*Perl et Good, 1987*)

4.2.Absorption cutanée

L'absorption cutanée de l'aluminium a été peu étudiée. L'aluminium est facilement absorbé par la peau. Cela se produit notamment lors de l'usage de produits anti-sudorifiques contenant de l'aluminium. Utiliser quotidiennement ces produits multiplierait la probabilité de développer une maladie de type Alzheimer. (*Graves a et al., 1990*)

L'aluminium peut être absorbé par la muqueuse rectale lors de l'emploi de suppositoires, la muqueuse vaginale et vésicale peut également absorber l'aluminium. Elles peuvent causer de sérieux problèmes. (*Lione, 1985*)

L'aluminium peut aussi entrer en contact avec un autre tissu, le tissu osseux, qui n'est ni la peau,

ni une muqueuse. C'est le cas en chirurgie osseuse, lors de l'utilisation de prothèses métalliques contenant de l'aluminium. Elles peuvent être mal tolérées, créer une inflammation et, par libération de l'aluminium de la prothèse, provoquer des perturbations biologiques (*Zaffe et al., 2004*).

La voie cutanée représente une part importante de l'apport quotidien en aluminium. Comme on l'a vu en 2.2.4, l'exposition quotidienne à l'aluminium est de 428 µg/kg de poids corporel. Il a été mis en évidence que l'absorption cutanée de l'aluminium va varier en fonction du type de peau. Elle sera beaucoup plus importante pour une peau lésée que pour une peau saine. Ainsi, pour ce dernier type de peau la biodisponibilité sera de 0,5% alors que pour une peau lésée elle sera de 18%. Cela conduit donc à une exposition systémique quotidienne comprise entre 2,1 et 75 µg/kg de poids corporel (*Perl et Good, 1987*). Cependant les études disponibles sont peu nombreuses et son évaluation se heurte à l'absence d'une méthode normalisée. La seule étude disponible chez l'homme basée sur l'application de chlorhydrate d'aluminium (principe actif de nombreux antiperspirants) indique une fraction d'absorption de 0,012 %.(*Flarend et al., 2001*)

4.3. Absorption digestive

L'absorption digestive de l'aluminium est faible chez le sujet sain et elle est influencée par la présence d'aliments dans le tractus digestif : inférieure à 1 % chez le sujet à jeun, elle est d'environ 0,5 % lorsque le sel d'aluminium est administré peu de temps après une prise alimentaire (*Lauwerys, 2001*).

L'ingestion d'aliments constitue environ 95 % des apports quotidiens. L'absorption de l'aluminium est influencée par de nombreux facteurs : pH, spéciation, effet matrice, facteurs physiopathologiques.

Ainsi, la présence de citrate dans les aliments ou les boissons augmente l'absorption de l'aluminium, contrairement au phosphate ou à la silice qui, en formant des complexes, même à un pH faible, rendent l'aluminium moins disponible. Cependant, la fraction d'absorption reste le plus souvent très faible, dans une fourchette de 0,01 à 1 % (*Priest et al., 1998; Dinman, 2001 ; Oehha, 2001*).

La biodisponibilité de l'Al présent dans l'eau potable et les aliments varie de 0,1 à 1 %. Elle peut être 10 à 100 fois plus faible pour les médicaments à forte dose). Les concentrations d'aluminium dans les aliments varient largement selon leur nature (0,007 – 69,5 mg / 100 g), (*Stauber et al., 1998*) La quantité d'aluminium ingérée provient pour 95 % des aliments et pour 5 % de l'eau de boisson. En Europe on a calculé que, pour les adultes, l'eau de boisson apportait moins de 5 % de la quantité totale d'aluminium absorbée par la bouche.

Mais l'aluminium dissout dans l'eau se trouve sous une forme particulièrement bio disponible, très facilement absorbée par les muqueuses digestives (*Sante canada. 1996*).

L'aluminium ne passe pas dans le sang quand il est dans l'estomac (*Froment et al., 1989*). Dans l'intestin la plus grande partie de l'aluminium prend une forme insoluble et sera donc éliminée par les selles. Seule la petite partie d'aluminium liée aux molécules organiques des sucs de l'estomac est capable de rester soluble dans le milieu alcalin de l'intestin grêle. Cette partie reste donc disponible pour passer dans le sang à travers la paroi intestinale (*Reiber et al., 1995*).

4.4.L'injection

Une autre voie d'absorption de l'aluminium est l'injection : voie intraveineuse lors de perfusions, voie intramusculaire ou sous-cutanée pour certains médicaments. L'injection d'un vaccin contenant de l'aluminium constitue un apport d'aluminium qu'il ne faut pas sous-estimer (*Froment et al., 1989*).

4.4.1. Voie intramusculaire

La voie intramusculaire (IM), par l'intermédiaire de la vaccination, est également une voie d'exposition à l'aluminium. L'absorption systémique des adjuvants par voie IM a été peu étudiée chez l'homme pour le moment. (*Gupta et Siber , 1995*)

Les résultats que l'on retrouve dans la littérature sont des extrapolations des valeurs obtenues chez les animaux. Ainsi, l'étude réalisée en 1997 par Flarend et ses collaborateurs sur des lapins auxquels ils ont administré 0,85 mg de phosphate ou d'hydroxyde d'aluminium marqué à l'aluminium. (*Goto et al., 1997*).

Cette étude, qui fait référence jusqu'à maintenant, a mesuré sur 28 jours les valeurs d'aluminium marqué retrouvé dans le sang, les urines et les organes. Il a dans un premier temps été observé que l'aluminium s'absorbait très rapidement car en moins d'une heure, l'aluminium (des deux sels) était présent dans le sang. Au cours du premier jour, l'absorption systémique de l'hydroxyde d'aluminium était plus importante que celle du phosphate d'aluminium, mais à partir du deuxième jour ils ont noté que c'était l'inverse. De plus, il est apparu que les concentrations systémiques d'aluminium étaient stables sur toute la durée de l'étude. Cela indique que l'absorption de l'aluminium est lente et relativement constante. Au bout des 28 jours, ils ont observé que 51% de l'aluminium injecté à partir du phosphate a été absorbé alors que seulement 17% de l'hydroxyde d'aluminium a été absorbé pour l'adjuvant hydroxyde. (Giannini et al.,2006)

La distribution tissulaire est strictement identique pour les deux sels. Elle va en décroissant du rein \leq rate \leq foie \leq coeur \leq ganglion lymphatique \leq cerveau. D'un point de vue quantitatif, il s'aperçoit que les concentrations moyennes, observées dans chaque tissu, à partir du phosphate d'aluminium sont presque 3 fois supérieures à celles observées pour l'hydroxyde d'aluminium (ce qui paraît logique au vu de la différence de biodisponibilité de ces deux sels). (*Aggerbeck et Heron, 1995*)

ils ont observé chez ces lapins une élévation de 2 $\mu\text{g/L}$ pour les deux adjuvants. Cela correspondrait chez l'Homme à une augmentation de 0,04 $\mu\text{g/L}$, soit 0,8% de la valeur normale (5 $\mu\text{g/L}$ (*Cox et Coulter, 1997*))

Pour les auteurs de cette étude, cette très faible augmentation de l'aluminium systémique montre "qu'il est peu probable que l'aluminium apporté par les vaccins ait une influence significative sur le risque d'exposition à l'aluminium en général et que ceci explique la sécurité réelle des adjuvants aluminiques" (*Begue et al., 2012*).

Chez les nourrissons, le calendrier vaccinal recommande un nombre important d'injection entre l'âge de 0 et 12 mois. Plusieurs études ont essayé de voir si à cette fréquence d'administration, il n'y avait pas un risque de dépasser la dose maximale recommandée (comme il n'y en a pas de spécifique, toutes les études se sont basées sur la DHTP par voie orale de 1mg/kg de poids corporel). L'étude la plus récente date de 2011 et a été réalisée par Mitkus et ses collaborateurs. Elle montre que la charge corporelle en aluminium qui est apportée par les vaccins pendant cette période de la vie est tout le temps inférieure de 50% à la DHTP et ceci quel que soit l'âge du nourrisson et le sel d'aluminium utilisé comme adjuvant.

Ainsi, ces auteurs estiment que "les vaccins injectés aux nourrissons et prévus par le calendrier vaccinal exposent à un risque très inférieur à la dose de sécurité minimale actuellement définie pour l'alimentation des nourrissons" (*Begue et al., 2012*)

4.5. Distribution et accumulation

L'absorption de l'aluminium dépend de la spéciation (ou espèce chimique), de la solubilité du composé dans le milieu biologique considéré (les sels hydrosolubles étant généralement les mieux absorbés) ainsi que de la granulométrie du composé.

Chez l'Homme, 99% de l'aluminium sanguin va se retrouver dans le plasma en moins de 24 heures.

Une fois absorbé dans la circulation sanguine l'aluminium va se lier de façon préférentielle à certaines protéines plasmatiques, la transferrine (80%), à l'albumine (10%) ainsi qu'aux protéines de bas poids moléculaire (10%). En fonction du couple formé, la distribution ne sera pas la même.

Dans les tissus, l'aluminium est presque toujours associé au fer. Environ 60 p. cent se lient à la transferrine, 34 p. cent à l'albumine et le reste au citrate dans le sérum sanguin humain normal (*Fatemi et al., 1991*)

La transferrine peut constituer un moyen de transport de l'aluminium dans différents organes, car la distribution régionale dans le cerveau du gallium- 67, un marqueur pour l'aluminium, est similaire à celle des récepteurs de la transferrine. (*Pullen et al., 1990*)

La charge totale en aluminium du corps humain est généralement comprise entre 30 et 50 mg.

Dans les tissus des mammifères, les niveaux d'aluminium les plus élevés se trouvent dans le squelette, les poumons, les reins, la rate et les glandes thyroïde et parathyroïde. L'expérience avec les dialysés a montré que l'aluminium pouvait s'accumuler dans le squelette et le cerveau (*Crappier et al., 1980 ; Zumkley et al., 1987*). Altmann et ses collègues ont signalé que les niveaux normaux d'aluminium dans le sang humain se situent entre 1 et 16 µg/L.52. (*Altmann et al., 1987*). L'accumulation d'aluminium dans les tissus varie avec le sel d'aluminium administré, avec l'espèce étudiée et avec la voie d'administration, ainsi qu'avec l'âge, la fonction rénale, l'état de santé et des facteurs alimentaires (*McNamara.,1988 ; Greger, J.L., 1993*).

Dans le cerveau, les niveaux d'aluminium augmentent avec l'âge, et on trouve les niveaux les plus élevés dans la matière grise. Même chez les personnes qui ont une fonction rénale normale, l'ingestion d'antiacide contenant de l'aluminium peut occasionner une hausse des niveaux dans le cerveau d'un niveau normal de 0,6 µg/g de poids frais à un niveau de 1,1 µg/g de poids frais (*Zumkley et al., 1987*).

Dollinger et ses collègues ont constaté des niveaux élevés d'aluminium dans le cerveau (1,05 µg/g de poids frais ou 5,25 µg/g de poids sec) de 10 patients auxquels ils avaient administré 70 mL par jour d'un antiacide à forte teneur en aluminium pendant 10 jours, par rapport à 10 patients (aluminium dans le cerveau : 0,412 µg/g de poids frais ou 2,60 µg/g de poids sec) auxquels ils avaient administré une quantité égale d'antiacide à faible teneur en aluminium pendant 10 jours . Le niveau moyen d'aluminium dans le tissu du cerveau de 20 témoins était de 0,583 µg/g de poids frais (*Dollinger et al., 1986*).

4.6.Élimination de l'aluminium dans l'organisme

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

4.7.Niveaux d'aluminium dans l'organisme

Chez la plupart des individus, la concentration sérique ou plasmatique du métal est inférieure à 5-10 ug/l. (*Lauwerys, 2001*).

Chez les travailleurs exposés, les concentrations sériques mesurées sont du même ordre et généralement inférieures à 20 ug/l, de sorte que cet indicateur peut difficilement être employé pour évaluer l'exposition professionnelle au métal.

L'excrétion urinaire d'aluminium est habituellement inférieure à 20 ug/l et en moyenne inférieure à 10 ug/l. (*Lauwerys, 2001*), En milieu de travail, l'aluminium urinaire est l'indicateur biologique d'exposition de référence.

Les hygiénistes allemands proposent une valeur limite (BAT, Biologischer Arbeitsstoff-Toleranz-Wert) de 200 ug/l, qui correspondrait à une exposition moyenne à une concentration atmosphérique de 6 mg/m³ de poudre d'aluminium (*Letzel, 1996*).

Les concentrations osseuses varient de 0 à 20ug/g de poids sec chez les individus relativement Jeunes et peuvent excéder 20 ug/g chez certaines personnes âgées. Dans les tissus mous, les Concentrations sont d'environ 1 à 4 ug/g de poids sec (*O'Mahony,1995*) (**Figure 1**).

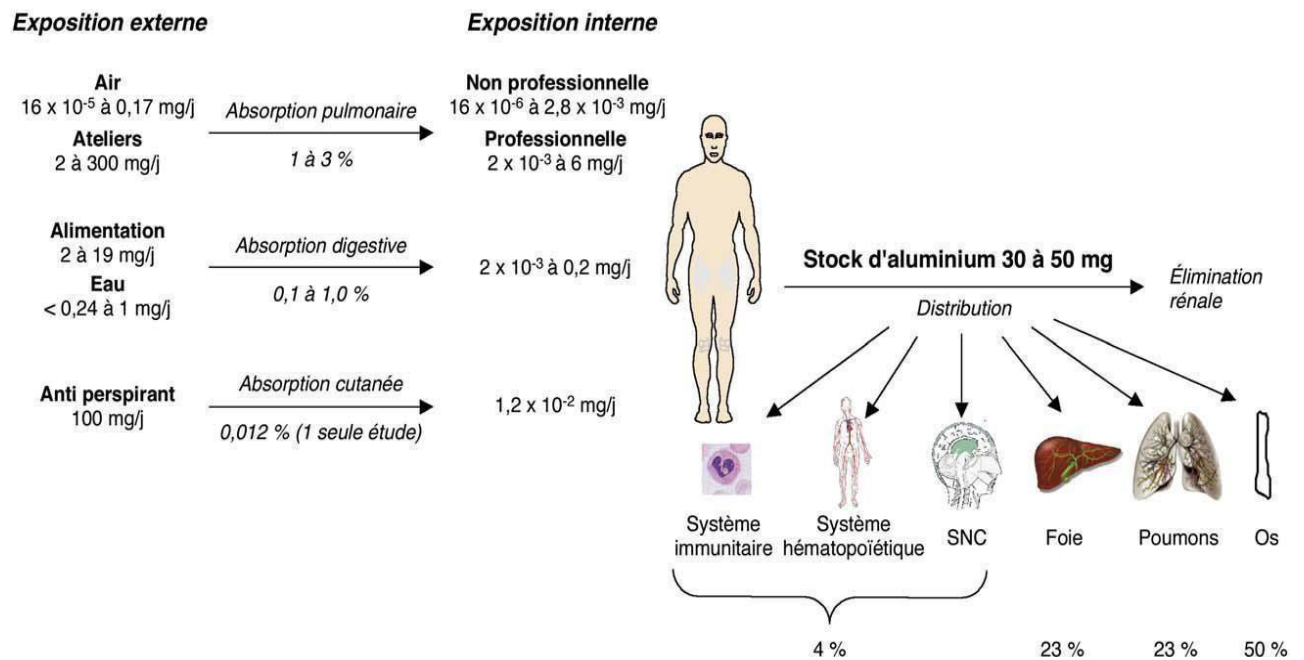


Figure 2 : Absorption quotidienne et distribution de l'aluminium dans l'organisme (*Gourier et Fréry., 2004*)

5. Les effets de l'aluminium en fonction de la voie d'administration

5.1. Exposition par l'inhalation

5.1.1. Effets systémiques

Chez l'homme, l'exposition chronique à l'Al par les voies respiratoires est suspectée de provoquer l'asthme professionnel (*Burge et al., 2000*), des fibroses pulmonaires (*al-Masalkhi and Walton, 1994*), des pneumoconioses (*Hull and Abraham, 2002*), des pneumonies interstitielles (*Herbert et al., 1982*) et des granulomes (*Cai et al., 2007*).

Chez l'animal, l'inhalation de particules d'Al conduit généralement à l'infiltration de macrophages, de neutrophiles et à la formation de granulomes (*Steinhagen et al., 1978; Thomson et al., 1986*).

Au niveau hématologique, les études sur des employés dans l'industrie de l'Al montrent que l'inhalation chronique d'Al favorise la diminution de l'hémoglobine des globules rouges et l'augmentation du taux de sédimentation des érythrocytes (*McLaughlin et al., 1962*).

5.1.2. Effets immunologiques

Les employés exposés à l'Al développent une augmentation des lymphocytes T CD4- CD8+ (*He et al., 2003*).

Les études animales ont montré des altérations histologiques du système lymphoréticulaire, notamment par la formation de granulomes en réponse à l'élimination de l'aluminium pulmonaire par les macrophages alvéolaires au niveau des ganglions lymphatiques (*Steinhagen et al., 1978; Thomson et al., 1986*).

5.1.3. Effets neurologiques

Les travailleurs de l'Al présentent une incidence plus élevée de symptômes neurologiques tels que l'incoordination, les problèmes de concentration, les maux de tête, la dépression et la fatigue (*Halatek et al., 2005; Sim et al., 1997; Sińczuk et al., 2003*).

Ces personnes développent également des altérations significatives dans les tests de performance évaluant le temps de réaction, la coordination oeil-main, la mémoire et/ou de la motricité (*Hosovski et al., 1990; Polizzi et al., 2002*).

Les résultats des études sur l'association entre l'exposition professionnelle à l'Al et le risque de développer la maladie d'Alzheimer sont contradictoires. Tandis que certaines études n'établissent pas de relation (*Graves et al., 1998; Salib and Hillier, 1996*), d'autres ont mis en évidence des déficiences cognitives qui peuvent être indicatrices d'un état préclinique de la maladie (*Polizzi et al., 2002*).

5.1.4. Effets carcinogènes

Les études sur les professionnels fortement exposés à l'Al ont montré une augmentation des cancers lymphatiques, hématopoïétiques et pulmonaires. Une incidence anormalement élevée de cancer de la vessie a également été décrite dans une région du Canada fortement soumise à l'industrie de l'Al (*Thériault et al., 1984*).

5.2. Exposition orale

5.2.1. Effets systémiques

Au niveau gastro-intestinal, les premières observations réalisées en 1958 décrivent de nombreux troubles du tractus gastro-intestinal en relation avec la prise d'Al (*Tomlinson, 1967*).

L'étude de cas d'une femme intoxiquée par des antiacides a également mis en évidence des troubles gastro-intestinaux et des douleurs généralisées (*Woodson., 1998*). Enfin, l'ingestion de phosphore d'Al cause des vomissements et des douleurs abdominales chez les personnes qui l'ingèrent accidentellement ou pour une tentative de suicide (*Chopra et al., 1986; Khosla et al., 1988*).

Cet effet pourrait éventuellement être causé par la formation de phosphine, qui est un gaz toxique (ces études sont décrites dans la partie : Les effets de l'Al sur la douleur).

Chez la souris, l'ingestion de citrate d'Al favorise l'exacerbation de l'inflammation colique dans trois modèles animaux de colites et perturbe la cicatrisation de la muqueuse (*Pineton et al., 2014*).

Au niveau hématologique, l'Al favorise la diminution de l'hémoglobine, du taux d'hématocrite, et/ou des érythrocytes chez l'homme (*Garbossa et al., 1998*) et diminue la concentration en Fer dans le sang chez le rat (*Farina et al., 2005*).

Au niveau musculo squelettique, l'utilisation d'antiacides de manière chronique ou la prise de médicaments contenant des taux importants d'Al induit de l'ostéomalacie et des douleurs musculaires chez les personnes saines en surdose et chez les personnes atteintes d'insuffisance rénale (*Carmichael et al., 1984; Chines and Pacifici, 1990; Woodson, 1998*). L'Al peut également s'accumuler dans les articulations osseuses (*Alfrey., 1993*).

5.2.2. Effets immunologiques

Les études chez la souris montrent que la prise d'Al par voie orale favorise la prolifération des cellules des ganglions lymphatiques (*Lauricella et al., 2001*) ce qui pourrait altérer la réponse immunitaire. De plus, l'exposition périnatale des souris induit l'augmentation du poids de la rate et la diminution des concentrations en interleukine-2, interféron- γ , du facteur de nécrose tumoral α , la déficience en lymphocytes T CD4 +, et l'augmentation de la susceptibilité aux infections bactériennes (*Golub et al., 1993; Yoshida et al., 1989*).

5.2.3. Effets neurologiques

Des études sur la maladie d'Alzheimer réalisées en Norvège, au Canada et en France, ont évalué le rapport entre la concentration d'Al présente dans l'eau de boisson de différents départements ou villes avec l'incidence de la maladie d'Alzheimer. La majorité de ces études ont conclu qu'une concentration plus élevée d'Al dans l'eau de boisson était favorable à une augmentation de l'incidence de la maladie (*Flaten, 2001; Rondeau et al., 2000*) et associée à une augmentation de la concentration en Al dans le cerveau, le liquide cérébro-spinal et le sérum par rapport à des sujets contrôles (*Virk and Eslick, 2015a*). Ces résultats sont contestés par d'autres études (*Forster et al., 1995; Wettstein et al., 1991*).

De plus, les études sur les populations à risques qui sont exposées à des quantités élevées d'Al par l'exposition professionnelle (*Virk and Eslick, 2015b*), la consommation de thé (*Forster et al., 1995*) ou d'antiacides (*Virk and Eslick, 2015c*) ne parviennent pas à établir un lien avec la maladie d'Alzheimer. Cependant, ces derniers résultats pourraient ne pas refléter l'absorption de la même forme chimique d'Al que celle, plus facilement absorbable, présente dans l'eau de boisson (*Gauthier et al., 2000*). Ainsi, les données disponibles suggèrent que l'Al n'est pas l'élément déclencheur de la maladie d'Alzheimer. Cependant, il peut favoriser son développement en agissant comme un co-facteur dans la chaîne d'événements pathologiques

Menant à la maladie d'Alzheimer (*Flaten., 2001*). Chez l'animal, les expériences montrent que l'intoxication orale par l'Al favorise la diminution de la force de préhension des membres antérieurs et/ou postérieurs de la souris (*Golub et al., 1992; Oteiza et al., 1993*), l'altération de la géotaxie (*Golub et al., 2000*) et la diminution de l'activité motrice (*Golub et al., 1992*). Au niveau sensoriel, l'Al induit une diminution de la sensibilité thermique (*Golub et al., 2000*), auditive et à l'air (*Golub et al., 1992; Oteiza et al., 1993*), ainsi qu'une altération du nystagmus oculaire (*Mameli et al., 2006*).

Au niveau des fonctions cognitives, l'Al favorise la baisse de l'apprentissage et de la mémoire chez le rat (*Jing et al., 2004; Zhang et al., 2003*).

Ces résultats impliquent fortement l'exposition orale à l'Al dans les altérations fonctionnelles et cognitives affectant les fonctions motrices et sensorielles.

5.2.4. Effets sur la reproduction

L'intoxication par l'Al entraîne des perturbations du cycle ovarien (*Agarwal et al., 1996*) et la diminution du nombre de spermatozoïdes (*Krasovskii et al. 1979*). Chez l'homme, les patients souffrant d'oligospermie présentent une augmentation de la concentration d'Al dans le liquide séminal. Ces résultats suggèrent que l'Al pourrait perturber la spermatogénèse (*Klein et al., 2014*).

5.2.5. Effets sur le développement

Des nourrissons souffrant d'insuffisance rénale traités par de l'hydroxyde d'Al jusqu'à 6 mois (*Pivnick et al., 1995*) et des enfants sains traités par des antiacides ont développé de l'ostéomalacie et une augmentation des taux d'Al dans les os (*Andreoli et al. 1984; Griswold et al., 1983*). Des enfants atteints d'insuffisance rénale sévère et traités par des chélateurs de Phosphate riche en Al ont développé des encéphalopathies (*Griswold et al., 1983*).

Les études sur les animaux montrent que l'Al favorise l'augmentation de la mortalité des

nouveau-nés (*Bernuzzi et al., 1986; Domingo et al., 1987*), altère la croissance, entraîne un retard de la maturation (notamment au niveau des os) (*Gomez et al., 1991; Sharma and Mishra, 2006*), et perturbe le développement du système nerveux (*Bernuzzi et al., 1989*) avec l'altération des fonctions sensibles (*Golub et al., 1995*) et motrices (*Bernuzzi et al., 1989*).

5.3.L'exposition cutanée

5.3.1. Effets musculo squelettiques

L'étude de cas d'une femme exposée pendant 4 ans au chlorhydrate d'Al contenu dans les déodorants montre que l'Al peut favoriser l'apparition de douleurs osseuses et de fatigues chroniques lorsqu'il est appliqué par voie cutanée. Cette patiente présentait une concentration Sérique d'Al 10 fois supérieure aux normes. Les douleurs ont disparu avec l'arrêt de l'exposition (*Guillard et al., 2004*).

5.3.2. Effets cutanés

Chez l'homme, l'application de chlorure d'Al hexahydraté pour le traitement de la transpiration excessive des hyperhydroses axillaires ou palmaires et l'utilisation de déodorants Contenant des sels d'Al entraînent l'apparition d'irritations de la peau (*Ellis and Scurr., 1979; Gallego et al., 1999; Goh, 1990*).

Chez l'animal, l'application de chlorure d'Al et de nitrate d'Al pendant 5 jours induit des dommages de la peau (hyperplasie, micro abcès, infiltration par des cellules inflammatoires, et ulcération). L'application d'autres formes d'Al n'a induit aucun effet néfaste, montrant l'importance de la forme chimique utilisée (*Lansdow, 1973*).

5.3.3. Les effets génotoxiques de l'Al.

Des études montrent que l'Al peut se complexer avec l'acide désoxyribonucléique (ADN) (*Dyrssen et al., 1987*) et favoriser l'augmentation significative de la formation de micronoyaux caractéristiques d'aberrations chromosomiques *in vitro* dans les lymphocytes humains (*Banasik et al., 2005; Migliore et al., 1999*). Cependant aucune étude humaine *in vivo* n'a été réalisée.

Chez l'animal, l'injection intrapéritonéale de chlorure d'Al favorise l'apparition d'aberrations chromosomiques chez la souris (*Manna and Das., 1972*) et le rat (*Wedrychowski et al., 1986*). Cependant, d'autres études *in vitro* n'ont pas permis de reproduire ces effets mutagènes (*Kanematsu et al., 1980; Marzin and Phi, 1985; Olivier and Marzin, 1987*).

6. Les pathologies associées à l'aluminium

Soupçonnée depuis une soixantaine d'années, la toxicité de l'aluminium ne fut guère prise en considération que lorsque furent décrites dans les années 1970 les premières encéphalopathies associées à une accumulation d'aluminium dans le cerveau. (*Salib et Hillier, 1996*)

6.1. Le cas des malades en insuffisance rénale.

En conditions physiologiques, l'Al ingéré est excrété par les reins. Cependant, lorsque la fonction rénale est nettement réduite ou absente, la capacité d'excrétion de l'organisme diminue fortement et l'accumulation de substances nocives peut se produire (*Alfrey., 1980*).

Dans les années 1960, de nombreux patients en insuffisance rénale ont été dialysés avec du liquide préparé à base d'eau contenant de l'Al. Lors de la dialyse, l'Al passe directement dans la circulation sans subir l'étape d'absorption (*Hawkins et al., 1994*) et les malades présentent ainsi un risque élevé de développer une réponse toxique. De plus, ces patients ont également reçu de l'hydroxyde d'Al par voie orale pour contrôler les taux de phosphate sérique anormalement élevés (*Alfrey, 1993*). Chez ces malades, l'Al n'est plus excrété correctement dans les urines qui représentent la principale voie d'élimination. Ainsi, ces patients ont développé des symptômes caractéristiques d'une intoxication à l'Al (*Alfrey, 1993*).

6.2.L'encéphalopathie :

En 1972, un syndrome neurologique évolutif et fatal a été diagnostiqué chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique traités par hémodialyses intermittentes à long terme. (*Sandberg et al., 2001*)

Les premiers symptômes étaient des troubles de la parole, de la démence, des convulsions et de la myoclonie apparaissant entre 3 et 7 ans après le début du traitement. Ces symptômes étaient associés à l'augmentation de la concentration en Al dans le cerveau, les muscles et les os des patients atteints. (*Sandberg et al., 2001*)

Les études ont d'abord associé l'hydroxyde d'Al donné par voie orale aux effets observés, puis le liquide de dialyse a été montré comme étant la source d'Al nocive (*Flendrig et al., 1976*).

Ces études montrent que l'accumulation d'Al dans le tissu cérébral des patients dialysés provient de deux voies d'absorption distinctes : sanguine et gastro-intestinale, et est responsable

des encéphalopathies observées chez ces malades (*Davison et al., 1982; Jack et al., 1983*).

Les mécanismes par lesquels l'Al est neurotoxique sont peu connus mais des études sur des rongeurs et des humains ont montré que l'Al est responsable de l'inhibition de l'activité d'une enzyme essentielle (la dihydroptéridine réductase) pour la synthèse de neurotransmetteurs ou de précurseurs des neurotransmetteurs tels que la tyrosine, la dopamine, la noradrénaline et le 5-hydroxytryptophane et d'une altération de la neurotransmission cholinergique post synaptique (*Exley, 2001 ; Marquis, 1983*).

6.3.L'ostéodystrophie :

Les patients en insuffisance rénale traités par hémodialyse à long terme ont développé de l'ostéodystrophie, maladie métabolique des os, qui diffère de la forme d'ostéodystrophie rencontrée chez les patients n'ayant pas été exposés à de fortes doses d'Al. En effet, l'ostéomalacie associée à cette forme d'ostéodystrophie est progressive, associée à des myopathies, à une incidence anormalement élevée de fractures, et ne répond pas aux traitements habituels tels que le traitement par la vitamine D ou les molécules assimilées. En 1971, Parsons et ses collaborateurs ont montré que l'augmentation de la concentration en Al dans les os des patients était proportionnel au temps de traitement par hémodialyse (**Parsons et al., 1971**).

En 1977, il a été mis en évidence que les patients dialysés dans les zones géographiques où l'eau présentait des taux plus élevés d'Al, avaient un nombre de fractures plus élevé que les autres. (*Platts et al., 1977*).

Une étude sur les patients en insuffisance rénale a montré qu'après 1 à 4 ans de traitement par des dialysats à base d'eau du robinet riche en Al, 70% des patients développaient une ostéomalacie. Au contraire, lorsque les dialysats étaient réalisés à base d'eau traitée et déminéralisée pour obtenir une concentration faible en Al, seulement 15% des patients développaient ces symptômes. Le mécanisme par lequel l'Al induit ces effets est mal connu (*Platts et al., 1977*).

6.4.L'anémie :

En 1989, Yuan et ses collaborateurs ont étudié la prévalence de l'association entre l'anémie et l'Al dans une population de patients ambulatoires hémodialysés.

Cette étude a montré que l'anémie, qui se caractérise par une diminution du taux de globules rouges, était un problème pour 18% des patients hémodialysés et qu'elle se déclarait avant les

autres symptômes d'encéphalopathie et d'ostéomalacie (*Yuan et al., 1989*).

Une autre étude a également décrit que la diminution du taux d'hémoglobine était inversement proportionnelle aux taux d'Al dans les os des patients dialysés (*Bia et al., 1989*). De plus, la forme d'anémie des patients souffrant d'insuffisance rénale est normochrome normocytaire, tandis que celle causée par l'Al est microcytaire et hypochrome (*Wills and Savory., 1983*). Tenant compte de la nature de cette anémie, O'Hare et Murnahagan ont proposé que l'Al participait à l'inhibition des enzymes responsables de la synthèse de l'hème, et notamment par l'inhibition de l'activité de l'acide 6- aminolévulinique déshydrogénase (*O'Hare and Murnaghan., 1982*).

Ces études montrent que l'administration d'Al à de fortes doses favorise l'émergence d'effets toxiques graves sur l'homme. En se basant sur ces données, de nombreuses études ont cherché à évaluer si l'exposition chronique à de faibles doses d'Al pouvait être impliquée dans le développement de pathologies dont les causes sont inexplicables (*O'Hare and Murnaghan., 1982*).

7. Les pathologies où l'implication de l'aluminium est suspectée.

7.1. Le cancer du sein :

L'implication de l'Al dans le cancer du sein est très controversée. Les études ont montré par des expériences *in vitro* (*Darbre, 2006*) et *in vivo*, par des dosages de la concentration d'Al dans le fluide d'aspiration du conduit mammaire (*Mannello et al., 2011*) et dans la partie externe du sein en contact avec les déodorants (*Exley et al., 2007*), que l'Al appliqué au niveau sous axillaire est un facteur favorisant le cancer du sein. Cependant, d'autres études ne parviennent pas à mettre en évidence cette implication. Ainsi, Mirick et ses collaborateurs ont évalué, dans une étude épidémiologique, si les anti transpirants étaient un facteur de risque pour le cancer du sein. Cette étude n'a pas établi de relation entre les deux facteurs (*Mirick et al., 2002*).

Une autre étude a comparé l'utilisation d'anti transpirants par des femmes avec ou sans cancer du sein. Les résultats ont montré que 82% des femmes en bonne santé utilisaient des antitranspirants tandis que seul 51,8% des femmes malades en utilisaient (*Fakri et al., 2006*).

Enfin, une étude sur une population exposée à de fortes doses d'Al en vivant à proximité d'une fonderie n'a pas trouvé de corrélation entre l'exposition à l'Al et la probabilité de développer un cancer du sein (*Pan et al., 2011*).

Ces quelques références permettent d'illustrer l'hétérogénéité des résultats concernant l'implication de l'Al sur le développement du cancer du sein. Il existe de nombreuses autres études sur le sujet mais aucune ne définit clairement le rôle de l'Al dans cette pathologie.

7.2. La myofasciite à macrophages :

Le syndrome de la myofasciite à macrophages a été décrit en 1998 par Gherardi et ses collaborateurs (**Gherardi et al., 1998**). Les femmes représentent 70% des patients et les malades développent un ou plusieurs des symptômes suivants : des myalgies chroniques diffuses associées ou non à de l'arthralgie, des faiblesses musculaires, des fatigues chroniques, des douleurs épigastriques, des altérations cognitives affectant la mémoire et l'attention, des dyspnées (**Gherardi and Authier, 2012**).

Ce syndrome est associé à la persistance à long terme de l'oxy hydroxyde d'Al utilisé comme adjuvant pour stimuler la réponse immunitaire en vaccination.

Les biopsies du muscle deltoïde, site d'injection majeur de vaccins, ont montré un infiltrat par des macrophages contenant des cristaux d'hydroxyde d'Al (**Gherardi and Authier., 2012**).

Les mécanismes impliqués dans cette maladie sont encore méconnus, cependant, il a été démontré que l'Al pouvait s'accumuler dans le cerveau 6 mois après l'injection, le mécanisme impliqué semble être dépendant de CCL2, chemoattractant des monocytes, qui pourrait favoriser la translocation de l'Al du système lymphatique vers le cerveau et faciliter son effet neurotoxique (**Khan et al., 2013**).

7.3. La maladie d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer se caractérise par la dégénérescence des neurones. La dégénérescence débute dans l'hippocampe puis s'étend au reste du cerveau. (**Schreeder et al., 1983**)

La prévalence de cette maladie est plus forte chez les femmes et les symptômes les plus courants sont des troubles de la mémoire à court terme, de l'orientation dans l'espace, de la perception du temps et des fonctions d'exécution motrices. Les fonctions cognitives et l'autonomie des malades se dégradent progressivement. (**Perl, 2001**)

Deux types de lésions du cerveau sont caractéristiques de la maladie d'Alzheimer : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires.

L'accumulation de la protéine bêta amyloïde aboutirait à la formation de plaques amyloïdes toxiques pour les cellules nerveuses et entrainerait les effets observés à long terme.

Comme pour le cancer du sein, l'implication de l'Al dans le développement de cette maladie est très controversée, mais différents aspects composent l'hypothèse selon laquelle l'Al serait impliqué. En effet, L'Al peut se lier aux phospholipides et ainsi favoriser l'agrégation du peptide β amyloïde (*Verstraeten et al., 1997b*), il peut stimuler la peroxydation lipidique (*Toda and Yase, 1998*) et réagir avec l'O₂ pour former l'Al-O₂ et ainsi favoriser l'oxydation des acides aminés pour former des protéines carbonylées (*Exley, 2004; Sánchez-Iglesias et al., 2009; Yokel, 2000*).

Ces réactions aboutissent ainsi à la réduction de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la catalase (*Chaitanya et al., 2012; Verstraeten et al., 1997a; Yuan et al., 2012*).

Ces perturbations du métabolisme pourraient aboutir à l'augmentation de la production de radicaux libres, l'oxydation anormale du fer, l'augmentation de la peroxydation lipidique, l'inflammation et l'apoptose neuronale pour favoriser le développement de la maladie d'Alzheimer.

Certaines études ont décrit que des taux d'Al élevés dans le cerveau sont associés avec les agrégats de protéines hyperphosphorylées présents chez les patients atteints d'Alzheimer (*Perl and Moalem., 2006; Walton., 2010; Yumoto et al., 2009*), et que la concentration d'Al dans le cerveau était associée positivement à la maladie d'Alzheimer (*Rusina et al., 2011*).

Cependant, d'autres études n'ont pas confirmé ce rapport entre la concentration en Al dans le cerveau et la maladie Alzheimer (*Akatsu et al., 2012; Walton., 2010*).

De plus, d'autres métaux tels que le cuivre, le zinc et le fer sont présents au niveau des plaques séniles et pourraient être impliqués dans les effets observés (*Lovell et al., 1998*).

L'autisme et les maladies cognitives :

Comme décrit dans les paragraphes : les effets de l'aluminium en fonction de la voie d'administration et les pathologies associées à l'aluminium, de nombreuses études ont montré que l'exposition à de fortes doses d'Al entraînait des déficiences cognitives (*Akila et al., 1999; Bowler et al., 2003; Flaten, 1990*). Cependant, une étude a comparé les concentrations d'Al dans le sang, l'urine et les cheveux d'enfants autistes à ceux de contrôles non autistes. Aucune différence significative n'a pu être observée (*Albizzati et al., 2012*). De plus, les études sur le rapport entre la concentration d'Al dans l'eau et les fonctions cognitives n'ont pas établi de relation entre le développement de troubles cognitifs et la consommation d'Al à de faibles doses (*Bakar et al., 2009*).

7.4. La maladie de Crohn :

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique du système digestif qui évolue par poussées et phases de rémission.

Les principaux symptômes sont des douleurs abdominales, de la diarrhée et l'inflammation peut toucher toutes les parties du tube digestif.

L'environnement est fortement suspecté dans le développement de cette maladie. Les corrélations entre les signes cliniques des malades et les effets inflammatoires de l'Al laissent supposer que l'Al pourrait être impliqué dans le développement de cette maladie. En effet, les effets immunologiques, pro inflammatoires, apoptotiques, oxydatifs et son implication dans la formation de granulomes sont en corrélation avec les observations faites chez les patients atteints de la MC (*Lerner, 2007*). De plus, les expériences animales ont montré que l'Al favorisait la formation de granulomes (*Fogarty et al., 1998*), aggravait la colite chez la souris en augmentant la durée et l'intensité de l'inflammation, favorisait l'infiltrat inflammatoire, et diminuait la cicatrisation intestinale (*Pineton de Chambrun et al., 2014*).

Ces observations semblent mettre en évidence le rôle de l'Al dans l'induction et le maintien des symptômes de la MC.

Les suspicions sur l'implication de l'Al dans de nombreuses pathologies sont fortes, notamment par ses propriétés inflammatoires, carcinogènes et oxydatives. Cependant, sa réelle implication n'a pu être déterminée que dans des sous groupes de patients à risque.

8. Mécanisme d'Action de l'Aluminium

L'Aluminium agit sur diverses enzymes, perturbe différentes voies métaboliques et possède un pouvoir nécosant. Les sites de stockage d'Aluminium constituent la première cible de l'action toxique de celui-ci : (*Roberts et al., 1989*).

5.1. Action sur l'os :

Un dépôt excessif d'aluminium au sein du squelette peut conduire à l'instauration d'un syndrome, communément appelé Aluminum-Induced Bone Disease ou AIBD, qui présente chez l'homme deux types d'expressions histologiques : (*Bishop et al., 1997*)

→ l'ostéomalacie, caractérisée par des lésions présentant de larges cicatrices du tissu osseux, peu d'ostéoblastes et ostéoclastes, suggérant un défaut primaire de minéralisation ;

→ l'Adynamic Bone Disease ou ABD, dont la largeur des cicatrices du tissu osseux est normale ou diminuée, et le nombre d'ostéoclastes et ostéoblastes considérablement réduit. Cette diminution est caractérisée par un défaut primaire de formation osseuse, accompagnée

secondairement par une réduction de la minéralisation (*Afssa and Afssaps, 2003*)

Les nouveau-nés prématurés exposés à de l'aluminium par le biais de leur nutrition parentérale auraient une diminution de la masse osseuse au niveau des lombaires et de la hanche à l'adolescence. (*Fewtrell et al., 2009*)

Il s'agissait d'un suivi à 15 ans des enfants inclus dans l'étude visant à évaluer l'impact à 18 mois d'une exposition parentérale à l'aluminium sur le développement mental (*Bishop et al., 1997*)

5.2.Mécanismes indirects impliquant la Parathormone (PTH)

L'Aluminium diminue la sécrétion de la PTH (hormone peptidique) et l'expression des ARNm de synthèse de cette hormone. La PTH a un effet protecteur sur la pathologie osseuse liée à l'Aluminium en réduisant l'accumulation de ce métal sur le front de minéralisation (*Bismuth et al., 2000*)

5.2.1. Action sur le SNC :

Changements dans la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique BHE. L'altération de la barrière hémato-encéphalique permet le passage de l'acide L-glutamique et du citrate au niveau cérébral suite à la perméabilité membranaire. Il en résulte une formation de complexes aluminium | L-glutamate qui accentuent l'altération de la BHE ainsi que celle de la membrane érythrocytaire (*Bismuth et al., 2000*). (Figure3).

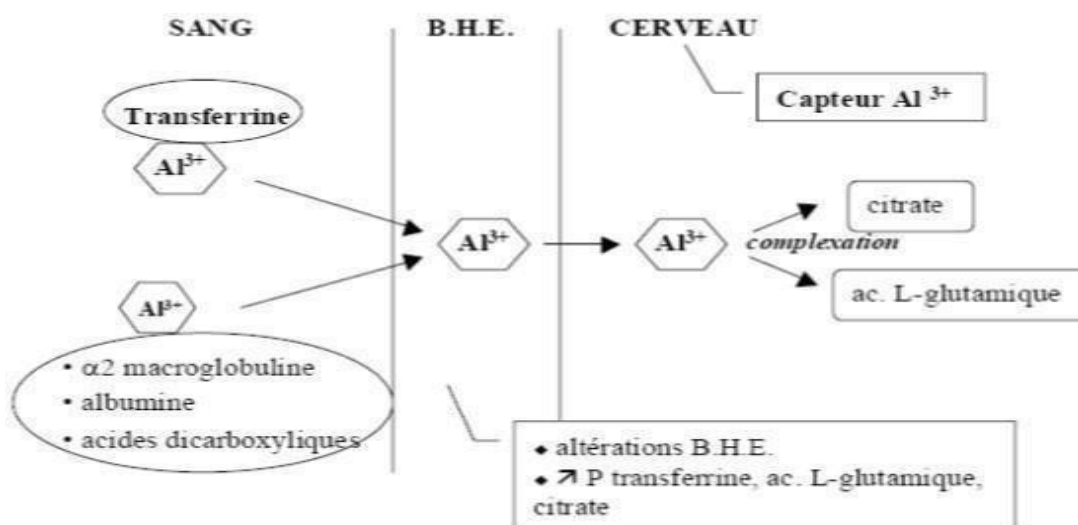


Figure 3. Changements dans la perméabilité de la BHE (*Bismuth et al., 2000*).

L'aluminium forme des complexes stables et rémanents avec, entre autre, l'acide L glutamique et les citrates, en particulier au niveau du striatum, de l'hippocampe et du cortex.

5.2.2. Effet sur la neurotransmission cholinergique

L'Aluminium modifie les activités de la choline-acétylase et de l'acétylcholinestérase (inhibition non compétitive par changement conformationnel), et perturbe par conséquent, l'absorption de la choline par les neurones (*Flaten, 2001*).

5.2.3. Modification de la cascade de seconds messagers dans le cerveau

L'Aluminium diminue les concentrations en inositol triphosphate et en AMP cyclique. Ce mécanisme est directement responsable de l'influence sur la signalisation et les processus dépendants du calcium et ceci par inhibition des canaux voltage dépendants pour l'entrée du calcium dans les neurones et l'extrusion de ce dernier du cytosol neuronal par l'ATPase Mg²⁺ dépendantes (*Parakach et al., 2016*).

5.2.4. Contribution au stress oxydatif cérébral :

Ceci par augmentation de la production des espèces réactives d'oxygène (ERO), et épuisement de la forme réduite du glutathion (GSH) dans les cellules gliales (gonflement mitochondriale, vieillissement cérébral) ce qui aboutirait à une nécrose astrocytaire progressive (ces zones gouvernant les processus de mémorisation et d'orientation).

Un autre mécanisme qui est l'effet inhibiteur, in vivo et in vitro, sur les activités de la superoxyde dismutase (SOD) et catalase des hémisphères cérébraux (*Giordano et al., 2014*).

5.2.5. Modulation de l'expression des ARN messagers (ARNm) et de la synthèse protéique

Par accumulation au niveau du noyau des neurones, puis liaison à la chromatine et altération de l'expression des ARNm codant pour certaines cytokines pro inflammatoires, impliquées dans les mécanismes neurotoxiques et la dégénération neurofibrillaire (*Roberts et al., 2012*).

5.3. Action hématologique

L'aluminium entraîne une altération de l'érythropoïèse soit par action directe sur les érythrocytes circulants, soit par interférence avec le métabolisme cellulaire ferrique dans les progéniteurs érythroïdes : (*Short ,1980*)

Diminution du développement des progéniteurs de la ligné érythrocytaire : CFU-E ;

Baisse significative de l'HK, de la concentration sanguine en Hb, et de la concentration haptoglobine ainsi que de l'incorporation de fer dans les érythrocytes nouvellement formées

Modification de la formes des érythrocytes (en présence de crêtes) ce qui conduit vers une hémolyse intravasculaire modérée. La demi vie des hématies est donc diminuée;

Une anémie hypochrome ferriprive et microcytaire est également observée (**Tielemans ,1985**).

84. Action immunologique

L'Aluminium est un immunostimulant, de nombreuses réactions immuno-allergiques sont observées surtout en cas de vaccination, elles sont caractérisées par :

Une augmentation de la production monocytaire d'IL-1.

Une activation du système du complément.

Une augmentation des réponses IgG1 et IgE spécifiques et non spécifiques. Conséquence : myofasciite à macrophages (émergence après vaccination contre l'hépatite B).

La myofasciite est une maladie rare identifiée en 1993 par Michelle Coquet, neuropathologiste à Bordeaux, caractérisée par de microscopiques lésions présentes dans des biopsies de muscle qui montrent une infiltration des macrophages dans le tissu musculaire (**Papo, 2007**).

9. Toxicité de l'aluminium

L'aluminium aurait un pouvoir toxique pour l'Homme. Pour certains chercheurs, cette toxicité est relative et s'observerait uniquement chez des sujets particuliers et exposés à de fortes doses d'aluminium. Pour d'autres, ce métal qui est omniprésent dans notre quotidien posséderait une toxicité au long cours, même pour des sujets exposés à des faibles doses d'aluminium. Si l'on suit cette hypothèse, l'aluminium représenterait donc un risque sanitaire pour l'ensemble de population (**Chantal Bismuth et coll., 1998**).

9.1. Toxicité aiguë

L'intoxication aiguë correspond à une intoxication causée par de fortes quantités de toxique sur une période très brève. Comme les cas d'intoxications aiguës à l'aluminium sont très rares, il existe par conséquent peu de données sur cette toxicité. Les sels solubles d'aluminium (chlorure, fluorure, sulfate et citrate) sont généralement les causes de ces intoxications. Chez les animaux, il a été mis en évidence dans les études que la DL50 (Dose Létale 50) par voie orale variait de 140 à 6200 mg d'aluminium/kg de poids corporel suivant les espèces.

Elle est de 164 à 980 mg d'aluminium/kg de poids corporel chez le rat. A titre de comparaison, les DL50 par voie intrapéritonéale chez le rat sont inférieures et comprises entre

25 à 108 mg d'aluminium/kg de poids corporel (*agence française de sécurité sanitaire des produits de santé*., 2011)

Chez l'homme, il y a peu de cas de décès par ingestion d'une importante quantité d'aluminium. Les cas recensés sont liés à des ingestions volontaires (suicides) ou accidentelles de pesticides (présence de phosphore d'aluminium). Dans ces cas-là, ce n'est pas directement l'aluminium qui a été mis en cause, mais le gaz phosphine qui a été produit au niveau gastro-intestinal.

Le seul effet nocifs qui ont été identifiés sont des éruptions cutanées, des ulcérations des lèvres et de la bouche, des troubles gastro-intestinaux et des douleurs musculaires chez des sujets qui on accidentellement bu de l'eau contaminée par d'importantes quantités de sulfate d'aluminium lors de l'accident de Camelford (village situé en Cornouailles, dans le SONTTHONNAX Julien | Faculté de Pharmacie de Limoges| Décembre 2014 65 :sud-ouest de l'Angleterre) en 1988. La concentration retrouvée dans l'eau lors de cet accident variait de 30 à 620 mg/L). De la même manière, pour la voie respiratoire, aucun effet nocif ou décès n'est pour l'instant directement imputable à une exposition brève et à de fortes doses d'aluminium (**Frery., 2004**).

La réelle toxicité de l'aluminium va donc s'observer dans le cadre d'expositions chroniques.

La toxicité aiguë de l'aluminium est modérée à faible. En raison de leur meilleure biodisponibilité, les formes solubles de l'aluminium ($AlCl_3$, AlF_3 , sulfate d'aluminium $Al_2(SO_4)_3$ et citrate d'aluminium) présentent un potentiel toxique plus important que les formes insolubles, telles que l'hydroxyde d'aluminium (Tableau 9).

Tableau 9 : Valeurs de DL50 orales et intra péritonéales pour différents sels d'aluminium

| Valeurs de DL50 orales et intra péritonéales pour différents sels d'aluminium (FAO/WHO 1989 et WHO 1997). Sels | Espèces | Voie d'administration | DL50 (mg substance test/kg pc) | DL50 (mg Al/kg pc) |
|--|---------|-----------------------|--------------------------------|--------------------|
| AlBr ₃ | Souris | Orale | | 164 |
| Rat | | Orale | | 162 |
| Souris | | Ip | | 108 |
| Rat | | Ip | | 82 |
| Al(NO ₃) ₃ | Souris | Orale | | 286 |
| Rat | | Orale | | 261 |
| Souris | | Ip | | 133 |
| Rat | | Ip | | 65 |
| AlCl ₃ | Souris | Orale | 3800 | 770 |
| Souris | | Orale | | 220 |
| Rat | | Orale | | 370 |
| Rat | | Orale | 3700 | 750 |
| Rat | | Orale | 1600 | 737 |
| Souris | | Ip | | 105 |
| Rat | | Ip | | 81 |
| Al ₂ (SO ₄) ₃ | Souris | Orale | 6200 | 980 |
| Souris | | Orale | | >730 |
| Rat | | Orale | | >730 |
| Souris | | Ip | | 40 |
| Rat | | Ip | | 25 |
| Al(OH) ₃ | Rat | Ip | 1100 | 35 |

9.2.Toxicité subchronique, chronique :

Les premiers signes de toxicité liés à une exposition chronique à l'aluminium ont été révélés en milieu professionnel et chez les patients hémodialysés. Par la suite, des études menées en population générale principalement axées sur le risque neurologique ont été mises en œuvre. (ATSDR 1999).

Par voie orale, les sels d'aluminium provoquent des effets hématologiques (chlorure et sulfate), hépatiques (chlorure et nitrate), rénaux (chlorure) et immunologiques (chlorure). D'importantes

modifications neurocomportementales sont également observées après exposition par voie orale et comprennent, notamment, une diminution de l'activité motrice et de la coordination, un défaut d'apprentissage et des troubles de la mémoire. Par inhalation, des signes d'inflammation pulmonaire sont rapportés pour le chlorure et le fluorure d'aluminium. (*IPCS, 1997*).

Aucune donnée n'est disponible concernant les effets systémiques du fluorure et de l'hydroxyde d'aluminium ainsi que pour l'aluminium poudre ou métal. (*Toxicological profile for Aluminum, 2008*).

Chez le rat, l'administration de 5 mg/kg de chlorure d'aluminium pendant 10 semaines par voie intrapéritonéale entraîne des effets hématologiques (diminution du nombre de globules rouges et blancs, du taux d'hémoglobine, de l'hématocrite et des plaquettes), rénaux et hépatiques (augmentation des niveaux en acide urique et urée ; augmentation des activités enzymatiques ASAT, ALAT ou LDH) (*Geyikoglu et al., 2012*). En revanche, lorsqu'il est administré par gavage ou dans l'eau de boisson, aucun effet n'est rapporté au niveau hématologique (gavage, 13 mg Al/kg/j, 2 semaines, souris), hépatique ou rénal (eau de boisson, 70 mg Al/kg/j, 90 jours, rats ou 49 mg Al/kg/j, 180 jours, souris) (*Garbossa et al., 1998*).

Le nitrate d'aluminium n'entraîne aucune atteinte hématologique ou rénale (eau de boisson, 284 mg Al/kg/j, 100 jours, rats) (ATSDR, 2008). Chez des rats exposés à 79 mg Al/kg/j dans l'eau de boisson, pendant 1 mois, une hyperémie splénique est rapportée ; à partir de 133 mg Al/kg/j, les effets hépatiques apparaissent avec hyperémie et infiltration de monocytes (*ATSDR, 2008*).

À la suite d'une exposition au sulfate d'aluminium, une diminution du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite est observée chez des rats ayant reçu 54,7 mg Al/kg/j pendant 18 mois dans l'eau de boisson (*ATSDR 1999*).

Aucun effet hépatique ou rénal n'est rapporté chez des souris exposées pendant 20 mois à 979 mg Al/kg/j (dans la nourriture) ou chez des rats et souris exposés respectivement à 0,6 et 1,2 mg Al/kg/j dans l'eau de boisson, durant toute leur vie (*ATSDR, 2008*). Les effets de l'aluminium sur le système immunitaire commencent à être étudiés.

Ainsi, le chlorure d'aluminium (64 mg/kg dans l'eau pendant 120 jours) est à l'origine d'une augmentation des niveaux en complexes immuns circulants et d'une inhibition de la fonction immunitaire des érythrocytes, éléments précurseurs au développement de maladies auto-immunes. Il peut aussi induire des réactions d'hypersensibilité de types I et III ; par contre, son implication dans l'expression des marqueurs CD4+ et CD8+ reste à confirmer. (*Zhu et al., 2013*).

À la suite de l'inhalation pendant 5 mois (6 heures/jour, 5 jours/semaine) de chlorure (0,37 mg Al/m) ou de fluo rure d'aluminium (0,41 mg Al/m), une augmentation des niveaux de lysosomes, de protéines et de phosphatases alcalines est mesurée dans le liquide bronchoalvéolaire. Une protéinose alvéolaire est rapportée chez des rats, des cobayes et des hamsters exposés à 15, 20 ou 30 mg/m de poudre d'aluminium (taille des particules entre 2,5 et 4,8 μm) ; aucune fibrose pulmonaire n'est observée chez le hamster et le cobaye, alors que des foyers de pneumopathie lipidique se développent chez le rat (*ATSDR., 2008*).

10. Maladies neurodégénératives

La maladie de Lou Gehrig (Sclérose latérale amyotrophique «SLA») et maladie de Parkinson sont caractérisées par la perte de la fonction neuromotrice et par la présence d'enchevêtrements neurofibrillaires dans le cerveau.

Les dépôts d'aluminium dans les neurones, serait dû a une plus grande absorption de cet élément liée a la richesse du sol et de l'eau potable en aluminium.(*Pailler et al.,1995*)

La maladie d'Alzheimer (démence degenerative) se traduit par des lésions histopathologiques bien précises qui sont : Les plaques séniles (dépôts extracellulaires) La bêta-amyloïde est un fragment toxique et insoluble qui s'agrège autour des neurones sous forme de " plaques séniles "*(Perl ,2001). (Figure 5)*

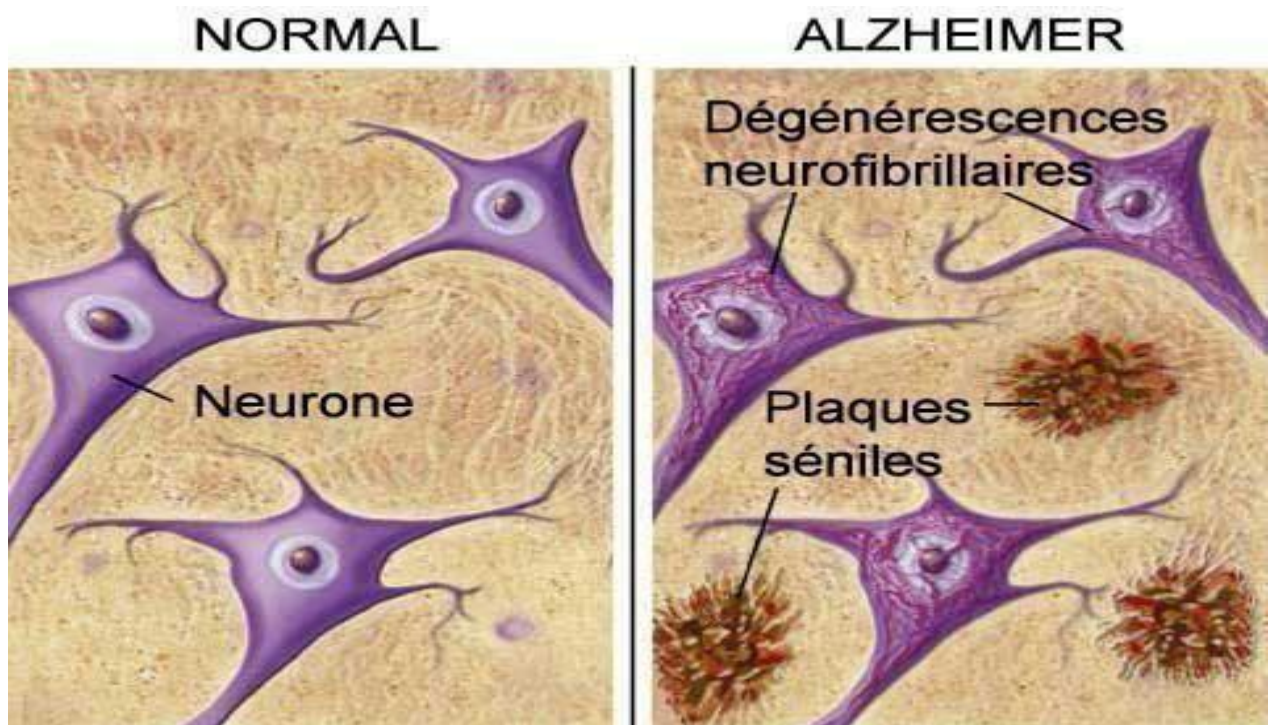


Figure 5. Dégénérescences neurofibrillaires

10.1. Les dégénérescences neurofibrillaires (à l'intérieur des neurones):

Ce sont des échevaux de filaments anormaux constitués, entre autres, d'une forme hyperphosphorylée de la protéine tau (2 ou 3 fois contre 5 à 9 fois dans la maladie Alzheimer) ; (*Moore et al., 2000*)

Il existe donc des données en faveur de l'interaction de l'aluminium avec les Différents éléments du SNC qui sont en jeu dans le développement De la maladie d'Alzheimer, néanmoins, ces éléments sont à eux seuls insuffisants pour considérer qu'il existe une association directe in vivo entre aluminium et maladie d'Alzheimer ce qui mène à penser que L'Aluminium est un facteur aggravant (*McLachlan et al., 1996*)

11. Mesures préventives

11.1. Prévention techniques Mesures collectives

La ventilation locale et générale veillera à maintenir le niveau dépoussiérage du lieu de travail en deçà des niveaux recommandés.

- Un contrôle des concentrations atmosphériques.
- Propreté rigoureuse de toutes les surfaces des ateliers.
- Une décontamination des sites de travail notamment les sols.

11.2. Mesures individuelles

- Porter des vêtements spéciaux (gants, masques, tabliers), protection des yeux et de la peau vu que le soudage d'Aluminium augmente le degré d'expo aux UV.
- Education sanitaire du personnel.
- La douche en fin de travail.

11.3. Prévention Médicale

A l'embauche, on doit écarter les sujets atteints de bronchites chroniques et d'atteintes osseuses pour cela, on pratique des radiographies, dépistage de la maladie d'Alzheimer. Examen périodique : Interrogatoire et examen clinique.

- Surveillance biologique : Repose sur le dosage urinaire de l'aluminium



Chapitre II

Chapitre II : Acide alpha lipoique

1. Définition :

L'acide alpha lipoïque est appelé aussi acide thioctique ou, encore, acide lipodominique. Sa structure chimique (acide 1,2-dithiolane -3-pentanoïque), avec deux atomes de soufre (thiol) lui donne des capacités uniques (*Reljanovic et al., 1999*).

Ces atomes de haute énergie sont largement responsables des fonctions de l'acide lipoïque dans trois directions importantes : comme coenzyme, comme puissant antioxydant et comme chélateur de minéraux. Son processus de synthèse par l'organisme n'est pas encore connu, mais il a été remarqué que les teneurs sanguines s'abaissent avec l'âge.

2. Historique :

Découvert dans les années 1930, l'acide thioctique a d'abord été considéré comme étant une vitamine. Cependant, lorsqu'on s'est aperçu que le corps humain pouvait synthétiser l'acide thioctique, cette appellation lui a été enlevée. Il était isolé et identifié chimiquement en 1951 par Lester Reed, et il a été officiellement nommé « acide alpha-lipoïque » en 1957.

C'est en 1988 qu'il a commencé à émerger comme antioxydant universel. Le docteur Lester Packer est le pionnier de la recherche sur l'acide lipoïque comme antioxydant. En 1991, il est apparu comme un participant important aux fonctions anti oxydantes de l'organisme au même titre que la vitamine C, la vitamine E et le glutathion. Enfin ; en 1993, Lester Packer a découvert qu'il protège un facteur nucléaire contrôlant l'expression et la régulation des gènes.

3. Description de l'acide alpha-lipoïque

L'acide lipoïque (souvent appelé α -lipoic acid), également appelé acide thioctique, est un composé organosulfuré naturel qui est synthétisé par les plantes et les animaux, y compris les humains. (*Reed, 2001 ; Carreau , 1979*).

L'acide lipoïque est lié de manière covalente à certaines protéines, qui fonctionnent comme une partie des complexes multienzymatiques mitochondriaux essentiels impliqués dans le métabolisme de l'énergie et des acides aminés.

En plus des fonctions physiologiques de l'acide lipoïque lié aux protéines, il existe un intérêt scientifique et médical croissant pour les utilisations thérapeutiques potentielles de doses pharmacologiques d'acide lipoïque libre (non lié), (*Smith et al., 2004*).

4. Noms chimiques

L'acide lipoïque est connu sous différents noms. Officiellement, il est connu sous le nom d'acide lipoïque ou acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque. Officieusement, il est connu sous les noms d'acide α -lipoïque, d'acide 6,8-thiooctique, d'acide 5-(1,2-dithiolan-3-yl)-valérique ou d'acide 5-3-(1,2-dithiolanyl)-pentanoïque. (*Packer, 1995*)

5. Structure et caractéristiques chimiques

L'acide lipoïque (AL) est une chaîne moyenne (C8) acide gras avec des atomes de soufre en C6 et C8. Parce que le carbone C6 est chiral. (*Packer, 1995*) (Figure 6)

Connu sous le nom d'antioxydant universel; l'acide alpha lipoïque est produit naturellement dans les plantes, les animaux et chez l'homme en petites quantités.

L'acide alpha lipoïque possède la particularité d'agir à la fois dans des environnements hydro et liposolubles de l'organisme. En d'autres termes, l'acide alpha-lipoïque peut accéder à n'importe quelle partie de la cellule pour y neutraliser les dangereux radicaux libres. L'acide alpha lipoïque joue aussi un rôle fondamental dans le métabolisme de l'organisme.

L'acide lipoïque, ou acide α -lipoïque, voir acide thiooctique, ou encore acide lipodominique est un composé organosulfuré dérivant de l'acide octanoïque également appelé acide caprylique, est un acide carboxylique ($pK_a=5.10$) et sa base conjuguée est l'anion lipoate possédant un cycle 1,2-dithiolane. C'est l'acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque (*Reljanovic et al., 1999*).

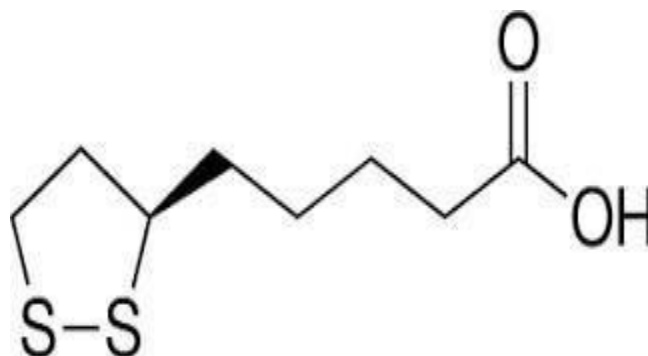


Figure 6 .Structure de l'acide alpha lipoïque (*Packer et al., 1995*).

5.1. Les formes d'acide alpha lipoïque :

L'acide lipoïque contient également un carbone asymétrique, ce qui signifie que l'acide lipoïque peut exister comme l'un des deux isomères optiques possibles, également appelés énantiomères (*Kramer et Packer, 2001*). . (Figure 7),

Ces énantiomères sont des images miroir l'un de l'autre : l'acide R-lipoïque et l'acide S-lipoïque Seul l'énantiomère R est synthétisé de façon endogène et lié de façon covalente à une protéine.

L'acide R-lipoïque est présent naturellement dans les aliments .Les suppléments d'acide lipoïque libre (non lié) peuvent contenir soit de l'acide R-lipoïque, soit un mélange 50/50 (racémique) d'acide R-lipoïque et d'acide S-lipoïque (Figure 2), (*Masella et al., 2005*).

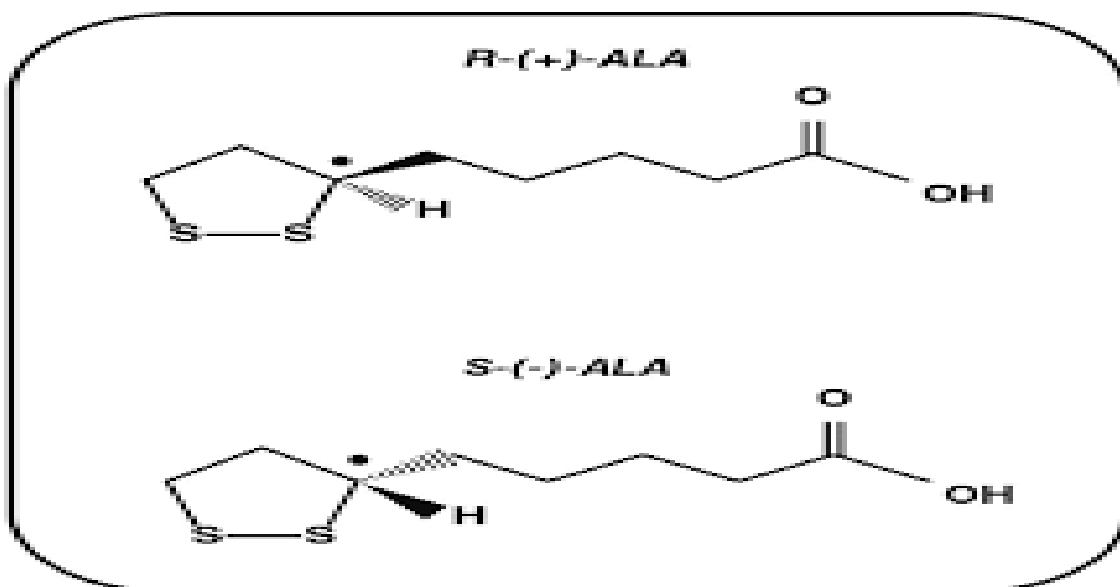


Figure 7 : Les deux énantiomères R et S de l' α -acide lipoïque (*Mclain et al., 2013*).

Les formes isomères R et S peuvent être produites synthétiquement et des valeurs de rotation spécifiques de -107° et $+109^\circ$ ont été rapportées (*Masella et al., 2005*). Bien que les deux isomères puissent être synthétisés, seule la forme R (+) de l'acide lipoïque est présente à l'état naturel (*Valko et al., 2006*).

- La forme naturelle est la forme R : l'acide (R)-(+)-lipoïque.

- la forme S est obtenue artificiellement avec une structure inversée : l'acide (S)-(-) lipoïque. Cette forme est moins efficace que le pure énantiomère. Le mélange de ces deux énantiomères forme le racémique dit acide (R/S)-lipoïque qui est le plus disponible en commerce (*Mclain et al., 2013*).

L'acide R-LA est considéré comme un complément nutritionnel, malheureusement il est difficile de préparer une formulation R-LA pure, puisque R-LA est physico-chimiquement instable dans des conditions comme la lumière, le milieu acide (pH) et la chaleur. En effet, aux États-Unis, bien que le sel de sodium (la RLA-Na) soit vendu sur le marché comme étant stable, sa stabilité est toujours insuffisante d'où la nécessité de sa formulation avec les cyclodextrines en vue d'augmenter cette stabilité vis à vis de la température, la lumière et la chaleur et d'améliorer sa solubilité dans l'eau. (*Packer et al., 1995*)


Il est bien établi que les sels de les acides faibles ($pK_a \text{ LA}(\text{COOH})=4,76-5,3$) ont des solubilités aqueuses et l'absorption que les acides libres. Par conséquent, c'est un produit relativement hydrophobe médicament ou nutriment peut être donné sous forme de sel, sa solubilité peut être augmentée et la dissolution et l'absorption doivent soit améliorée. (*Dröge, 2002*).

5.2. Les propriétés physiques et chimiques de l'acide alpha-lipoïque

LA est un dithiol de faible poids moléculaire avec un centre chiral contenant du disulfure de carbone 8 dans sa structure. Il est naturellement présent dans tous les produits procaryotes et les cellules eucaryotes (*Bast et Haenen, 2003 ; Park et al., 2014*). (tableau 10)

LA agit comme cofacteur des complexes inmultienzyme dans les mitochondries, comme la pyruvate déshydrogénase et l'a-kétoglutarate déshydrogénase (*Holmquist et al., 2007; Ghibu et al., 2009*).

Tableau 10 : physiques et chimiques de l'acide alpha-lipoïque

| | |
|-------------------------------|--|
| État physique | Poudre cristalline légèrement jaune |
| Formule moléculaire | C ₈ H ₁₄ O ₂ S ₂ |
| Poids moléculaire | 206,35 Da |
| Point de fusion | 60-62°C |
| Point de bouillonnement | 160-165 °C |
| PKa | 5.3 |
| Solubilité | soluble dans le méthanol, l'éthanol, le diéthyléther et le chloroforme et insoluble dans l'eau |
| Sa température de fusion | 47,5-48°C |
| Structure de l'acide lipoïque |  |

5.3. Propriétés redox (réduction-oxydation) de l'acide alpha-lipoïque

Les deux groupes thiol (soufre) de l'acide lipoïque peuvent être oxydés ou réduits. La forme réduite est connue sous le nom d'acide dihydrolipoïque, tandis que la forme oxydée est connue sous le nom d'acide lipoïque (*Kilic et al., 1998*). La R-structure est synthétisée de manière endogène et s'est révélée indispensable dans les systèmes vivants. Dans certains cas, la stéréochimie ALA peut jouer un rôle clé dans la détermination de l'activité spécifique de cette molécule (*Kilic et al., 1998 ; Streep et al., 1997*).

Une partie importante de l'AL est réduite en acide dihydrolipoïque (DHLA) par la lipoamide déshydrogénase (composant E3 du complexe pyruvate déshydrogénase et α -cétoglutarate déshydrogénase) avec l'implication du système NADH et *NADPH* (*Arivazhagan et al., 2001b ; Bilska et al., 2007*).

La réduction de l'AL en DHLA peut également être complétée par d'autres systèmes de réduction cellulaire, notamment les enzymes NAD(P)H, telles que les thiorédoxines réductases. L'AL contient également un carbone asymétrique ce qui donne deux isomères optiques, la forme S et la forme R, avec le premier étant synthétisé de manière endogène (*Araujo et al., 2011*).

L'acide dihydrolipoïque (DHLA), la contrepartie réduite de l'ALA (figure 2), possède également les énantiomères R et S.

Le DHLA est la forme que l'on trouve dans la cellule, et il a été suggéré que la réduction d'ALA en DHLA est nécessaire pour obtenir au moins certains effets biologiques (par exemple, la neuroprotection) (*Wolz et Krieglstein J., 1996*).

Le LA racémique synthétique, un mélange 1:1 d'énantiomères R et S, est utilisé depuis longtemps comme agent thérapeutique dans le traitement de la neuropathie diabétique (*Packer et al., 2001*) et comme supplément nutritionnel dans les pays européens et aux États-Unis. La pharmacocinétique de l'AL administré de manière exogène a été étudiée chez des volontaires sains. La pic plasmatique moyenne de LA à la suite d'une seule administration orale de 200 ou 600 mg LA était de 3,1 1,5 ou 13,8 7,2 M, respectivement.

La concentration plasmatique maximale moyenne de LA après l'administration intraveineuse de l'administration de 200 mg de LA s'est avérée être 40,3 11,3 M. (*Teichert et al., 1998*).

La demi-vie plasmatique moyenne du LA était d'environ 30 min pour l'administration iv ou orale (*Teichert et al., 1998*).

Il est il convient de noter que la concentration plasmatique de LA a été signalée pour atteindre un niveau de 100 à 200 M chez les patients diabétiques à la suite administration intraveineuse de 600 mg de LA (*Rosak et al., 1996*).

Comme le montrent de nombreuses recherches et essais cliniques, l'ALA et le DHLA jouent un rôle clé dans un grand nombre de processus physiologiques, et l'ALA peut être utilisé efficacement dans le traitement de plusieurs états pathologiques.

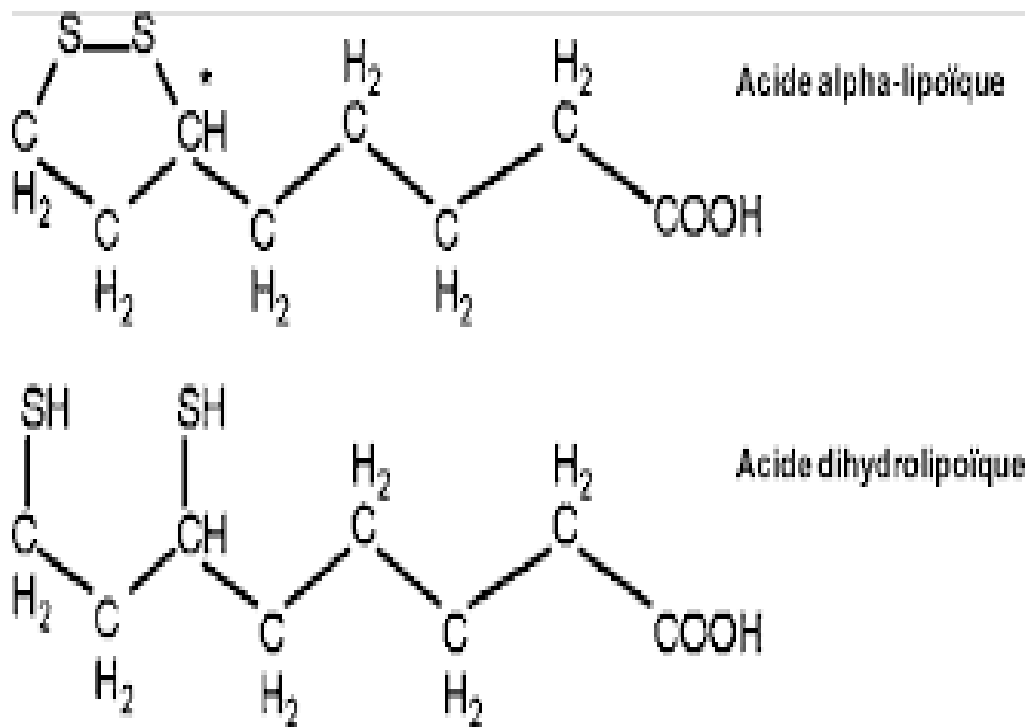


Figure 8. Structure de l'acide lipoïque et du DHLA. (*Kozlov et al., 1999*)

5.4. ALA/DHLA en tant qu'antioxydants directs et indirects

Pendant des décennies, l'ALA a été principalement connue comme groupe prothétique de divers complexes enzymatiques cellulaires et en tant que molécule impliquée dans la transformation du glucose en énergie à niveau mitochondrial. Lorsque l'ALA est produit de manière endogène (en R-form), une grande partie ne se trouve pas sous forme de molécule libre ; en effet, son précurseur, l'acide octanoïque, est déjà lié à des atomes de soufre (*Bustamante et al. 1998*)

ALA, en forme liée aux protéines, joue le rôle de cofacteur dans le α -ketoacid complexes de déshydrogénase (KADC) et dans la glycine le système de clivage, qui intervient dans les voies métaboliques d'oxydation du pyruvate, le cycle de l'acide citrique, le cycle de l'acide la biosynthèse et la dégradation des acides (*Moura et al., 2015*).

Les KADC sont situés dans la matrice mitochondriale, associée à la membrane interne, et sont constitués par le complexe pyruvate déshydrogénase, le complexe α -ketoglutarate déshydrogénase et la chaîne ramifiée KADC.

Leur fonction est de catalyser la décarboxylation oxydative de plusieurs substrats de l'acide α -céto en les formes acyl-CoA correspondantes, donnant naissance au nicotinamide adénine dinucléotide (NADH).

Les complexes ont de nombreuses des copies de trois enzymes : α -keto déshydrogénase (E1), dihydrolipoyl acyltransférase (E2) où l'ALA est attaché par une liaison amide à un résidu de lysine (Figure 3), et dihydrolipoyl déshydrogénase (E3) (*Patel et al., 1996*)

En outre, l'ALA libre interagit avec plusieurs systèmes de protéines comme substrat. Il a été démontré que les composantes E2 et E3 des KADC utilisent de l'ALA libre comme substrat ; ainsi, E3 catalyse la réduction de ALA en DHLA au moyen de l'oxydation du NADH (*Moura et al., 2015*)

ALA libre également joue d'autres fonctions pertinentes, agissant comme inhibiteur ou effecteur. Dans ce contexte, plusieurs auteurs ont souligné que l'ALA et le DHLA constituent un couple redox très puissant. En s'adressant à l'activité biologique, nous devrions considérer ALA et DHLA ensemble, car dans certaines situations, ils ont des effets interchangeables, et aussi en considération de leur transformation mutuelle rapide, qui dépend des conditions du microenvironnement (par exemple, puisque le cytoplasme cellulaire est un environnement réducteur, ALA est transformé en DHLA après être entré dans la cellule). (*Packer et al., 1995*).

Il est généralement admis que le couple ALA/DHLA peut directement fouiller les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et l'azote réactif (RNS), bien que certains auteurs ne soient pas d'accord (*Shay et al., 2009*).

De plus, on pense que les ALA/DHLA exercent également un effet antioxydant indirect action lorsque ce couple stimule le système antioxydant cellulaire, en réduisant d'autres molécules anti oxydantes essentielles, comme le coenzyme Q10, la vitamine C et la vitamine E (*Suh et al., 2004 ;Kozlov et al.,1999*).

Une autre action antioxydant indirecte se produit lorsque l'ALA et/ou Les DHLA, en tant qu'agents détoxifiants, chélate plusieurs métaux lourds (pour par exemple, le fer, le plomb, le cadmium, le mercure, le cuivre et l'arsenic) qui provoquent des processus oxydatifs (*Suh et al., 2004*)

Enfin, les ALA/DHLA ont un rôle dans la réparation des molécules biologiques, telles que les protéines, les lipides, et l'ADN, endommagés par l'oxydation. Dans les protéines, l'oxydation se produit au niveau de leurs résidus d'acides aminés, tels que méthionine, cystéine, histidine, tyrosine et tryptophane.

Pour par exemple, l'oxydation immédiate de certains résidus de méthionine conduit à une inactivation des protéines qui entraîne une altération ou bloqué l'activité de nombreux enzymes, hormones et facteurs chimiotactiques. Il a été démontré que le lipoamide, l'amide neutre de l'ALA, est impliqué dans la réparation des résidus de méthionine oxydés (*Spector et al., 1988*). Ainsi, les ALA/DHLA exercent des activités anti oxydantes, par quatre mécanismes différents, au moins in vitro dans certains cas, à savoir en piégeant les oxydants, en régénérant les antioxydants endogènes, en chélate les métaux de transition et enfin, en contribuant à réparer les dommages oxydatifs. Certains chercheurs se sont demandé si les effets des ALA/DHLA, détectés in vitro contre les ROS et les RNS, se produisaient également in vivo, principalement en raison de l'impossibilité pour ce composé, administré par voie orale, d'atteindre un concentration stœchiométriques suffisante pour exercer une action de récupération (*Shay et al., 2009*)

Il est clair que les activités de l'ALA/DHLA (en particulier, le balayage) peuvent être plus plausibles lorsque l'ALA est donné comme médicament topique, ce qui augmente fortement la possibilité d'atteindre le site thérapeutique à une concentration efficace. (*Konrad, 2005*)

De plus, comme nous le verrons dans la section "Avis d'experts", il existe d'autres hypothèses alternatives pour expliquer le résultat antioxydant obtenu par les ALA/DHLA (*Eastwood, 2006; Forman et al., 2014*)

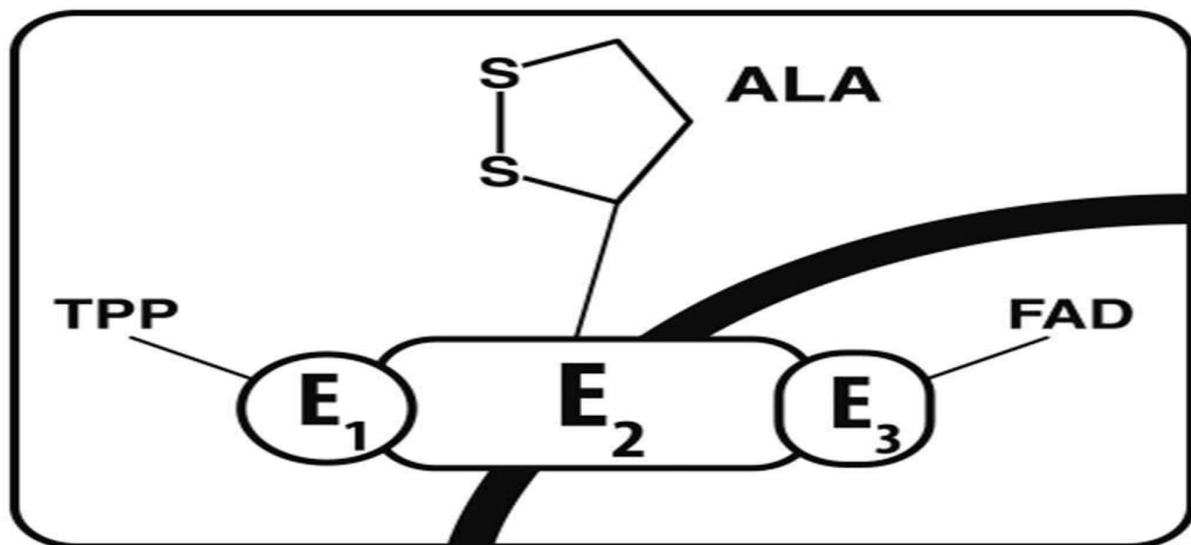


Figure 9. Complexe pyruvate déshydrogénase (PDC). TPP (pyrophosphate de thiamine) groupe prothétique de E₁ ; ALA : groupe prothétique de E₂ ; FAD (Flavin Adenine Dinucleotide) : groupe prothétique de E₃ (*Konrad, 2005*)

6. Sources d'acide -lipoïque

6.1. Sources alimentaires

L'ALA est synthétisé chez les plantes et les animaux, mais sa production chez l'homme est très faible ; L'acide R-lipoïque est présent naturellement dans les aliments, lié par covalence à la lysine dans les protéines (lipoyllysine ; voir figure 1). Bien que l'acide lipoïque soit présent dans une grande variété d'aliments d'origine végétale et animale les tissus caractérisés par la présence de nombreuses mitochondries sont les plus riches (*Wada et al., 1997*)

Les pommes de terre, le brocoli, les épinards, les tomates, les choux de Bruxelles, les pois et le riz brun en contiennent de grandes quantités, les informations quantitatives sur la teneur en acide lipoïque ou en lipoyllysine des aliments sont limitées. Des quantités un peu plus faibles de lipoyllysine ($\sim 0,5 \mu\text{g/g}$ de poids sec) ont été mesurées. (*Lodge et al., 1997*).

Les tissus animaux à forte teneur en lipoyllysine ($\sim 1-3 \mu\text{g/g}$ de poids sec) comprennent les reins, le cœur et le foie, tandis que les légumes riches en lipoyllysine comprennent les épinards et le brocoli (*Lodge et al., 1997*).

6.2. Formes commerciales

Contrairement à l'acide lipoïque présent dans les aliments, l'acide lipoïque présent dans les compléments n'est pas lié aux protéines.

De plus, les quantités d'acide lipoïque disponibles dans les compléments alimentaires (50-600 mg) sont probablement jusqu'à 1000 fois supérieures aux quantités qui pourraient être obtenues par l'alimentation. (*Breithaupt et al., 2003*)

En Allemagne, le produit est également enregistré comme médicament (Alpha-Liponsäure Sandoz 600 mg Filmtabletten) et indiqué à la dose de 600 mg/j dans le traitement de la neuropathie diabétique (*Biewenga et al., 1997*).

En Belgique, 260 produits notifiés comme compléments alimentaires contiennent de l'acide lipoïque en quantité variable (selon le SPF Santé Publique). Aux États-Unis, l'acide lipoïque est disponible sous forme de complément alimentaire sans ordonnance.

La plupart des compléments d'acide lipoïque contiennent un mélange racémique d'acide R-lipoïque et d'acide S-lipoïque (parfois appelé acide d,l-lipoïque). (*Biewenga et al., 1997*). Les compléments qui prétendent ne contenir que de l'acide R-lipoïque sont généralement plus chers, et les informations concernant leur pureté ne sont pas accessibles au public (*Consumer., 2017*). Il s'agit là d'une indication qui a fait l'objet de plusieurs études cliniques qui, selon une méta-analyse publiée en 2004, seraient concluantes (*Ziegler et al., 2004*), du moins lorsque le produit est administré en injection intraveineuse. Par voie orale, l'efficacité demande toujours à être confirmée.

La notice du produit donné par voie orale (copie fournie par le SPF Santé Publique) contient la description des effets secondaires possibles et des contre-indications.

Pour ce genre de traitement, il est recommandé de suivre attentivement la glycémie du sujet (notamment dans le cadre de l'administration d'hypoglycémifiants), de ne pas délivrer le médicament aux enfants, aux femmes enceintes et allaitantes ainsi qu'aux insuffisants hépatiques et rénaux, et de surveiller le fer sanguin. (*Kucukgoncu et al., 2017*)

7. Métabolisme de l'acide

Acide alpha lipoïque a des propriétés hydrophiles et hydrophobes, étant largement répandu chez les plantes et les animaux, tant dans les membranes cellulaires que dans le cytosol. Par conséquent, il peut déclencher ses actions à la fois dans le cytosol et dans la membrane plasmique (*Hermann et al., 1996*).

7.1. Absorption

Lorsqu'il ALA est absorbé par les aliments, l'ALA est absorbé par les cellules et peut être converti en DHLA de façon intracellulaire par des enzymes telles que la dihydrolipoamide déshydrogénase, la glutathion réductase ou la thiorédoxine réductase (*Bustamante et al., 1998 ; Mayr et al., 2014*).

Dans les organismes vivants, l'ALA est présent sous sa forme réduite et oxydée, disulfurique. Les principales limites à l'obtention de doses efficaces d'ALA chez l'homme sont dues au processus de dégradation de la molécule, à la courte demi-vie plasmatique, à l'effet de premier passage et à l'élimination métabolique (*Biewenga et al., 1997*).

Le transport cellulaire de l'ALA se fait probablement par plusieurs systèmes, tels que le transporteur d'acide gras à chaîne moyenne, un système de transport de vitamine dépendant du Na⁺ et un transporteur de monocarboxylate lié au H⁺ pour l'absorption intestinale (*Packer et al., 2011*).

Les taux plasmatiques endogènes d'ALA et le DHLA sont respectivement de 1-25 et 33-145 ng/ml (*Teichert et Preiss , 1992*). Le site l'absorption d'ALA en tant que complément alimentaire est diminuée par la l'apport alimentaire concomitant.

Les données disponibles (*Teichert et al., 2005*) montrent que l'ALA, administré sous forme de comprimés à dose unique (50-600 mg), est entièrement absorbé en 30-60 min, et sa demi-vie plasmatique ($t_{1/2}$) est 30 min. Malgré l'absorption rapide et presque complète après l'administration orale, l'ALA ne s'accumule pas beaucoup dans les tissus (les plus riches d'entre eux sont le cœur, les reins et le foie) et est rapidement métabolisé. (*Hermann et al., 1996*).

Le processus métabolique se déroule principalement dans le foie, par une oxydation mitochondriale β -. Après administration orale d'ALA à des volontaires sains, des produits diméthylés tels que l'acide 4,6-bisméthylmercapto-hexanoïque et l'acide 2,4- L'acide bisméthylmercapto-butanoïque a été détecté dans le plasma (*Locher et al., 1995*).

Sa biodisponibilité est limitée (environ 30 %), en raison d'un métabolisme pré systémique dans le foie (effet de premier passage) (*Keith et al., 2012*).

L'utilisation orale de l'ALA est entravée par sa clairance plasmatique et son excrétion rapides. Chez les sujets sains, 600 mg/jour d'ALA, administrés par voie orale pendant 4 jours, sont récupérés sous forme inchangée dans l'urine au pourcentage de : 0,19% (jour 1) et 0,22% (jour 4). Par conséquent, le problème central à traiter consiste à augmenter la biodisponibilité de l'ALA, ce qui permet le composé pour atteindre la concentration appropriée afin de garantir un effet thérapeutique. (*Xiang et al., 2008*).

Dans le cadre d'expériences en cours, destinées à vérifier la distribution de l'ALA dans les tissus de l'utérus et du col de l'utérus, des rats femelles ont reçu 50 et 500 mg/kg par voie vaginale pendant 4 jours. Dans les échantillons du groupe témoin, l'utérus, l'endomètre, le myomètre et le périmètre ont montré une structure histomorphologique normale, ainsi qu'un revêtement simple de l'épithélium cylindrique et de la membrane basale. Sous la membrane basale, le stroma avec les glandes et les vaisseaux endométriaux a présenté une structure normale en accord avec la période cyclique des rats. Dans toutes les couches de l'utérus de contrôle, aucune cellule colorée par des anticorps anti-ALA n'a été trouvée. De plus, dans les groupes ALA à faible dose et à forte dose, l'endomètre, le myomètre et le périmètre ont présenté une structure histomorphologique normale.

Dans les tissus du col de l'utérus, le groupe témoin avait une structure histomorphologique normale, comme on l'a vu pour l'utérus. (*Parente et al., 2017*)

L'ALA ne présente aucune toxicité, même à des doses beaucoup plus élevées que ceux qui sont normalement utilisés dans les traitements. Tant les cas aigus que les cas chroniques Les doses ont donné des résultats très rassurants chez les animaux (*Karaarslan et al., 2013*)

7.2. La biosynthèse de l'acide alpha lipoïque

Dans l'organisme humain, l'acide lipoïque provient de l'apport alimentaire ou de la synthèse mitochondriale à partir de l'acide gras octanoïque et de la cystéine sous l'action de l'acide lipoïque synthétase (*Mayr et al., 2014*). Des produits d'origine végétale (épinard, brocoli, tomate) ou animale (rein, foie et cœur) Contiennent l'acide lipoïque sous la forme de lipoïllysine, structure qui est très rapidement absorbée et transportée ensuite au niveau intracellulaire.

A ce niveau, l'acide lipoïque de provenance exogène ou endogène subit une réduction pour former l'acide dihydrolipoïque (DHAL ou l'acide 6,8-dithio-octanoïque). (**Figure 10**)

Cette synthèse s'effectue sous l'action :

- D'une lipoamide déshydrogénase mitochondriale avec oxydation de NADH ;
- De réductases (glutathion réductase ou thiorédoxine réductase cytosoliques avec oxydation de NADPH) (*Canstantinscu et al., 1995*)

Le DHAL a un pouvoir antioxydant supérieur à l'acide lipoïque, phénomène qui s'explique Par la présence de deux groupes thiol libres après la réduction intracellulaire. Une fois synthétisé, le DHAL quitte les cellules et peut se concentrer dans le milieu extracellulaire.

(*Suh et al., 2004*)

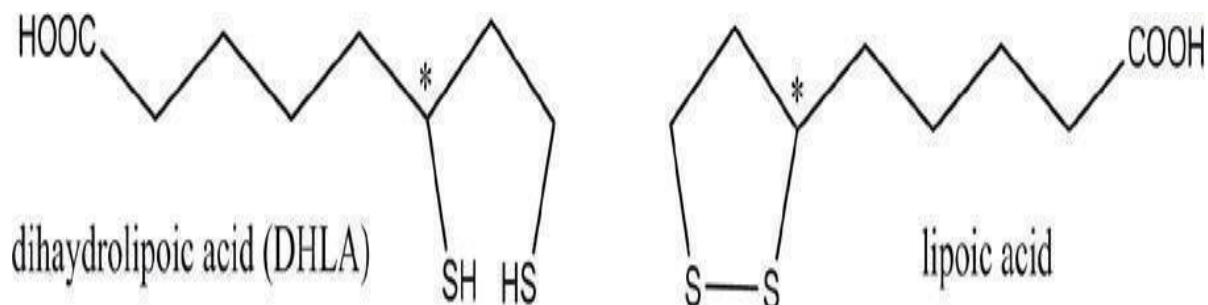


Figure 10. Structure de l'acide lipoïque et du DHLA

Une autre voie du métabolisme de l'acide lipoïque est la β -oxydation hépatique, processus qui induit la libération, au niveau du plasma et de l'urine, d'acides bisnorlipoïque, β -hydroxibisnorlipoïque et tétranorlipoïque. Il semblerait que ces métabolites de l'acide lipoïque manifestent des propriétés antioxydantes.

L'acide alpha lipoïque lorsqu'il est synthétisé de façon endogène, il est lié à une protéine et agit comme cofacteur de nombreuses et importantes enzymes mitochondriales.

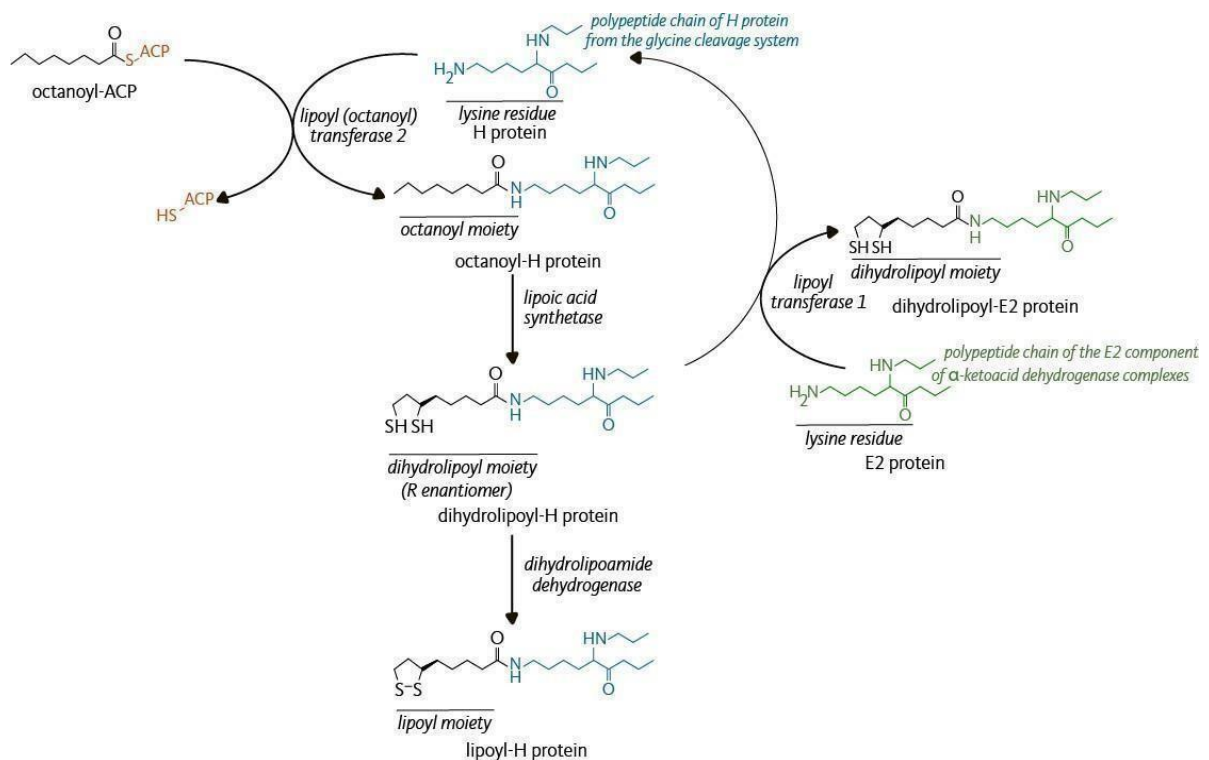


Figure 11. La synthèse endogène de l'acide lipoïque (Lodge et al., 1997)

L'acide lipoïque est synthétisé de novo dans les mitochondries de l'acide fromoctanoïque, un acide gras à 8 carbones (C8:0), lié à la protéine porteuse d'acyle (ACP ; voir l'article sur l'acide pantothénique) au cours du processus de synthèse des acides gras ((Lodge et al., 1997).

Une enzyme appelée lipoyl (octanoyl) transférase 2 catalyse le transfert de la partie octanoyle de l'octanoyl-ACP vers une lysine conservée de la protéine H du système de clivage de la glycine. La réaction suivante est l'insertion de deux atomes de soufre aux positions 6 et 8 de la partie octanoyle liée à la protéine H, produisant ainsi une partie dihydrolipoyle. Cette étape est catalysée par la synthétase de l'acide lipoïque (également appelée lipoyl synthase), une

enzyme contenant des agrégats fer-soufre qui agissent comme donneurs de soufre dans la réaction (*Mayr JA et al., 2014*)

Enfin, l'enzyme lipoyl transférase 1 catalyse le transfert de la fraction dihydrolipoyle de la protéine H du système de clivage de la glycine vers les résidus de lysine conservés des composants E2 des complexes multienzymatiques α -ketoacid dehydrogenase (*Mayr et al., 2014*). (**Figure 11**)

7.3. Distribution tissulaire et devenir métabolique

L'absorption gastro-intestinale rapide de la LA et son apparition dans le plasma sont suivies d'une clairance tout aussi rapide, reflétant à la fois le transport dans les tissus ainsi que la filtration glomérulaire et l'excrétion rénale (*McCormick., 1974*).

LA s'accumule principalement mais transitoirement dans le foie, le cœur et le squelette muscle, mais on le trouve aussi dans d'autres tissus. Il a été démontré que le LA franchir la barrière hémato-encéphalique dans un nombre limité d'études ; doses i.v. de 25 mg/kg p.c. administrée à des rats a entraîné son accumulation dans les dans les 60 minutes suivant l'administration (*Panigrahi et al., 1996*) et des doses i.p. de 100 mg/ kg p.c. pendant 7-14 jours chez des rats jeunes et vieux a montré LA accumulation dans diverses régions du cerveau (*Arivazhagan et al., 2002*).

Une étude plus récente, n'a toutefois pas trouvé de niveaux significatifs de LA dans le cerveau après un gavage de 50 mg/kg p.c. chez les rats (*Chnget al., 2009*).

en particulier après correction pour le volume sanguin résiduel. Compte tenu des avantages cliniques que présente LA sur le cerveau, des recherches plus approfondies devraient tenter de mesurer non seulement l'AL, mais aussi son et sa forme réduite, l'acide dihydrolipoïque (DHLA), l'un des qui peuvent exercer des effets thérapeutiques. Les modes d'administration devrait également être comparée pour déterminer si cela entraîne une différence dans la distribution des tissus.

Suite à son absorption dans les tissus, la LA est soumise à un catabolisme. Schupke et al. ont utilisé la chromatographie liquide/tandem spectrométrie de masse pour confirmer que β -oxydation est le principal facteur métabolique le sort de LA in vivo (*Schupke et al., 2001*).

Pour les rongeurs et les chiens, pas moins de douze On a observé que les métabolites LA comprenaient une dégradation séquentielle du squelette carboné et/ou la mono- et la bis-méthylation de la les groupes sulfhydryles. Quelle que soit l'espèce animale étudiée, les plus Les métabolites courants de LA semblent être le bisnorlipoate, le tétranorlipoate, β -hydroxy-bisnorlipoate, ou les dérivés bis-méthylés du mercapto de ces composés (*McCormick.,1974*) En plus de son catabolisme, la des études indiquent que l'AL est rapidement réduit en DHLA ce qui est également rapidement excrétée par les cellules (*Jones et al.,2002*).

Dans tous les modèles animaux étudiés, Le LA et ses métabolites sont facilement excrétés, principalement dans l'urine (*Biewenga et al., 1997*).

Ainsi, le LA, qu'il provienne de sources alimentaires ou d'un complément alimentaire, est facilement absorbé, métabolisé et excrété, ce qui donne une quantité négligeable LA libre étant conservé dans les tissus dans l'état post-alimentation.

8. Mécanismes d'action

L'accumulation cellulaire relativement transitoire et faible de LA suite de sa prise orale, de nombreuses études ont maintenant montré que LA suscite une série d'actions cellulaires, allant d'un puissant antioxydant à un chélateur de métaux à un médiateur de la signalisation cellulaire des voies (*Suh, 2004*).

Le LA/DHLA en tant qu'antioxydant La réactivité chimique du LA est principalement conférée par son dithiolane anneau. Les formes oxydées (LA) et réduites (DHLA) créent un puissant qui a un potentiel de réduction standard de -0,32 V. Ce fait du DHLA l'un des antioxydants naturels les plus puissants (*Sanadi et al., 1960*).

En fait, il est prouvé que tant LA que DHLA sont capables de en balayant une variété d'espèces réactives à l'oxygène Tant LA que Le DHLA peut piéger les radicaux hydroxyles et l'acide hypochloreux, tandis que LA met également fin à l'oxygène *singulet* (*Kaiser et al., 1989*).

Aucune des deux espèces n'est actif contre le peroxyde d'hydrogène (*Haenen , 1991*). Les LA, et en particulier les DHLA, ont la capacité d'empêcher la formation de protéines carbonyle en l'hypochlorite d'épuration (*Yan et al., 1996*).

En outre, le DHLA semble régénérer d'autres antioxydants endogènes (par exemple, les vitamines C et E) (*Haenen, 2003*) et a la propriété salubre de neutraliser les radicaux libres sans en devenir lui-même un.

9. Activités biologiques d'acide alpha lipoïque :

9.1. Acide lipoïque lié aux protéines :

a. Cofacteur enzymatique

L'acide R-lipoïque est un cofacteur essentiel pour plusieurs complexes multienzymatiques mitochondriaux qui catalysent des réactions critiques liées au catabolisme (dégradation) des acides aminés et à la production d'énergie (*Bustamante et al., 1998*).

L'acide R-lipoïque est lié de manière covalente à un résidu de lysine spécifique dans au moins une des protéines de chaque complexe multienzymatique. Un tel cofacteur non protéique est connu sous le nom de "groupe prothétique" (*Reed, 2001*).

L'acide R-lipoïque fonctionne comme un groupe prothétique pour l'activité biologique des complexes multienzymatiques suivants :

Le système de clivage de la glycine qui catalyse la décarboxylation de la glycine couplé à l'ajout d'un groupe méthylène (-CH₂) au tétrahydrofolate pour former le tétrahydrofolate de 5,10-méthylène, un cofacteur important dans la synthèse des acides nucléiques (Figure 3). (*Carreau, 1979*)

Dans le système de clivage de la glycine, l'acide R-lipoïque est lié de manière covalente à une lysine conservée de la protéine H (figures 2 et 3).

Quatre complexes α -cétoacide déshydrogénase (figure 4), dont :

- le complexe pyruvate déshydrogénase qui catalyse la conversion du pyruvate en acétyl-coenzyme A (CoA), un substrat important pour la production d'énergie via le cycle de l'acide citrique
- le complexe α -ketoglutarate déshydrogénase qui catalyse la conversion du α -ketoglutarate en succinyl CoA, un autre intermédiaire important du cycle de l'acide citrique ;

- le complexe cétoacide-déshydrogénase à chaîne ramifiée α qui intervient dans la décarboxylation des acides cétoniques dans la voie catabolique des acides aminés à chaîne ramifiée, à savoir la leucine, l'isoleucine et la valine ;
- le complexe 2-oxoadipate déshydrogénase qui catalyse la décarboxylation du 2-oxoadipate en glutaryl-CoA dans la voie catabolique de la lysine, de l'hydroxylysine et du tryptophane. (**Figure 12**)

Les quatre complexes α -ketoacid dehydrogenase contiennent trois activités enzymatiques, à savoir E1, E2 et E3. E1 est une thiaminopyrophosphate (TPP) - cétoacide déshydrogénase dépendante de α , l'acide R-lipoïque fonctionne comme un groupe prothétique essentiel pour l'activité transacetylase de E2, et E3 est une dihydrolipoamide déshydrogénase dépendante du flavine-adénine-dinucléotide (FAD), (*Keith et al,2012*), (**Figure 13**).

L'acide R-lipoïque est également présent dans la protéine de liaison à l'E3 (composant de la protéine X) du complexe pyruvate déshydrogénase (*Mayr et al., 2014*).

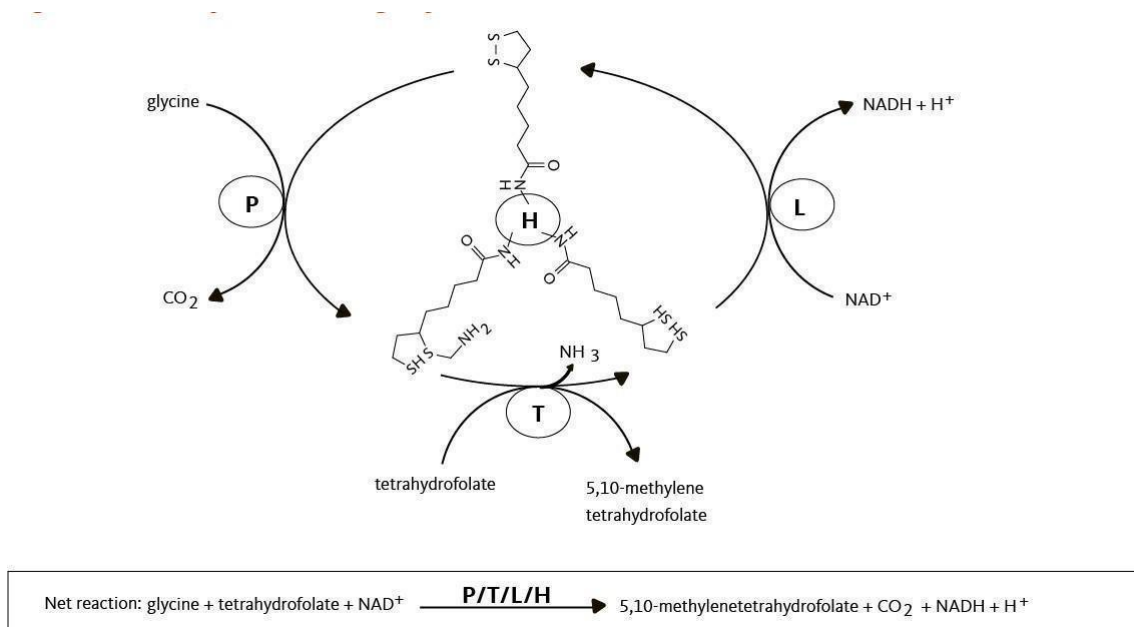


Figure12. le mécanisme de clivage de la glycine (*Mayr et al.,2011*)

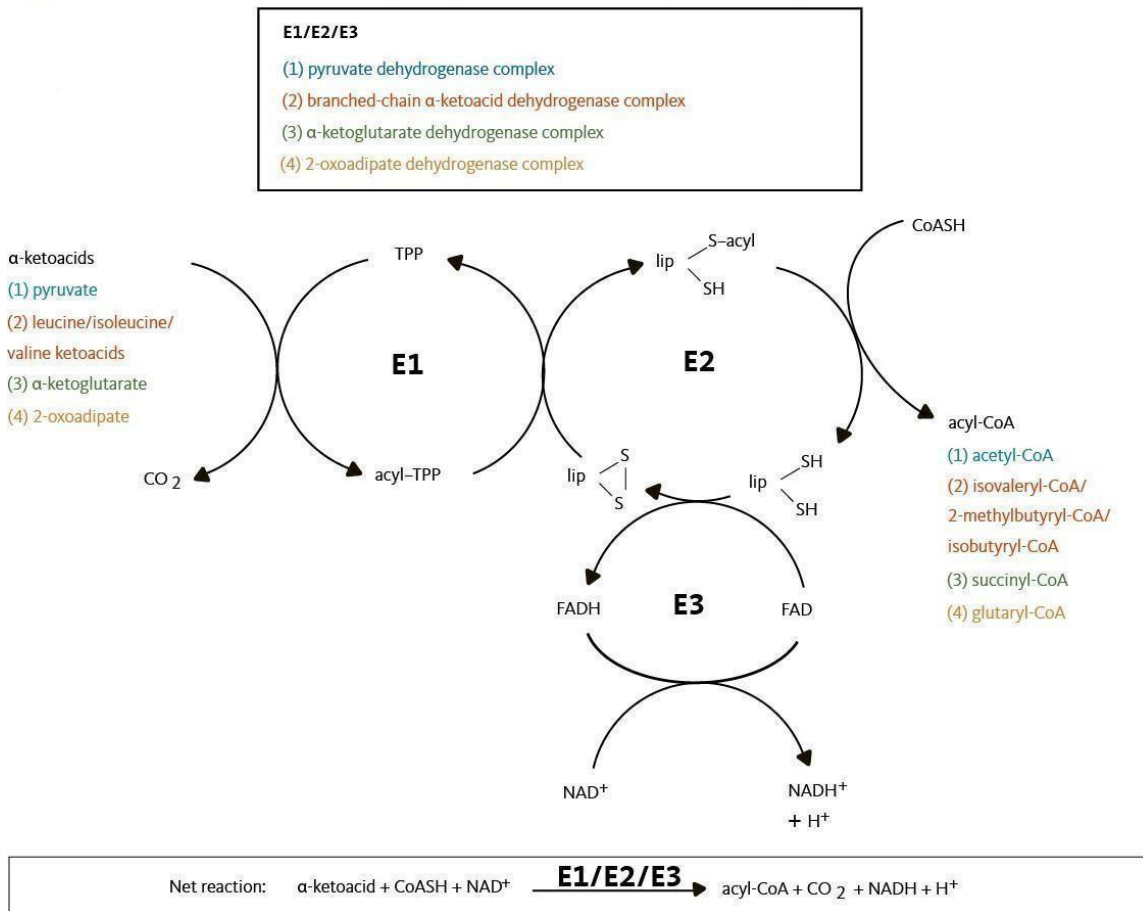


Figure13. Le complexe multienzyme cétoacide déshydrogénase (*Wang et al., 2010*)

9.2 Acide lipoïque non lié

Lorsque l'on considère les activités biologiques de l'acide lipoïque supplémentaire (non lié), il est important de garder à l'esprit la nature limitée et transitoire des augmentations de l'acide lipoïque dans le plasma et les tissus (*Smith et al., 2004*)

10. Activités anti oxydantes

10.1. Piégeage des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote :

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RNS) sont des composés hautement réactifs qui peuvent endommager l'ADN, les protéines et les lipides des membranes cellulaires. L'acide lipoïque et l'acide dihydrolipoïque peuvent tous deux éliminer (neutraliser) directement les ROS et les RNS physiologiquement importants dans l'éprouvette.

Cependant, des réactions d'extinction directe se produisent in vivo ont été ignorées. Les concentrations tissulaires les plus élevées d'acide lipoïque libre susceptibles d'être obtenues par une supplémentation orale sont au moins dix fois inférieures à celles d'autres antioxydants intracellulaires, tels que la vitamine C et le glutathion (*Moura et al., 2015*).

De plus, l'acide lipoïque libre est rapidement éliminé des cellules, de sorte que toute augmentation de l'activité directe de piégeage des radicaux ne devrait pas se maintenir.

10.2. Régénération d'autres antioxydants :

Lorsqu'un antioxydant piège un radical libre, il s'oxyde lui-même et n'est pas capable de piéger des ERO ou des SNR supplémentaires tant qu'il n'a pas été réduit. En tube à essai, l'acide dihydrolipoïque est un puissant agent réducteur capable de réduire les formes oxydées de plusieurs antioxydants importants, notamment la coenzyme Q10, la vitamine C et le glutathion (*Jones et al., 2002 ; Kozlov et al., 1999*)

L'acide dihydrolipoïque peut également réduire la forme oxydée du α -tocophérol (vitamine E) directement ou indirectement en régénérant la vitamine C oxydée (voir l'article sur la vitamine E) (May et al., 1998) ou la coenzyme Q10 oxydée (Upston et al., 1999). On ignore si l'acide dihydrolipoïque régénère efficacement les antioxydants dans des conditions physiologiques (*Smith et al., 2004*).

10.3. Chélation des métaux :

Les ions métalliques actifs en redox, tels que le fer et le cuivre libres, peuvent induire des dommages oxydatifs en catalysant des réactions qui génèrent des radicaux libres très réactifs (*Valko et al., 2005*).

Les composés qui chélatent les ions métalliques libres de manière à les empêcher de générer des radicaux libres sont prometteurs dans le traitement des maladies neurodégénératives et d'autres maladies chroniques dans lesquelles les dommages oxydatifs induits par les métaux peuvent jouer un rôle pathogène (*Doraiswamy et al., 2004*). Il a été constaté que l'acide lipoïque et l'acide dihydrolipoïque inhibent tous deux les dommages oxydatifs induits par le cuivre et le fer dans le tube à essai (*Oup et al., 1995 ; Suh et al., 2004*) et qu'ils inhibent l'accumulation excessive de fer et de cuivre dans les modèles animaux (*Suh et al., 2005 ; Yamamoto et al., 2001*).

L'acide lipoïque peut également être utile comme traitement d'appoint contre la toxicité des métaux lourds. Aucun essai clinique n'a examiné l'utilisation de l'acide lipoïque comme agent chélatant dans la toxicité du mercure, mais il s'est avéré efficace chez plusieurs espèces de mammifères (*Patrick et al., 2002; Rooney et al., 2007*)

11. Activation des voies de signalisation des antioxydants :

Le glutathion est un important antioxydant intracellulaire qui joue également un rôle dans la détoxification et l'élimination de carcinogènes et toxines potentiels. Les réductions de la synthèse du glutathion et des concentrations tissulaires de glutathion chez les animaux âgés (par rapport aux plus jeunes) laissent supposer une capacité potentiellement plus faible à répondre au stress oxydatif ou à l'exposition aux toxines (*Hagen et al., 2000*).

L'acide lipoïque augmentait les concentrations de glutathion dans les cellules cultivées et dans les tissus des animaux âgés nourris à l'acide lipoïque (*Busse et al., 1992*)

L'acide lipoïque pourrait être capable d'augmenter la synthèse du glutathion chez les rats âgés en augmentant l'expression de la γ -glutamylcystéine ligase (γ -GCL), l'enzyme qui limite le taux de synthèse du glutathion (*Suh et al., 2004*) et en augmentant l'absorption cellulaire de la cystéine, un acide aminé nécessaire à la synthèse du glutathion (*Suh et al., 2004*).

Aussi, l'acide lipoïque augmentait l'expression de γ -GCL et d'autres enzymes antioxydantes par l'activation de la voie dépendant du facteur nucléaire E2 (Nrf2) (*Suh et al., 2004*).

En bref, le Nrf2 est un facteur de transcription qui est lié à la protéine 1 (Keap1) associée à l'ECH de type Kelch dans le cytosol. Keap1 répond aux signaux du stress oxydatif en libérant Nrf2. Une fois libéré, Nrf2 se transloque dans le noyau où il peut se lier à l'élément de réponse antioxydant (ARE) situé dans la région du promoteur des gènes codant pour les enzymes antioxydantes et les piègeurs. L'acide lipoïque - mais pas l'acide dihydrolipoïque - peut réagir avec des résidus sulfhydryles spécifiques de Keap1, provoquant la libération de Nrf2 (*Fratantonio et al., 2018*) Les gènes cibles Nrf2/ARE codent pour plusieurs médiateurs de la réponse antioxydante, notamment γ -GCL, NAD(P) H quinone oxydoréductase 1 (NQO-1), hème oxygénase-1 (HO-1), catalase et superoxyde dismutase (SOD). Par exemple, la régulation à la hausse de la voie Nrf2 par l'acide lipoïque dans les hépatocytes cultivés et dans le foie de rats obèses ou diabétiques a empêché la stéatose induite par la surcharge lipidique (*Sena et al., 2018*) et la mort cellulaire (*Pilar et al., 2015*) (**Figure14**).

L'acide lipoïque a également protégé le foie contre les lésions hépatiques induites par le stress oxydatif chez les rats traités au méthotrexate grâce à l'activation de la voie Nrf-2 et d'autres voies anti-inflammatoires (*Fayez et al., 2018*)

Le prétraitement et le post-traitement à l'acide lipoïque, respectivement, ont permis de prévenir et d'inverser les altérations histopathologiques pulmonaires induites par les lipopolysaccharides (LPS) chez les rats grâce à une régulation positive de l'HO-1 médiée par le Nrf2 (*Lin et al., 2013*)

a. Inhibition de la nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADPH) oxydase (NOX) :

La NOX est un complexe enzymatique lié à la membrane plasmique qui catalyse la production de superoxyde à partir d'oxygène et de NADPH et qui a été impliqué dans la défense immunitaire innée contre les microbes (*Segal, 2008*).

L'acide lipoïque a empêché la production de superoxyde induite par le NOX dans un modèle rat d'ischémie cérébrale et de volume d'infarctus limité et de déficiences neurologiques en régulant à la hausse la voie de signalisation de l'insuline-phosphatidylinositide-3-kinase (PI3K)-protéine-kinase B (PKB/Akt) (*Dong et al., 2015*)

Le traitement des cellules cancéreuses de l'estomac par l'acide lipoïque a limité la production de ROS générée par le NOX et a réduit la prolifération des cellules cancéreuses induite par l'infection à *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) (*Byun et al., 2014*)

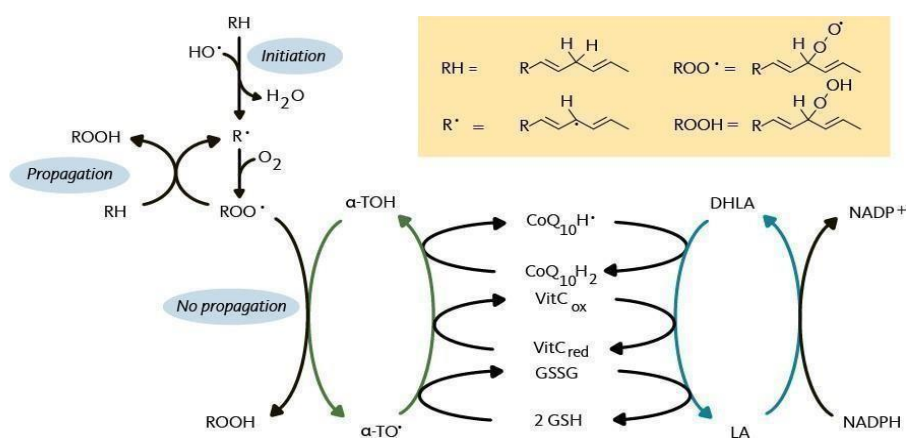


Figure14. activité antioxydante de acide alpha lipoïque(*Moura et al.,2015*)

a. Régulation de l'absorption cellulaire du glucose

La liaison de l'insuline au récepteur de l'insuline stimule une cascade de phosphorylations de protéines conduisant à la translocation des transporteurs de glucose (GLUT4) vers la membrane cellulaire et à une augmentation de l'absorption cellulaire du glucose (*Konrad, 2005*).

On a constaté que l'acide lipoïque active la cascade de signalisation de l'insuline dans les cellules cultivées (*Diesel et al., 2007*) augmente la translocation de GLUT4 vers les membranes cellulaires et accroît l'absorption du glucose dans les cellules adipeuses et musculaires cultivées (*Estrada et al., 1996*).

Une étude de modélisation informatique a suggéré que l'acide lipoïque pourrait se lier au domaine intracellulaire de la tyrosine kinase du récepteur d'insuline et stabiliser la forme active de l'enzyme (*Diesel et al., 2007*).

b. Régulation d'autres voies de signalisation

En plus des voies de signalisation du Nrf2 et de l'insuline, on a découvert que l'acide lipoïque cible d'autres molécules de signalisation cellulaire, affectant ainsi divers processus cellulaires, notamment le métabolisme, les réponses au stress, la prolifération et la survie. Par exemple, dans des cellules endothéliales cultivées, l'acide lipoïque inhibe IKK- β , une enzyme qui favorise la translocation du facteur de transcription sensible à l'oxydoréduction et pro-inflammatoire, le facteur nucléaire-kappa B (NF κ B) du cytosol au noyau (*Ying et al., 2011*).

Il a également été démontré que l'acide lipoïque améliore la vasodilatation dépendante du monoxyde d'azote (NO) chez les rats âgés en augmentant la phosphorylation dépendante du PKB/Akt de la NO synthase endothéliale (eNOS) et la production de NO catalysée par l'eNOS (*Smith et al., 2003*).

En outre, l'acide lipoïque a augmenté la biogenèse mitochondriale en déclenchant l'activation du facteur de transcription PGC-1 α de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) dans les muscles squelettiques de souris âgées (*Wang et al., 2010*).

Plusieurs revues de la littérature ont décrit des voies qui sont des cibles potentielles de l'acide lipoïque dans divers modèles et dans différentes conditions expérimentales (*Moura et al., 2015*).

c. Carence

La carence en acide lipoïque a été décrite dans de rares cas de mutations héréditaires dans la voie de biosynthèse de l'acide lipoïque. Les mutations identifiées chez les patients présentant un métabolisme défectueux de l'acide lipoïque affectent les gènes impliqués dans la synthèse des agrégats fer-soufre et les gènes codant pour la synthétase de l'acide lipoïque (LIAS), la lipoyl transférase 1 (LIPT1) et la dihydrolipoamide déshydrogénase (composant E3 de α -ketoacid dehydrogenase complexes ; DLD) (*Mayr et al., 2011*).

11. Traitement des maladies

a. Diabète sucré

Une concentration de glucose dans le sang chroniquement élevée est la marque du diabète sucré. Le diabète de type 1 est causé par la destruction auto-immune des cellules β du pancréas productrices d'insuline, ce qui entraîne une production insuffisante d'insuline. L'insuline exogène est nécessaire pour maintenir une concentration normale de glucose dans le sang (c'est-à-dire une glycémie à jeun <100 milligrammes par décilitre [mg/dL]). (*Streper et al., 1997*), En revanche, l'altération de l'absorption tissulaire du glucose en réponse à l'insuline (un phénomène appelé insulino-résistance) joue un rôle clé dans le développement du diabète de type 2 (*Ziegler et al., 2004*). Bien que les patients atteints de diabète de type 2 puissent éventuellement avoir besoin d'insuline, des interventions qui augmentent la sensibilité à l'insuline peuvent être utilisées pour maintenir des concentrations normales de glucose dans le sang. (*Ziegler et al., 2004*).

Le terme "prédiabète" est parfois utilisé pour décrire des anomalies métaboliques précoces qui font courir aux individus un risque élevé de développer un diabète de type 2. Il est à noter que ces patients sont également à haut risque de maladies cardiovasculaires.

Selon l'American Diabetes Association, le prédiabète peut être défini par un état d'altération du glucose à jeun, caractérisé par une concentration de glucose sanguin à jeun comprise entre 100 mg/dL et 125 mg/dL et/ou un état d'altération de la tolérance au glucose, caractérisé par une concentration de glucose sanguin sur 2 heures ≥ 140 mg/dL après un test oral de tolérance au glucose (**Nathan et al., 2007**).

a. Utilisation du glucose

L'effet de l'acide lipoïque à forte dose sur l'utilisation du glucose a été principalement examiné chez des personnes atteintes de diabète de type 2. Un premier essai clinique réalisé sur 13 patients atteints de diabète de type 2 a montré qu'une seule perfusion intraveineuse de 1 000 mg d'acide lipoïque améliorait de 50 % l'élimination du glucose stimulée par l'insuline (c'est-à-dire la sensibilité à l'insuline) par rapport à une perfusion de placebo (**Jacob et al., 1995**).

Une étude contrôlée par placebo portant sur 72 patients atteints de diabète de type 2 a révélé que l'administration orale d'acide lipoïque à des doses de 600 mg/jour, 1 200 mg/jour ou 1 800 mg/jour améliorait la sensibilité à l'insuline de 25 % après quatre semaines de traitement (**Jacob et al., 1999**).

Aucune différence significative n'a été constatée entre les trois doses d'acide lipoïque, ce qui suggère que 600 mg/jour pourraient être la dose efficace maximale (**Ziegler et al., 2004**). Cependant, dans une étude randomisée plus récente, contrôlée par placebo, menée sur 102 sujets, une supplémentation quotidienne de 600 mg d'acide lipoïque (+/- 800 mg de vitamine E [α -tocophérol]) pendant 16 semaines n'a eu aucun effet sur la glycémie à jeun, l'insuline sanguine à jeun ou une mesure de l'insulinorésistance appelée indice d'évaluation de l'insulinorésistance du modèle homéostatique (HOMA-IR) (**Oliveira et al., 2011**).

Une revue systématique et une méta-analyse de 2018 ont identifié 20 essais contrôlés randomisés (**publiés entre 2007 et 2017**) qui ont examiné l'effet de l'acide lipoïque supplémentaire sur les marqueurs de l'utilisation du glucose chez 1 245 sujets souffrant de troubles métaboliques (non limités au diabète de type 2) (**Akbari et al., 2018**).

L'administration d'acide lipoïque (200 à 1 800 mg/jour pendant 2 semaines à 1 an), seul ou en association avec d'autres nutriments, a permis de réduire les concentrations de glucose et d'insuline dans le sang à jeun, la résistance à l'insuline et la concentration d'HbA1c dans le sang - un marqueur du contrôle glycémique au cours des derniers mois (*Akbari et al., 2018*).

b. Fonction endothéliale

La paroi interne des vaisseaux sanguins, appelée endothélium vasculaire, joue un rôle important dans le maintien de la santé cardiovasculaire. En particulier, l'oxyde nitrique (NO) régule le tonus vasculaire et le flux sanguin en favorisant la relaxation de tous les types de vaisseaux sanguins, y compris les artères - un phénomène appelé vasodilatation. L'altération de la vasodilatation endothélio-dépendante à médiation par le NO entraîne une vasoconstriction et des anomalies de la coagulation généralisées et est considérée comme une étape précoce dans le développement de l'athérosclérose. La présence d'une hyperglycémie chronique, d'une résistance à l'insuline, d'un stress oxydatif et de mécanismes pro-inflammatoires contribuent au dysfonctionnement endothélial chez les patients atteints de diabète sucré (*Roberts et al., 2013*).

La mesure de la dilatation du flux brachial (FMD) est souvent utilisée comme un marqueur de substitution de la fonction endothéliale. Deux techniques sont utilisées pour mesurer la vasodilatation dépendante de l'endothélium. L'une des techniques mesure le flux sanguin de l'avant-bras par pléthysmographie d'occlusion veineuse pendant la perfusion d'acétylcholine. Grâce à cette technique invasive, on a constaté que l'infusion intra-artérielle d'acide lipoïque améliorait la vasodilatation endothélio-dépendante chez 39 sujets atteints de diabète de type 2, mais pas chez 11 témoins sains (*Heitzer et al., 2001*). Une étude plus récente, randomisée, en double aveugle et contrôlée par placebo, menée sur 30 patients atteints de diabète de type 2 a révélé que la perfusion intraveineuse de 600 mg d'acide lipoïque améliorait la réponse à l'acétylcholine, un vasodilatateur endothélio-dépendant, mais pas au trinitrate de glycérol, un vasodilatateur indépendant de l'endothélium (*Heinisch et al., 2010*).

Une autre technique non invasive utilisant les ultrasons pour mesurer la vasodilatation à médiation de flux a été utilisée dans deux autres études menées par Xiang et al. (*Xiang et al., 2011*).

Les résultats de ces études randomisées et contrôlées par placebo ont montré que l'acide lipoïque intraveineux pouvait améliorer la fonction endothéliale chez les patients présentant une altération de la glycémie à jeun (*Xiang et al., 2011*) ou une tolérance au glucose altérée (*Xiang et al., 2008*).

Un essai randomisé, contrôlé par placebo, qui a évalué l'effet d'une supplémentation orale en acide lipoïque chez 58 patients diagnostiqués avec un syndrome métabolique, une condition caractérisée par un métabolisme anormal du glucose et des lipides, a montré que la vasodilatation à médiation de flux s'améliorait de 44 % avec 300 mg/jour d'acide lipoïque pendant quatre semaines (*Sola et al., 2005*).

c. Neuropathie diabétique

Neuropathie périphérique : Jusqu'à 50 % des patients diabétiques développent une neuropathie périphérique, un type de lésion nerveuse qui peut entraîner de la douleur, une perte de sensation et une faiblesse, en particulier dans les membres inférieurs. La neuropathie périphérique est également une des principales causes d'amputation des membres inférieurs chez les patients diabétiques (*Malik et al., 2013*).

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer les dommages nerveux chroniques induits par l'hyperglycémie, tels que l'accumulation intracellulaire de sorbitol, les réactions de glycation et le stress oxydatif et nitrosatif.

Les résultats de plusieurs grands essais contrôlés randomisés ont indiqué que le maintien de la glycémie à des concentrations proches de la normale était l'étape la plus importante pour limiter le risque de neuropathie diabétique et d'amputation des membres inférieurs (*Dy SM et al., 2017*). Cependant, les preuves de l'efficacité d'un contrôle accru de la glycémie pour prévenir la neuropathie sont plus fortes chez les patients atteints de diabète de type 1 que chez ceux atteints de diabète de type 2 (*Callaghan et al., 2012*).

En outre, cette intervention de contrôle de la glycémie a augmenté le risque d'épisodes hypoglycémiques (*Callaghan et al., 2012*). L'efficacité de l'acide lipoïque, administré par voie intraveineuse ou orale, dans la gestion des symptômes neuropathiques a été examinée chez les patients diabétiques.

Des méta-analyses d'essais contrôlés randomisés suggèrent que la perfusion de 300 à 600 mg/jour d'acide lipoïque pendant deux à quatre semaines a réduit de manière significative les symptômes de la neuropathie diabétique à un degré cliniquement significatif (*Han et al., 2012*).

En ce qui concerne l'efficacité de la supplémentation orale en acide lipoïque, une première étude à court terme sur 24 patients atteints de diabète sucré de type 2 a montré que les symptômes de la neuropathie périphérique s'amélioraient chez ceux qui prenaient 600 mg d'acide lipoïque trois fois par jour pendant trois semaines par rapport à ceux qui prenaient un placebo (*Ruhnau et al., 1999*).

Un essai clinique plus important a affecté de manière aléatoire plus de 500 patients atteints de diabète de type 2 et de neuropathie périphérique symptomatique à l'un des traitements suivants : (i) 600 mg/jour d'acide lipoïque intraveineux pendant trois semaines, suivi de 1 800 mg/jour d'acide lipoïque oral pendant six mois, (ii) 600 mg/jour d'acide lipoïque intraveineux pendant trois semaines, suivi d'un placebo oral pendant six mois, ou (iii) placebo intraveineux pendant trois semaines, suivi d'un placebo oral pendant six mois (*Ziegler et al., 1999*).

Des signes d'amélioration des déficits sensoriels et moteurs - évalués par les médecins - ont pu être observés après trois semaines de traitement à l'acide lipoïque par voie intraveineuse, mais pas à la fin des six mois de traitement à l'acide lipoïque par voie orale. Cependant, un autre essai randomisé, en double aveugle et contrôlé par placebo, réalisé sur 181 patients atteints de neuropathie diabétique, a montré qu'une supplémentation orale de 600 mg/jour, 1 200 mg/jour ou 1 800 mg/jour d'acide lipoïque pendant cinq semaines améliorait significativement les symptômes neuropathiques (*Ziegler et al., 2006*).

Dans cette étude, la dose de 600 mg/jour était aussi efficace que les doses plus élevées. Enfin, un essai clinique multicentrique de quatre ans, réalisé sur 421 patients diabétiques atteints de polyneuropathie sensorimotrice symétrique distale, n'a révélé aucune différence entre l'administration orale de 600 mg/jour de lipoïque et un placebo sur le critère d'évaluation principal, un score composite qui évaluait l'atteinte neuropathique des membres inférieurs et de la conduction nerveuse (*Ziegler et al., 2011*). Pourtant, les mesures des déficiences neuropathiques spécifiques (résultats secondaires) se sont améliorées avec la supplémentation en acide lipoïque (*Ziegler et al., 2011*).

Une analyse post-hoc a suggéré que la supplémentation orale en acide lipoïque peut réduire les symptômes neuropathiques, en particulier chez les sujets présentant une charge élevée de maladies cardiovasculaires, de diabète et de neuropathie, mais avec un indice de masse corporelle (IMC) et une pression artérielle normaux (*Ziegler et al., 2016*).

d. Neuropathie autonome :

Une autre complication neuropathique du diabète sucré est la neuropathie cardiaque autonome (CAN), qui touche jusqu'à 25 % des patients diabétiques (*Ziegler et al., 2004*).

La RCA se caractérise par des dommages aux fibres nerveuses qui innervent le cœur et les vaisseaux sanguins, entraînant une réduction de la variabilité du rythme cardiaque (variabilité de l'intervalle de temps entre les battements du cœur) et un risque accru de mortalité (*Balcioglu et al., 2015*).

Dans un essai contrôlé randomisé portant sur 72 patients atteints de diabète de type 2 et présentant une variabilité réduite de la fréquence cardiaque, une supplémentation orale de 800 mg/jour d'acide lipoïque pendant quatre mois a entraîné une amélioration significative de deux mesures sur quatre de la variabilité de la fréquence cardiaque par rapport au placebo (*Ziegler et al., 1997*).

e. Rétinopathie diabétique

L'hyperglycémie chronique peut endommager les vaisseaux sanguins de la rétine et provoquer une affection potentiellement dangereuse pour la vue appelée rétinopathie diabétique. Une étude contrôlée par placebo a examiné l'effet de l'acide lipoïque sur la capacité visuelle de 80 participants dont 12 avaient un diabète de type 1, 48 un diabète de type 2 et 20 n'avaient pas de diabète. Le résultat a montré que l'administration orale quotidienne de 300 mg d'acide lipoïque pendant trois mois a empêché la détérioration de la sensibilité aux contrastes chez les diabétiques et l'a améliorée chez les patients en bonne santé par rapport au placebo (*Gebka et al., 2014*).

f. La sclérose en plaques

La sclérose en plaques est une maladie auto-immune d'étiologie inconnue qui se caractérise par la destruction progressive de la myéline et des fibres nerveuses dans le système nerveux central, provoquant des symptômes neurologiques chez les personnes touchées.

Il a été constaté que l'acide lipoïque ralentissait efficacement la progression de la maladie lorsqu'il était administré par voie orale (*Marracci et al., 2002*) ; intrapéritonéale (*Morini et al., 2004*) ou sous-cutanée (*Schreibelt et al., 2006*) à des souris atteintes d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE), un modèle de sclérose en plaques. Des études *in vitro* et animales ont montré que l'acide lipoïque présente des propriétés immunomodulatrices par des mécanismes qui stimulent la production d'AMP cyclique (cAMP) (*Salinthonne et al., 2008*).

un régulateur central des fonctions immunitaires innées - et inhibe la migration des cellules immunitaires dans le cerveau et la moelle épinière (*George et al., 2018*) peut-être en diminuant l'expression endothéliale des molécules d'adhésion cellulaire, en inhibant l'expression d'enzymes comme les métalloprotéases matricielles (MMP), et/ou en réduisant la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (*Marracci et al., 2004*).

Seules quelques études ont examiné la supplémentation en acide lipoïque chez l'homme. Une petite étude pilote conçue pour évaluer la sécurité de l'acide lipoïque chez 30 personnes atteintes de sclérose en plaques récurrente ou progressive a montré que le traitement par 1 200 à 2 400 mg/jour d'acide lipoïque par voie orale pendant deux semaines était généralement bien toléré .

Dans cette étude, des concentrations sériques plus élevées d'acide lipoïque ont été associées aux concentrations sériques les plus faibles de MMP-9 - un marqueur de l'inflammation (*Yadav et al., 2005*). Une autre étude a suggéré qu'une dose orale de 1 200 mg d'acide lipoïque chez des sujets atteints de sclérose en plaques pourrait aider à atteindre des concentrations sériques d'acide lipoïque similaires à celles qui se sont avérées thérapeutiques chez les souris (*Yadav et al., 2010*).

Une étude randomisée, contrôlée par placebo, menée sur 52 sujets (âge moyen, 30 ans) atteints de sclérose en plaques récurrente-rémittente a révélé une augmentation de la capacité antioxydante totale dans le sang avec une supplémentation en acide lipoïque (1 200 mg/jour pendant 12 semaines), mais pas de l'activité d'enzymes antioxydantes spécifiques (superoxyde dismutase et glutathion peroxydase) (*Khalili et al., 2014*).

L'acide lipoïque supplémentaire a également diminué les concentrations sériques de certains (IFN- γ , ICAM-1, TGF- γ , IL-4), mais pas de tous les marqueurs (TNF- γ , IL-6, MMP-9), des cytokines et d'autres inflammations (*Khalili M et al., 2014*).

En outre, la supplémentation en acide lipoïque n'a pas réduit la gravité des symptômes de la sclérose en plaques, comme l'a évalué le système de notation *EDSS (Expanded Disability Status Scale)* (*Khalili et al., 2017*).

g. Effets de AL sur le système vasculaire

Les cellules endothéliales vasculaires, qui tapissent la lumière du vaisseau sanguin, forment l'interface physique entre le sang et la paroi du vaisseau, empêchant l'adhésion des plaquettes et régulant la perméabilité des vaisseaux sanguins.

L'élasticité de la paroi du vaisseau est régulée par l'oxyde nitrique (NO), un gaz produit par l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS).

La perte d'activité de l'eNOS entraîne un dysfonctionnement endothélial dû à la limitation du NO, et se caractérise par une vasodilatation réduite, un milieu pro-inflammatoire et un état prothrombique. Le stress oxydatif a été impliqué dans le dysfonctionnement endothélial sur la base du fait que les antioxydants, tels que l'ascorbate et la LA, améliorent l'état redox du plasma et la vasodilatation à médiation par le NO *endothélium* (*Heitzer et al., 2001; Sena et al., 2007*) Mais la question reste de savoir comment acide lipoïque atteint ce résultat significatif. On sait, par exemple, que la voie de signalisation PI3K/Akt, en cascade depuis le récepteur d'insuline et stimulée par LA, joue un rôle important dans leurs activation (*Federici et al., 2002*).

Le traitement des cellules endothéliales aortiques humaines avec LA augmente de manière significative la synthèse de NO (*Hagen et al., 2002*) et LA améliore la perte de phosphorylation d'eNOS observée dans l'aorte des rats âgés par l'intermédiaire d'Akt (*Smith et al., 2003*). De plus, l'injection i.p. de LA chez les vieux rats restaure la vasorelaxation, caractérisée par une phosphorylation accrue de l'eNOS et de l'Akt, ainsi qu'une diminution de l'activité de la sphingomyélinase neutre et une diminution concomitante de la céramide (*Shay et al., 2008*).

Ces études utilisant des modèles *in vitro* et animaux renforcent notre compréhension du rôle de la voie de signalisation de l'insuline dans la fonction vasomotrice, et soulignent le potentiel sanitaire de la thérapie des AL. Jusqu'à présent, cependant, seuls l'essai clinique ISLAND a examiné l'AL comme un remède potentiel au dysfonctionnement endothélial (*Sola et al., 2005*).

Cet essai était une étude randomisée, en double aveugle et contrôlée par placebo, comparant l'AL à l'irbésartan, un antagoniste des récepteurs de l'angiotensine II utilisé principalement pour le traitement de l'hypertension. Les résultats ont montré que l'administration orale de LA (300 mg/jour pendant 4 semaines) et/ou l'irbésartan (150 mg/jour pour 4 semaines) à 14-15 patients atteints du syndrome métabolique s'est améliorée la vasodilatation endothéliale dépendante du flux, qui a été mesurée en utilisant le test non invasif de réactivité de l'artère brachiale. (*Sola et al., 2005*)

Toutefois, des études plus importantes et à plus long terme sont nécessaires pour établir l'efficacité de la LA en tant que thérapie de l'endothélium vasculaire dysfonctionnement. (*Sola et al., 2005*)

h. LA comme agent hypotenseur

L'hypertension est un facteur de risque d'accident vasculaire cérébral, de crise cardiaque et d'accident artériel l'anévrisme, et une des principales causes d'insuffisance rénale chronique. Même une élévation modérée de la pression artérielle est en corrélation avec une espérance de vie réduite. La justification de l'utilisation thérapeutique des La lutte contre l'hypertension artérielle repose sur sa capacité à augmenter les tissus GSH et empêchent la modification délétère du groupe sulfhydryle dans Chaînes Ca²⁺.

L'alimentation des rats hypertendus avec LA a normalisé la systolique la pression artérielle et le Ca²⁺ libre cytosolique, et a atténué les effets indésirables sur les reins les modifications vasculaires (*Vasdevet et al., 2003 ; Louhelainen et al., 2006*)

Le rôle des AL dans la régénération a réduit Le GSH a été mis en avant par El Midaoui et de Champlain (*El Midaoui et al., 2003*). Qui ont associé la restauration de l'activité de la glutathion peroxydase observée chez les rats nourris au LA avec la normalisation de la production de superoxyde aortique et la pression sanguine.

Il a également été suggéré que les AL alimentaires inhibent les et la surproductions vasculaires d'endothéline-1, un vasoconstricteur sécrété par l'endothélium (*Takaoka, 2001*). Parce que le NON est le principal vasodilatateur dans les artères des conduits et de la récente découverte que LA améliore la synthèse endothéliale du NO (**Petersen Shayet et al., 2008**), les pharmacologues ont une nouvelle pour étudier le rôle de l'AL et de l'hypertension artérielle. Cliniquement, l'administration de LA (en combinaison avec l'acétyl-L-carnitine) s'est révélé prometteur comme traitement antihypertenseur en diminuant la pression systolique chez les patients souffrant d'hypertension artérielle et les sujets atteints de le syndrome métabolique (**McMackin et al., 2007**).

En revanche, l'administration de LA (300 mg/jour pendant 4 semaines) aux patients atteints du syndrome métabolique n'a pas eu d'effet significatif sur la pression artérielle par rapport au groupe placebo (*Sola et al., 2005*)

i. LA comme agent anti-inflammatoire

L'inflammation résulte de la réponse biologique innée de des tissus vasculaires à des agents nocifs, tels que des agents pathogènes ou des irritants. Il est une tentative de l'organisme pour éliminer les stimuli nuisibles, protéger les tissus environnants, et initier le processus de guérison. Cependant, Une inflammation chronique qui ne faiblit pas contribue également à une multitude de maladies, comme l'athérosclérose, l'asthme et la polyarthrite rhumatoïde. Elevé Les niveaux de stress oxydatif jouent un rôle important dans les l'inflammation. (*Fratantonio et al., 2018*).

Il est probable que l'inflammation associée au stress oxydatif provoque des événements vasculaires précoces dans l'athérogenèse, y compris la régulation des molécules d'adhésion vasculaire et de la métalloprotéinase de la matrice l'activité. (*Valdecantos et al., 2015*).

Ces événements nécessitent l'activation du NF-kappaB, un facteur de transcription qui induit l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'inflammation et la migration des cellules endothéliales. Compte tenu de l'oxydation la nature de l'inflammation, les stratégies thérapeutiques visant à atténuer La production d'oxydants et les dommages oxydatifs ont été étudiés pour décennies dans différents modèles d'inflammation. (*Fratantonio et al., 2018*).

Conformément à cette stratégie, l'AL a été étudiée pour son propriétés antioxydantes dans l'inflammation induite par les cytokines ; il est également largement connu comme un inhibiteur du NF-kappaB (*Tritschler et al., 1995*).

Les résultats montrent que LA réduit l'expression de la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1 (VCAM-1) et l'adhésion endothéliale des monocytes humains (*Kunt et al., 1991*), et inhibe le NFkappaB- expression dépendante de la métalloprotéinase-9 *in vitro* (*Kim et al., 2007*).

De même, LA (25-100 µg/ml=122-486 µM) empêche la régulation à la hausse de la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1) et de la cellule vasculaire molécule d'adhésion-1 (VCAM-1) dans la moelle épinière et dans le TNF-alpha des cellules endothéliales cérébrales cultivées stimulées (*Chaudhary et al., 2006*). Induit par le collagène l'arthrite a été atténuée par la LA (10-100 mg/kg p.i.) chez les souris DBA/1 par la réduction des cytokines inflammatoires comme le TNF-alpha, et des l'inhibition de la liaison du NF-kappaB à l'ADN (*Lee et al., 2007*).

Dans cette étude, LA a également a inhibé la formation d'ostéoclastes, ce qui suggère que l'AL pourrait être utile dans la prévention de l'érosion osseuse et de la destruction des articulations chez les rhumatoïdes l'arthrite.

Dans une autre étude, le prétraitement des feuilles de collagène avec LA (2 mg) avant l'implantation a diminué l'os induit par le TNF-alpha résorption chez les souris ICR (*Lee et al., 2007*).

Dans l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (un modèle animal de la sclérose en plaques) Souris traitées aux LA a montré une nette amélioration de l'infiltration du système nerveux central Cellules T et macrophages, diminution de la démyélinisation et de la moelle épinière l'expression des molécules d'adhésion (ICAM-1 et VCAM-1) (*Chaudhary et al., 2006*). La régulation à la baisse des CD4 de surface observée dans le sang traité par LA a été proposé pour tenir compte, au moins en partie, de la la modulation de l'infiltration des cellules inflammatoires dans le système nerveux central système (*Marracci et al., 2006*).

Ceci est dû au fait que le co-récepteur CD4 amplifie le signal généré au niveau du récepteur des cellules T par le recrutement de la protéine des lymphocytes kinase Lck, qui à son tour déclenche une cascade d'événements conduisant à la cellule T l'activation.

Il est intéressant de noter que le DHLA n'a pas réduit la régulation des CD4 de la surface des cellules mononucléaires du sang périphérique humain (*Marracci et al., 2006*).

En tant que alternative ou en complément de la régulation à la baisse des CD4, l'immunomodulation Les propriétés de l'AL peuvent impliquer la régulation à la hausse du cAMP dans les cellules T et les cellules tueuses naturelles (*Schillace et al., 2007*).

Migration cellulaire et néovascularisation ont également été inhibés par LA (86 µg/jour dans l'eau potable) en c57/ des souris noires auxquelles on a injecté le sarcome de Kaposi dans une éponge matrigel, comme ainsi que chez des souris nues auxquelles on a injecté des cellules KS (*Largheroet al., 2007*).

Dans un modèle de souris de l'asthme bronchique, la LA alimentaire a considérablement atténué l'hyperréactivité des voies aériennes, a réduit le nombre d'éosinophiles dans les broncho-alvéolaires de lavage des cellules, et a considérablement amélioré les scores des lésions pathologiques de la les poumons (*Cho et al., 2004*).

LA inhibe l'activation du NF-kappaB induite par le TNF-alpha et l'expression de la molécule d'adhésion dans les cellules endothéliales aortiques humaines via un mécanisme apparemment distinct des antioxydants, comme l'ascorbate ou réduit la GSH, mais conforme au fonctionnement d'un chélateur de métaux. Récemment, l'inhibition de l'inflammation aiguë induite par les endotoxines par LA a été associée à la stimulation du PI3K/Akt voie (*Zhang et al., 2007*).

Jusqu'à présent, les propriétés anti-inflammatoires de la LA ont rarement été étudiées chez l'homme. L'essai ISLAND a montré qu'un taux de 15 % de diminution des taux sériques d'interleukine-6 après 4 semaines de supplémentation avec LA (300 mg/jour) (**Mir et al., 2005**).

Cette constatation peut prouver important pour la santé humaine car l'interleukine-6 est un marqueur de l'inflammation dans les plaques d'athérosclérose coronaire, et aussi régule l'expression d'autres cytokines inflammatoires, telles que interleukine-1 et TNF-alpha. Cependant, l'ensemble des preuves est actuellement trop limitée pour être concluante. (**Zhang et al., 2007**).

j. Des effets neuroprotecteurs

L'acide alpha-lipoïque pénètre aisément dans le cerveau et peut atteindre toutes les parties des cellules nerveuses. (**Olmez et al., 2012**).

Des études expérimentales ont montré qu'après un accident cérébro-vasculaire, l'acide alphalipoïque réduit les lésions cérébrales et multiplie par trois le taux de survie des animaux. Le stress oxydant et l'inflammation jouent un rôle important dans la dégénération des neurones et la maladie d'Alzheimer. (**Chrissobolis et al., 2011**)

L'accumulation de dépôts insolubles de protéines et des produits finis de glycation avancée (AGEs) dans le cerveau est caractéristique de la neurodégénérescence et de la maladie d'Alzheimer. (**Holmquist et al., 2007**).

Des recherches montrent qu'une supplémentation avec de l'acide alpha-lipoïque pourrait conduire à une stabilisation des fonctions cognitives et, indirectement, renforcer le système de défense antiglycation, constituant un traitement neuroprotecteur potentiel dans la maladie d'Alzheimer et les démences associées. (**Hager et al., 2007**).

Des chercheurs pensent que l'acide alpha-lipoïque pourrait augmenter la production d'acétylcholine, un messager essentiel du système nerveux déficient dans le cerveau de sujets souffrant de maladie d'Alzheimer. Dans une étude ouverte, neuf patients souffrant de maladie d'Alzheimer ont reçu quotidiennement 600 mg d'acide alpha-lipoïque en plus d'un traitement conventionnel pendant douze mois. Constatant une stabilisation des fonctions cognitives, les chercheurs ont étendu leurs analyses à 43 patients qu'ils ont suivis pendant quatre ans.

Ils ont observé que la maladie progressait très lentement chez les sujets atteints de démence légère et que le taux de développement de la maladie était beaucoup plus faible que dans d'autres études de longue durée. Ils en ont conclu que l'acide alpha-lipoïque pourrait représenter une option thérapeutique neuroprotectrice pour la maladie d'Alzheimer (*Rocamonde et al., 2012*).

D'autres études soutiennent l'intérêt clinique de l'acide alpha-lipoïque comme traitement neuroprotecteur dans la maladie d'Alzheimer, plus spécifiquement aux premiers stades de la maladie (*Tsujioka et al., 2006*).

k. . Déficiences cognitives et démence

Des études menées sur des modèles animaux de vieillissement et de maladies neurodégénératives ont indiqué que l'administration d'acide lipoïque pourrait améliorer les mesures de la mémoire spatiale, de la capacité d'apprentissage et/ou de la fonction motrice (*Molz et al., 2017*).

Plusieurs études suggèrent que la supplémentation orale en acide lipoïque peut ralentir le déclin cognitif lié au vieillissement ou aux états pathologiques chez l'homme. Un essai non contrôlé et ouvert sur neuf patients atteints d'une probable maladie d'Alzheimer et de démences apparentées, qui prenaient également des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, a rapporté que la supplémentation orale avec 600 mg/jour d'acide lipoïque semblait stabiliser la fonction cognitive sur une période d'un an (*Hager et al., 2001*).

Une étude ultérieure qui a suivi 43 patients pendant une période allant jusqu'à quatre ans a révélé que les personnes atteintes de démence légère ou de démence modérément précoce qui prenaient de l'acide lipoïque (600 mg/jour), en plus des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, connaissaient un déclin cognitif plus lent par rapport au déclin cognitif typique des patients atteints de la maladie d'Alzheimer tel que rapporté dans la littérature (*Hager et al., 2007*). Cependant, la signification de ces résultats est difficile à évaluer sans un groupe de contrôle pour la comparaison. Un essai contrôlé randomisé a montré qu'une supplémentation orale de 1200 mg/jour d'acide lipoïque pendant 10 semaines n'était pas bénéfique pour traiter les troubles cognitifs associés au VIH (*Dana., 1998*).

Les résultats d'un autre essai randomisé sur 39 patients atteints de la maladie d'Alzheimer ont suggéré que la supplémentation en concentré d'huile de poisson (riche en acides gras oméga-3) avec ou sans acide lipoïque (600 mg/jour) pendant un an pourrait retarder la progression des déficiences cognitives et fonctionnelles évaluées par le système de notation des Activités Instrumentales de la Vie Quotidienne (AIVQ) par rapport au placebo (*Shinto et al., 2014*).

Il est intéressant de noter que les patients qui ont pris du concentré d'huile de poisson avec de l'acide lipoïque n'ont montré aucune détérioration de la fonction cognitive globale (telle qu'évaluée par le système de notation du Mini-Mental State Examination [MMSE]) sur 12 mois, contrairement à ceux qui ont pris soit le concentré d'huile de poisson seul, soit un placebo (*Shinto et al., 2014*).

I. Gestion du poids

Une méta-analyse de 2018 d'essais randomisés et contrôlés par placebo a révélé que la supplémentation en acide lipoïque chez les personnes ayant un indice de masse corporelle (IMC) élevé entraînait des réductions significatives, bien que modestes, du poids (9 études) et de l'IMC (11 études) en l'absence de restriction calorique (*Namazi et al., 2018*).

Des analyses de sous-groupes ont révélé que la perte de poids était plus importante chez les participants en surpoids que chez les participants obèses, chez les participants en mauvaise santé que chez ceux en bonne santé, avec des doses quotidiennes de ≤ 600 mg, et pour une période d'intervention inférieure à 10 semaines. Il n'y a pas eu de réduction du tour de taille avec un supplément d'acide lipoïque (*Namazi et al., 2018*).

Des réductions substantielles du poids et de l'IMC avec une supplémentation en acide lipoïque chez des sujets en surpoids ou obèses ont également été signalées dans une méta-analyse antérieure (*Kucukgoncu et al., 2017*).

12. Pharmacomodulation de l'acide lipoïque :

L'acide lipoïque est une substance largement étudiée et dont les effets thérapeutiques sont liés en particulier à son activité antioxydante.

Cette molécule présente les caractéristiques chimiques uniques de posséder une fonction disulfure cyclique à une extrémité de la molécule et à l'autre extrémité, une fonction acide carboxylique, ce qui rend cette molécules parfaitement compatible avec les différents couplages (peptidiques, d'estérification....etc.). L'acide lipoïque a fait l'objet de nombreuses études de recherche dans le but d'améliorer son profil pharmacocinétique et son efficacité thérapeutique. En termes d'amélioration de l'activité antioxydante de cette molécule, un ensemble de molécules hybrides ont été synthétisées. Une série d'esters obtenue par couplage de l'acide lipoïque avec des phénols doués d'activité antioxydante a révélé un effet de synergie remarquable (*Kaki et al., 2012*).

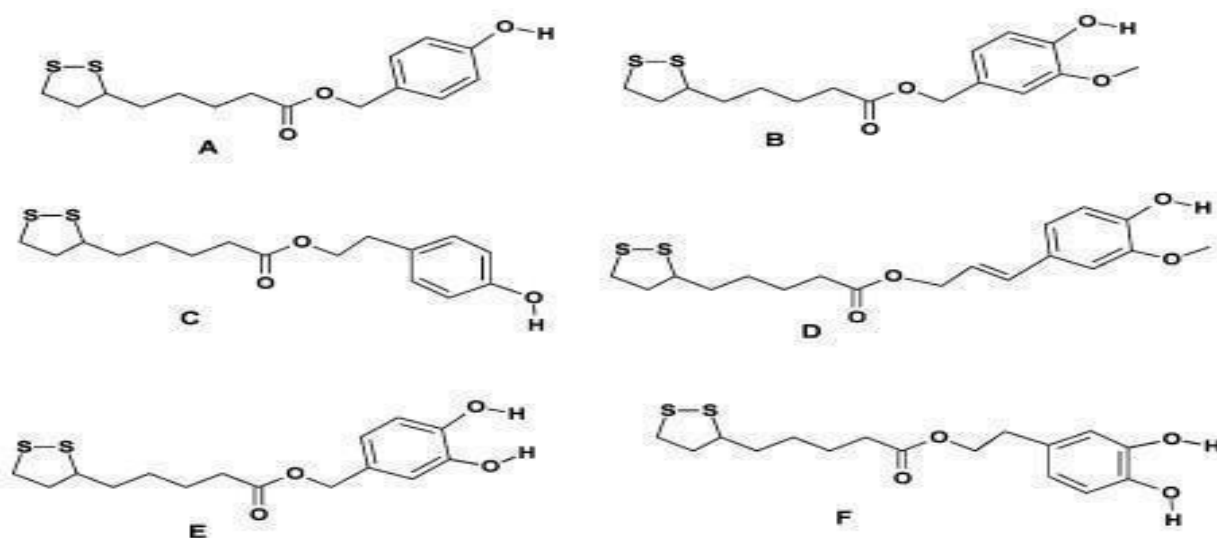


Figure.9. Nouvelles structures d'esters obtenues par couplage de l'acide lipoïque avec des phénols (*Kaki et al., 2012*).

La pégylation de l'acide lipoïque (Figure 10) a pour effet d'augmenter son hydrosolubilité, ce qui améliore d'avantage ses propriétés pharmacologiques (*Kim et al., 2011*).

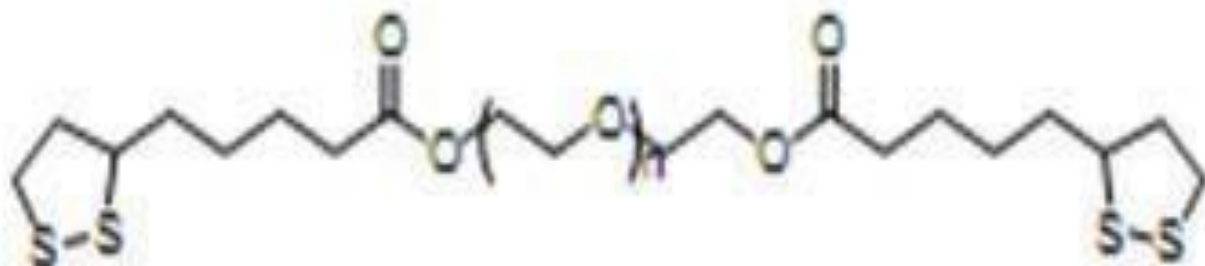


Figure 15. Nouveaux esters hydrosolubles obtenus par pégylation de l'acide lipoïque (*Kim et al., 2011*).

La synthèse et l'évaluation biologique de plusieurs séries de molécules anticancéreuses dérivées de l'acide lipoïque ont été rapportées dans la littérature (*Zhang et al., 2010*).

Trois têtes de séries sont données sur (**Figure 16**) suivante :

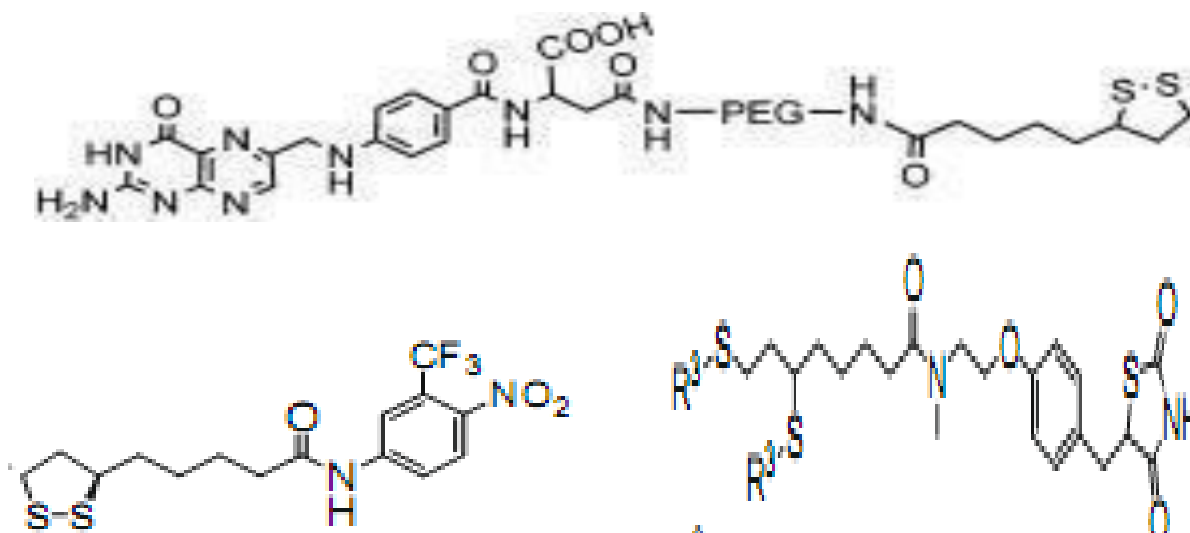


Figure 16. Structures de molécules anticancéreuses dérivées de l'acide lipoïque (*Zhang et al., 2010*).

Parmi les nombreuses possibilités de développements offertes par l'acide lipoïque en tant qu'agent thérapeutique, un accent particulier a été apporté pour la synthèse de nouveaux conjugués acide lipoïque-chroman (Figure 17).

L'évaluation biologique de ces composés a déjà permis d'obtenir de meilleures activités cardioprotectives et antioxydantes (*Koufaki et al., 2004*).

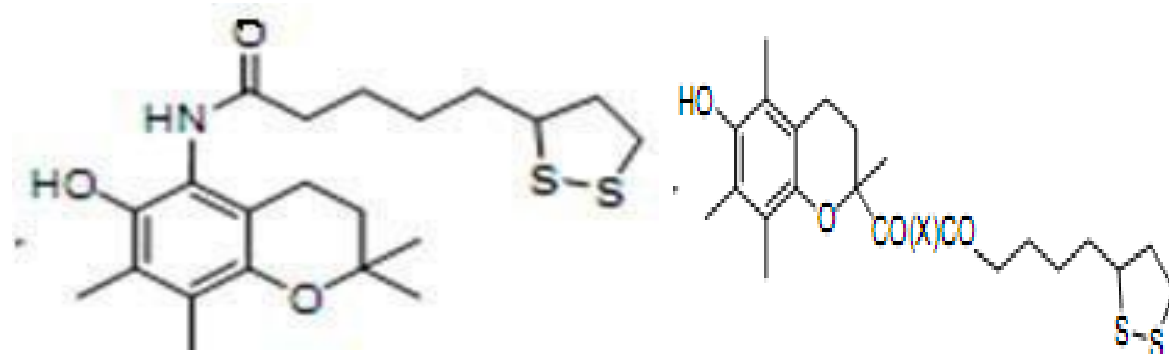


Figure. 17. : Structures des chromanes analogues de l'acide lipoïque douées de propriétés antioxydantes et antiarrhythmiques (*Koufaki et al., 2004*).

13. Toxicité de l'acide alpha lipoïque

La supplémentation en AAL a été déterminée sécuritaire et est associée à très peu d'effets secondaires graves. La concentration sans effet indésirable observé d'AAL est considérée être de 60 mg/kgmc/jour. L'analyse de sécurité a montré une augmentation selon la dose du nombre de nausées, vomissements et vertiges avec une supplémentation orale de plus de 600 mg/jour. Théoriquement, puisque l'AAL améliore l'absorption du glucose médiée par l'insuline, la co-administration d'AAL par voie orale avec de l'insuline ou des antidiabétiques oraux pourrait potentiellement augmenter le risque d'hypoglycémie chez les patients diabétiques : cependant, les essais cliniques n'ont pas observé d'interactions médicamenteuses importantes. En raison de la similitude des structures, de fortes concentrations d'AAL par voie orale pourraient rivaliser avec la biotine pour le transport à travers les membranes cellulaires. (*Karaarslan et al., 2013*).



Chapitre III

Chapitre III : Partie pratique

Materiels et Methode

Matériels et Méthodes

1. Matériel biologique

Dans notre étude, nous avons utilisé 40 rats blancs femelles *Rattus norvegicus* de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur (Centre d'élevages El Kouba, Alger), âgés de cinq semaines et ayant un poids corporel entre 150 et 170 g. Il s'agit de mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours environ, aux conditions de l'animalerie et à une température voisine de 25°C et une photopériode naturelle.

L'étude expérimentale sur des rats femelles de souche wistar a été programmée et réalisée à l'animalerie du laboratoire de bio- toxicologie expérimentale de l'université Sidi Bel Abbes.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois, soumis à une température de 22 ± 2 °C et nourris avec un concentré équilibré en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux. Toutes les procédures effectuées sur les animaux ont été menées en respectant les recommandations du guide de l'institut national de la santé (Règlement n ° 488/160/1999 / CPCSEA). Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 2 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Classification systématique (Laroche et Rousselet, 1990)

- **Règne** : Animalia
- **Embranchement** : Chordata
- **Classe** : Mammalia
- **Sous-classe** : Theria
- **Ordre** : Rodentia
- **Sous-ordre** : Myomomorpha
- **Famille** : Muridae
- **Sous-famille** : Murinae
- **Genre** : *Rattus*
- **Espèce** : *rattus norvegicus*



Figure18 : Conditionnement des rats dans l'animalerie de l'université.

Les rats ont libre d'accès à l'eau et à la nourriture conditionnée sous forme de bâtonnets. La valeur énergétique pour 100g d'aliment est de 345 Kcal (tableau 1).

Tableau 11 : Composition de l'alimentation des rats

| Désignation | Quantité en % |
|----------------------------------|---------------|
| Glucides | 49,80 |
| Protéines | 23,50 |
| Lipides | 5,00 |
| Complexe minérale-vitamine (CMV) | 5,7 |
| H20 | 16,00 |

1. DESCRIPTION DES PRODUIT

1.1. Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) :

Ce produit a été obtenu sous forme poudre cristallisée, il a été dissous dans de la solution saline NaCl 0.97 %. Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) a été utilisé dans notre expérimentation pour l'intoxication des rats.

1.2. L'Acide lipoïque

Appelé aussi acide thioctique, l'acide alpha-lipoïque est un composé soufré dit « universel », car il agit aussi bien en milieu lipidique qu'en milieu aqueux. Dans l'organisme, l'acide alpha-lipoïque participe à certaines réactions chimiques nécessaires pour fournir de l'énergie aux cellules (Smith, 2003).

L'acide alpha lipoïque a été utilisé dans notre expérimentation après avoir intoxiqué les rats par l'aluminium pour étudier son effet sur pour cette forme d'intoxication. Nous avons utilisé des flacons dont la composition est suivante : (la pureté de 99 % de l'acide (R)-a-lipoïque) et qui ont été fabriqué par SOLGAR Pharmaceuticals (Turquie). Chaque capsule fournit : L'Acide alpha-lipoïque (acide thioctique) à raison de 60 mg (figure 19). Ce produit est garanti sans sucre, sans sel, sans maïs, sans levure, sans blé, sans soja, sans dérivés laitiers, sans colorants artificiels, sans arômes artificiels, sans conservateurs. L'acide alpha lipoïque (**α -L**) a été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) à 0.1 % (Arivazhagan et al, 2003) et administrée par voie intra gastrique (la sonde) une fois par jour.

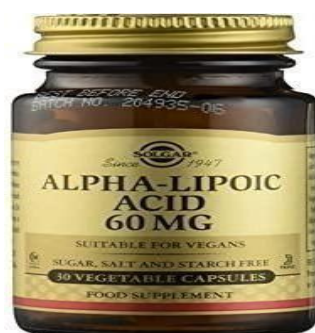


Figure 19. Acide alpha lipoïque

2. Protocole Expérimentale :

Dans la première étude, les rats femelles ont été repartis en 5 groupes de 8 rats chacun, de la manière suivante :

1. **Groupe 1 : rats témoins** ont reçu 1 ml d'eau physiologique NaCl 0.9 % par injection intra péritonéale. Ce traitement s'est poursuivi pendant 3 semaines.
2. **Groupe 2 : intoxiqué par l'aluminium:** a été traité avec $AlCl_3$ (100 mg/kg de poids corporel) par injection de 1 ml intra péritonéale (IP) chaque jour pendant une période de trois (03) semaines.
3. **Groupe 3 : Le groupe α -L** a reçu une dose unique de 100 mg/kg de l'acide alpha lipoïque par voie gavage pendant une période de trois (03) semaines. α -L (100 mg/kg de poids corporel/jour) a été dissoute dans 0,1% de diméthyl sulfoxyde DMSO et administré en volume de 1 ml par sonde intra- gastrique une fois par jour (*Armagan et al., 2015*) pendant 21 jours (*Arivazhagan et al, 2003*).
4. **Groupe 4 : (groupe traité par $AlCl_3$ + α -L)**, les rats ont été traités oralement avec (100 mg /kg) d'acide alpha lipoïque α -L en association avec 100 mg/kg/PC/ chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), en volume de 1 ml.
5. **Groupe 5 : (groupe traité par α -L après $AlCl_3$)** a été traité avec acide alpha lipoïque (100 mg/kg de Poids corporel) par gavage oral une fois par jour pendant 21 jour en volume de 1 ml et cela après intoxication subaiguë par le chlorure d'aluminium pendant 21 jours (*Şehirli et al., 2008*).



Figure 20. Répartition des lots expérimentaux



(A) gavage oral intra gastrique chez ratswistar / (B) injection intra péritonéale

Figure 21. Gavage oral intra gastrique chez rats wistar / injection intra péritonéale

1. Etude de l'évolution pondérale et poids des organes :

Les variations du poids corporel des rats ont été rapportées chaque jour sur un registre durant toute la période de l'expérimentation et effectuée par pesée des rats sur une balance de précision 0.01% ainsi que l'enregistrement du poids après le sacrifice.

2. Prélèvement sanguin

Les échantillons de sang ont été prélevés de l'artère carotide après une légère anesthésie sur tube héparine lithium, EDTA et sur tube sec avec une seringue non réutilisable.

Les échantillons obtenus ont été stockés au congélateur, à -20°C pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques (glucose, urée, créatinine, bilirubine, cholestérol, triglycérides, transaminases (Selon la fiche technique Spinreact)

3. Examens hématologiques

Les analyses des paramètres hématologiques sont effectuées à l'aide L'analyse à partir d'une prise de sang prélevé sur un tube contenant un anticoagulant, se fait de nos jours par un automate d'analyses médicales (Beckman coulter Médonic). Cette machine mesure directement le nombre d'érythrocytes, le volume globulaire moyen (VGM) de chacun d'entre eux et dose le taux d'hémoglobine. Il calcule ensuite l'hématocrite (rapport représenté par l'ensemble des globules rouges dans le sang), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), paramètre ayant moins d'importance.

4. Examens biochimiques

Le sérum est séparé des échantillons de sang entier par centrifugation à 5000 t/mn pour 10 mn et stocké à -20 °C jusqu'à l'analyse avec un analyseur chimique multiparamétrique automatisé. Le réactif Erba Mannheim est utilisé pour les paramètres biochimiques suivants:

Glucose (Glu) ; Urée (Urée); Créatinine (Créa);Aspartate aminotransférase (ASAT); Alanine Aminotransférase (ALAT); Cholestérol total (Chol): Triglycéride (TG)

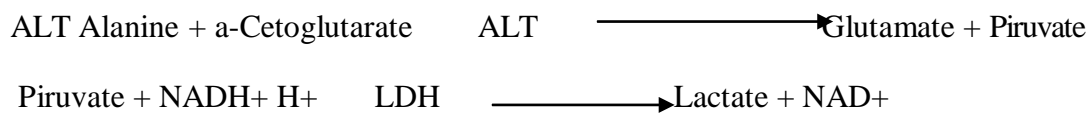
I. Dosage d'Aspartate aminotransférase (AST/TGO): Selon la fiche technique Spinreact :

- **Principe** : L'aspartate aminotransférase (AST) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate à l'α-cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate.

L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murry, 1984).

II. Dosage d'alanine aminotransférase (ALT/TGP) Selon la fiche technique Spinrea •

Principe : Le principe est présenté selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Murry, 1984).

III. Dosage de l'urée : Selon la fiche technique Spinreact.

- **Principe** L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH⁴⁺) et le dioxyde de carbone (CO₂). L'ion ammonium réagit avec le salicylate et hypochlorite dans une réaction catalysée par Nitroprusside pour donner indophenol (Kaplan, 1984).

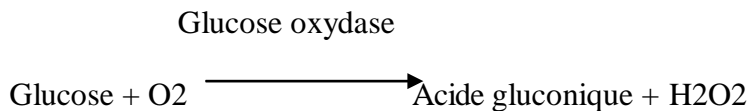
IV. Dosage de la créatinine: Selon la fiche technique Spinreact.

Principe L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec acide picrique : c'est la réaction de JAFFE. La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour donner un complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murry, 1984).

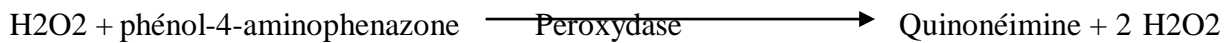
V. Dosage de la Glycémie

Principe: Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec un phénol et la 4- amino-phénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré, selon les réactions suivantes

Réaction 1 : réaction du dosage

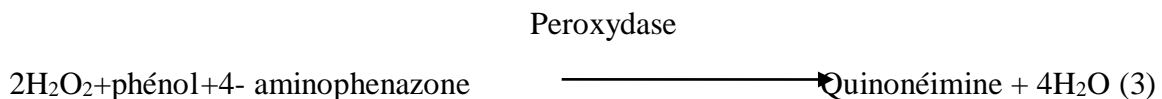
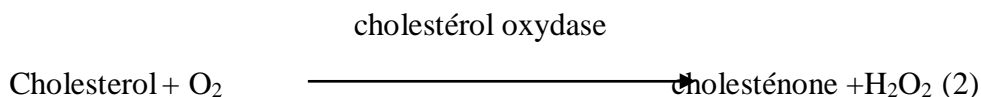
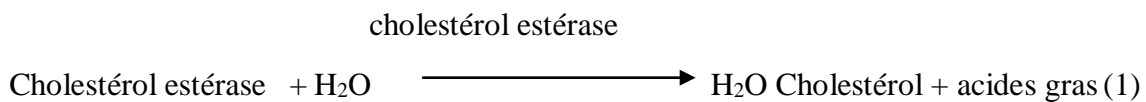


Réaction 2 : réaction indicatrice



VI. Dosage du Cholestérol Total : Selon la fiche technique Spinreact

Principe : Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon les réactions ci- dessous :

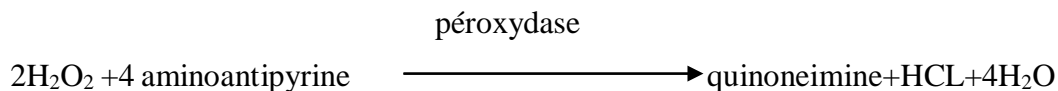
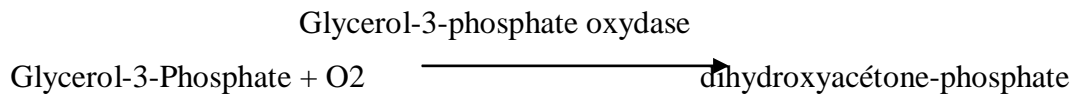
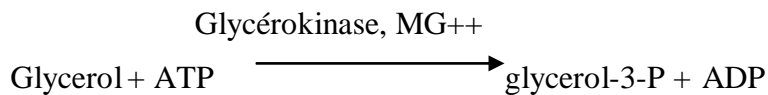
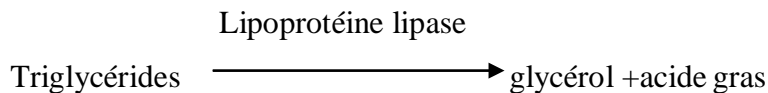


L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon. (Naito, 1984).

VII. Dosage des Triglycérides

Les triglycérides sont dosés par la méthode colorimétrique et enzymatique de Fossati, (1982). Le glycérol, libéré suite à l'hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipase, est transformé en glycérol-3-phosphate grâce à l'action de la glycérokinase.

Le glycérol-3-phosphate subit l'action de la glycérophosphate oxydase pour former la déhydroxy-acétone phosphate et le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci en présence de peroxydase, oxyde un groupement chromogène (amino-4- antipirine / chloro-4-phénol), pour former un composé coloré en rose. Les réactions chimiques sont les suivantes:



5. Prélèvements des échantillons

Après 3 semaines de traitement les 5 groupes de rats ont été sacrifiés Le cerveau, le foie, les reins, la rate et les ovaires ont été enlevés. Chaque organe est rapidement pesé et fixé en formaldéhyde tamponnée neutre (10 %) pour des études histopathologique (*Karl-Heinz et al., 2001*).

I. L'étude histologique :

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau de laboratoire d'anatomie CHU Abdelkader Hassani Sidi Bel Abbes. La technique utilisée est celle décrite par Hulot (1984)

Elle comporte les étapes suivantes :

□ □ Fixation

La fixation des échantillons (foie ; rein et cerveau) à été réalisée par le formol.

Les organes sont retirés de formol et sont coupés à l'aide de couteaux tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1à 2 cm² et une épaisseur proche de 1.5 mm. Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

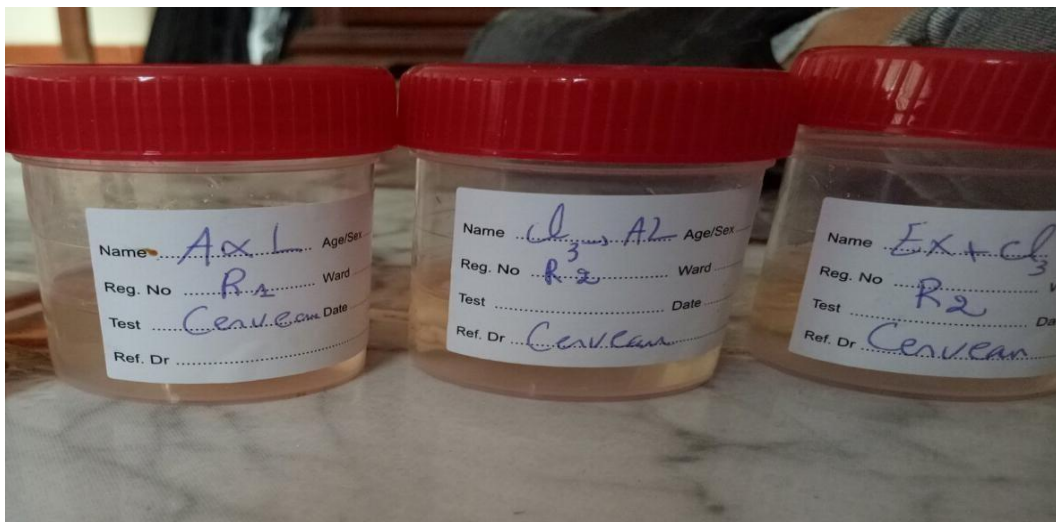


Figure 22. Fixation des organes pour examen histologique

□ □ Déshydratation des échantillons

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%,80%,90% et 100%).

La déshydratation peut être accélérée par l'agitation rapide grâce à des automates spéciaux.

➤ L'inclusion et réalisation des blocs

Les tissus sont alors plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur).

Les tissus étant maintenus et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

□ □ Les Coupes et la coloration des échantillons

Les blocs d'inclusions sont collés sur un porte-échantillon, la surface à coller est ramollie au moyen d'une lame métallique chauffée modérément à la flamme, puis posée sur le porte-objet sur lequel le bloc adhère très bien après une légère pression.

Les coupes sériées sont réalisées à l'aide d'un microtome (l'épaisseur est de 4 à 7 microns). Ces coupes sont étalées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine (ou Hématoéine-Eosine) qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100ml d'eau distillée + 2 ml d'ammoniaque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375ml eau distillée et 2 Gouttes d'acide acétique) selon les étapes suivantes :

- *Deparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée.*
- Immerger dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- Différencier les coupes dans l'alcool acide (1à2 plongées), déposer ensuite les lames dans un bain d'eau du robinet et vérifier la différenciation au microscope.

- **Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale**
 - Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).
- Enfin deshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

2. Analyse statistique

Les données rassemblées sont exprimées en moyenne (\bar{x} ± écart type (σ) et effectif (n) (Équation 1 et Équation 2).

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \begin{array}{l} \bar{x} \text{ Moyenne arithmétique observée} \\ \{n: \text{nombre d'observations} \\ x_i: \text{observations } i \text{ allant de } 1 \text{ jusqu'à } n \end{array}$$

Équation 1. Moyenne arithmétique observée

$$\sigma = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad \begin{array}{l} \bar{x} \text{ Moyenne arithmétique observée} \\ \{n: \text{nombre d'observations} \\ x_i: \text{observations } i \text{ allant de } 1 \text{ jusqu'à } n \\ \sigma: \text{écart type observé} \end{array}$$

Equation 2 : Écart type observé

Les statistiques descriptives sont effectuées avec Microsoft Excel 2019 et comprennent :

- Représentations tabulaires en utilisant les tableaux statistiques croisés ;
- Représentations graphiques en utilisant les diagrammes en barres avec tiges ;
- Paramètres statistiques avec comme paramètre de position et comme paramètre de dispersion.

Les statistiques inférentielles sont exécutés en utilisant le logiciel "Statistical Package for the Social Sciences" (IBM SPSS v23), Les test utilisés sont choisi après vérification des conditions de validité, ainsi La normalité est vérifiée par le test Kolmogorov-Smirnov et le test de Shapiro-Wilk, L'homogénéité de la variance est vérifiée par le test Levene.

La comparaison entre les différences de poids est réalisée avec le test t de Student pour deux échantillons appariés.

La comparaison entre les groupes expérimentales est établie en utilisant l'analyse de la variance à un facteur (si la normalité respectée et l'homogénéité de la variance respectée),

Le test Brown-Forsyth et le test Welch (si la normalité respectée et l'homogénéité de la variance non respectée) ou le test H Kruskal-Wallis (si la normalité non respectée), suivi si significatif avec le test *a posteriori* de Tukey (si la normalité respectée) ou le test U Mann-Whitney (si la normalité non respectée). Le seuil de signification est 0,05.



Chapitre IV

Chapitre IV : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Intoxication au chlorure d'aluminium chez les rats Wistar femelles

1. Bilan hépatique :

1.1.L'évolution de TGO

Les résultats relatifs aux TGO montrent que le traitement chez des rats femelles par le chlorure d'aluminium $AlCl_3$ provoque une augmentation des concentrations sériques du TGO et une augmentation du taux de TGP par rapport au groupe témoin.

Le taux de TGO moyen est **58,90 ±50,56 UI/l** chez le groupe témoins (T) par contre celui des rats intoxiqués lot 3 est de l'ordre 238,24±21.92 UI/l. (**figure 23**)

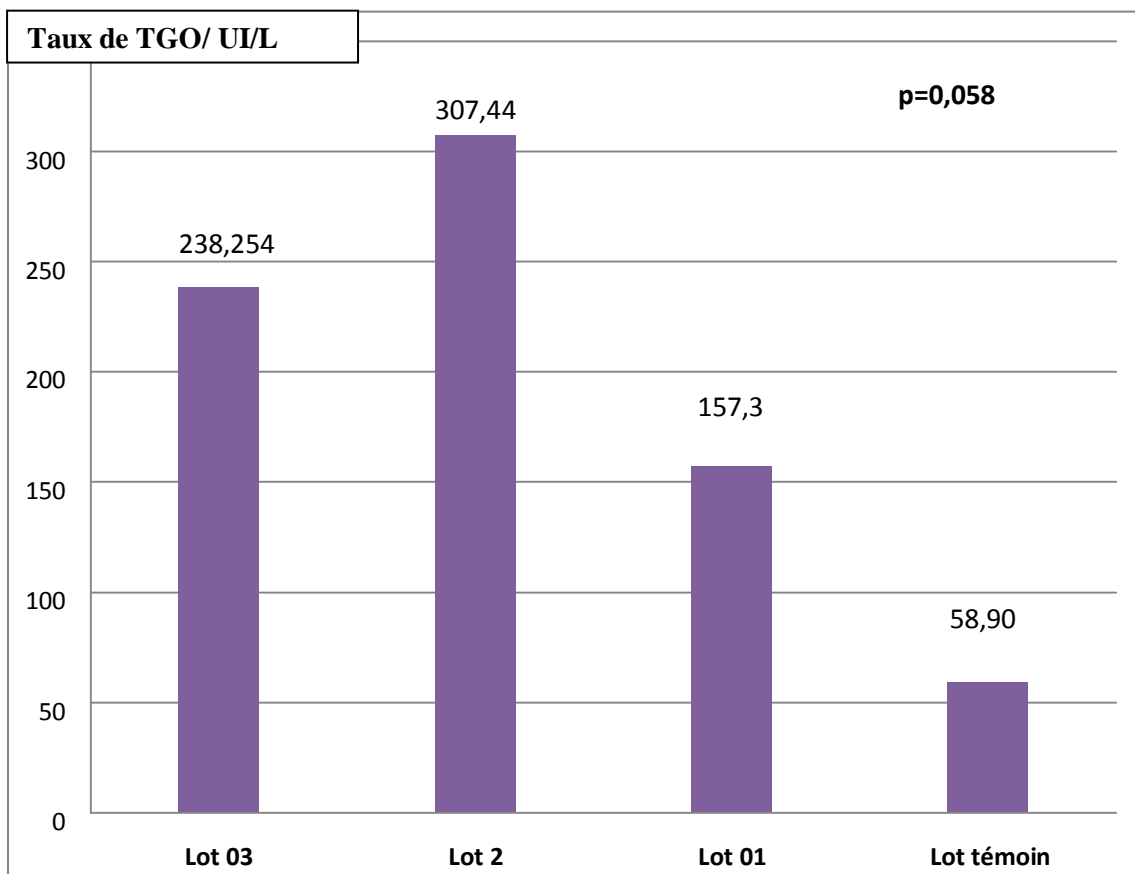


Figure 23.Taux de TGO en UI/L chez les rats intoxiquées (I) par $AlCl_3$ à une dose de 10 mg/kg.pc comparées aux témoins(T) durant 10j, 15j, 21j .

1.2.L'évolution de TGP

Le taux moyen de TGP est de $37,56 \pm 37,28$ UI/L chez les souris témoins (T) par contre celui des rats intoxiqués est de $349,51 \pm 271,54$ UI/L (figure 24).

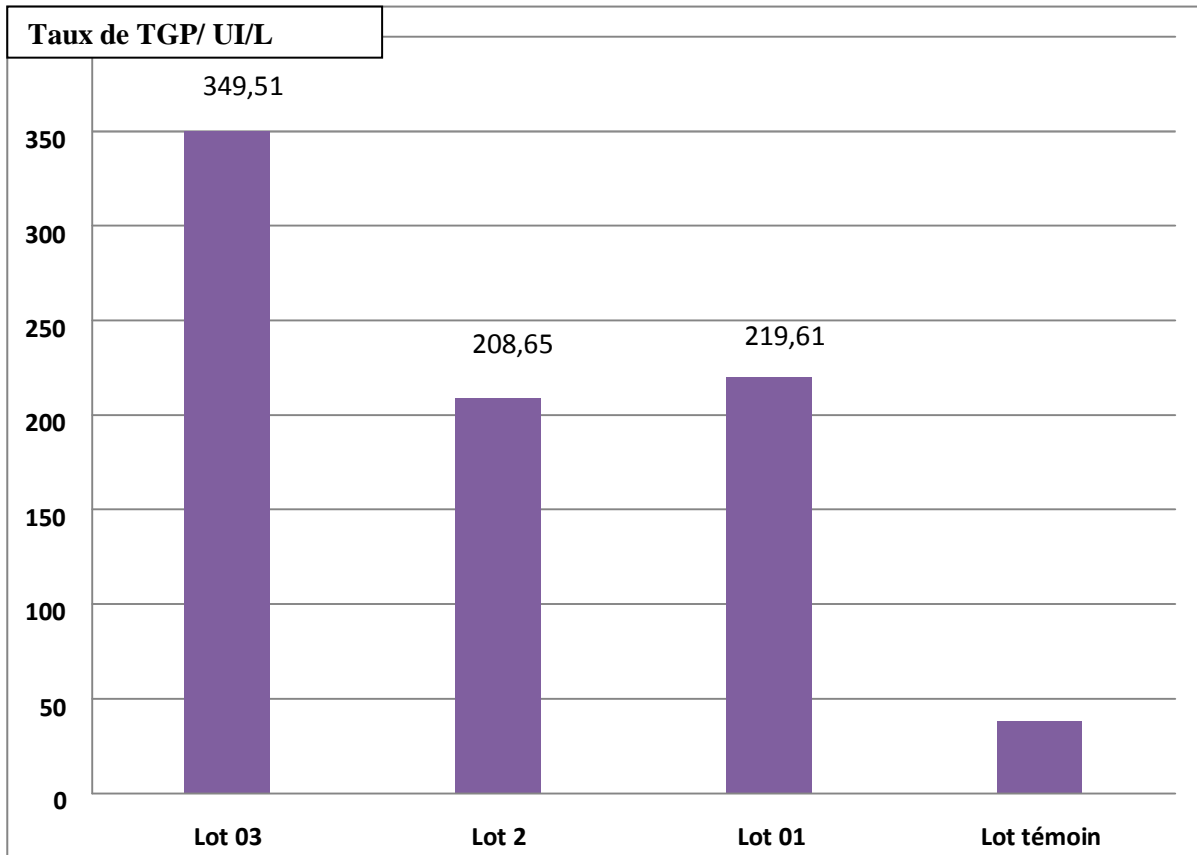


Figure 24. Taux de TGP en UI/L chez les rats intoxiqués par AlCl3 avec une dose de 10 mg/kg. Pc comparées aux témoins(T) durant 10 j, 15j, 21 j.

TGO et TGP sont reconnus comme les principaux indicateurs de lésions hépatiques (*Metwally et Mazhar*) . Notre étude a montré une augmentation significative de l'activité de TGO et de TGP sériques, indiquant que l'exposition à l'AlCl3 entraîne une perméabilité accrue, des dommages et/ou une nécrose des hépatocytes. Lorsque le foie est lésé, TGO et TGP augmentent et sont libérés dans le sang périphérique, donc dans le sérum (*Duterte-Boucher et al, 1988*).

Metwally et Mazhar 2007, ont également montré que la toxicité de l'Al provoquait une perturbation du métabolisme des glucides, par l'augmentation de la dégradation du glycogène hépatique, peut-être due a une augmentation des hormones adrénocorticotrophes et du glucagon et/ou une réduction de l'activité de l'insuline.

2. Evaluation du bilan hormonal

La progestérone est une hormone stéroïde principalement sécrétée par les corps progestatifs des ovaires. Elle est synthétisée à partir du cholestérol sous l'action de la hormone lutéinique (LH). Au niveau du sang total, nous avons enregistré un taux de progestérone significativement plus élevé chez le lot 1 (groupe pré-pubère) avec un taux moyen de $11,00 \pm 6,25$ (témoin 1) par rapport au lot (2) et (3), (**figure 25**).

Le taux moyen de LH chez le lot 1 (groupe pubère) était de $1,35 \pm 0,29$ par contre il était de $0,40 \pm 0,24$ au groupe pré-pubère. Une différence significative a été notée entre les deux groupes ($p < 0,01$). (**figure 26**).

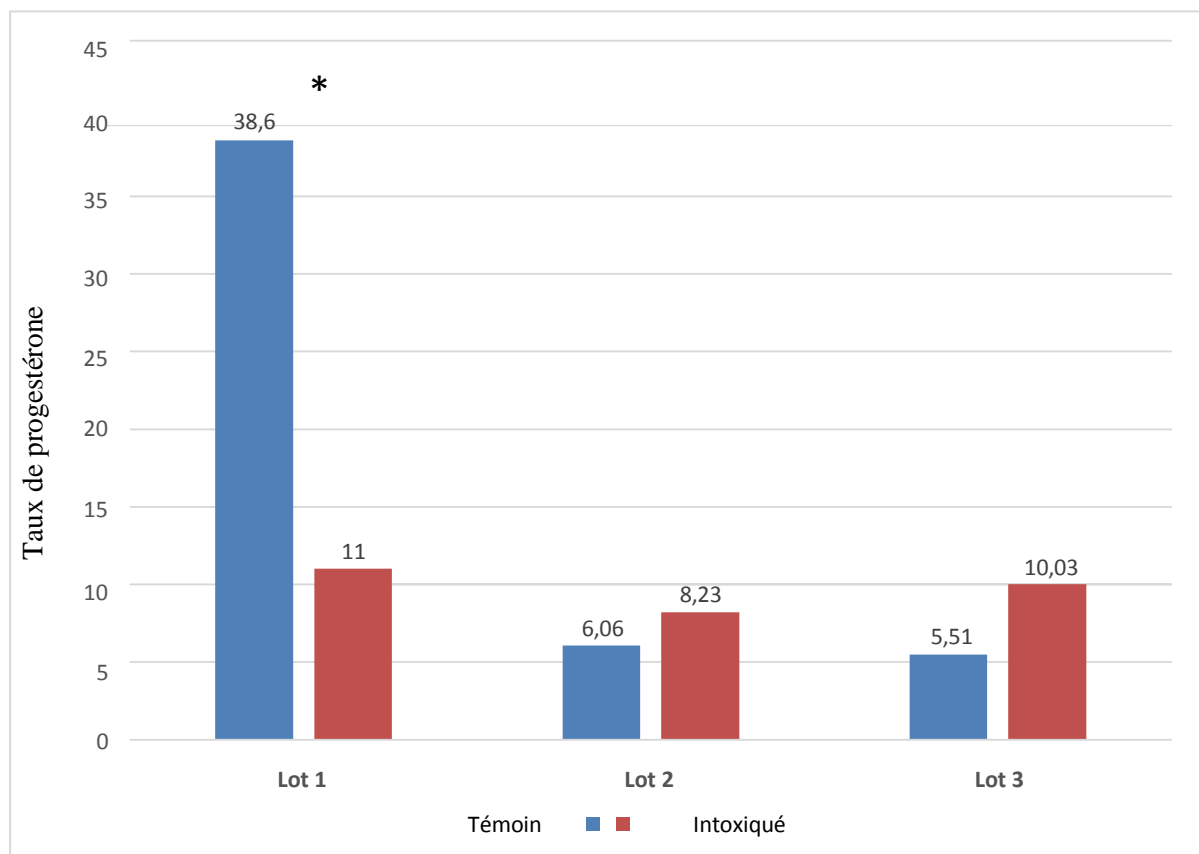


Figure 25. Variation du taux de progestérone chez les rats intoxiqués par $AlCl_3$ avec une dose de 10 mg/kg. Pc comparées aux témoins (T) durant 10 j, 15j, 21 j.

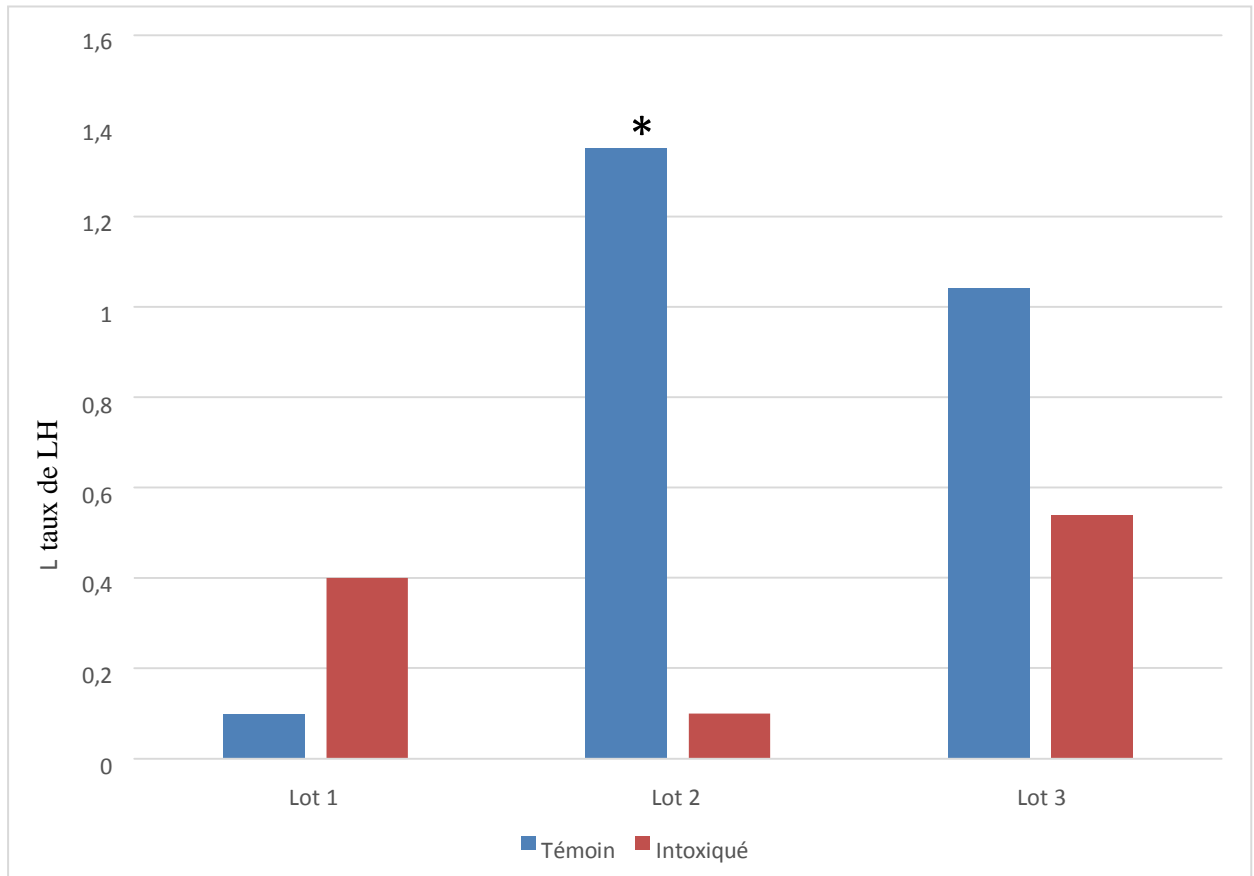


Figure 26. variation du taux de LH chez les rats intoxiqués par $AlCl_3$ avec une dose de 10 mg/kg. Pc comparées aux témoins(T) durant 10 j, 15j, 21 j.

Une augmentation du taux de progestérone chez les rats intoxiqués par chlorure d'aluminium est observée. Cette augmentation due à la sécrétion importante par les grandes cellules lutéales du corps jaune que montre notre étude histologique, de plus la progestérone exerce un rôle sur le rétrocontrôle des hormones gonadotrope et lutéinisante et sur le système nerveux central. Cela inclut un ralentissement dans le relargage de LH avec une signification de ($p < 0,01$), un avancement du moment de la charge ovulatoire de LH, une augmentation de la température corporelle, perte l'appétit.

3. Etude histopathologique :

3.1. Parenchyme hépatique

L'observation microscopique du foie du groupe témoin présente la structure classique normale du foie avec la veine centrolobulaire, des travées d'hépatocytes et des capillaires sanguins sinusoides. Figure 27

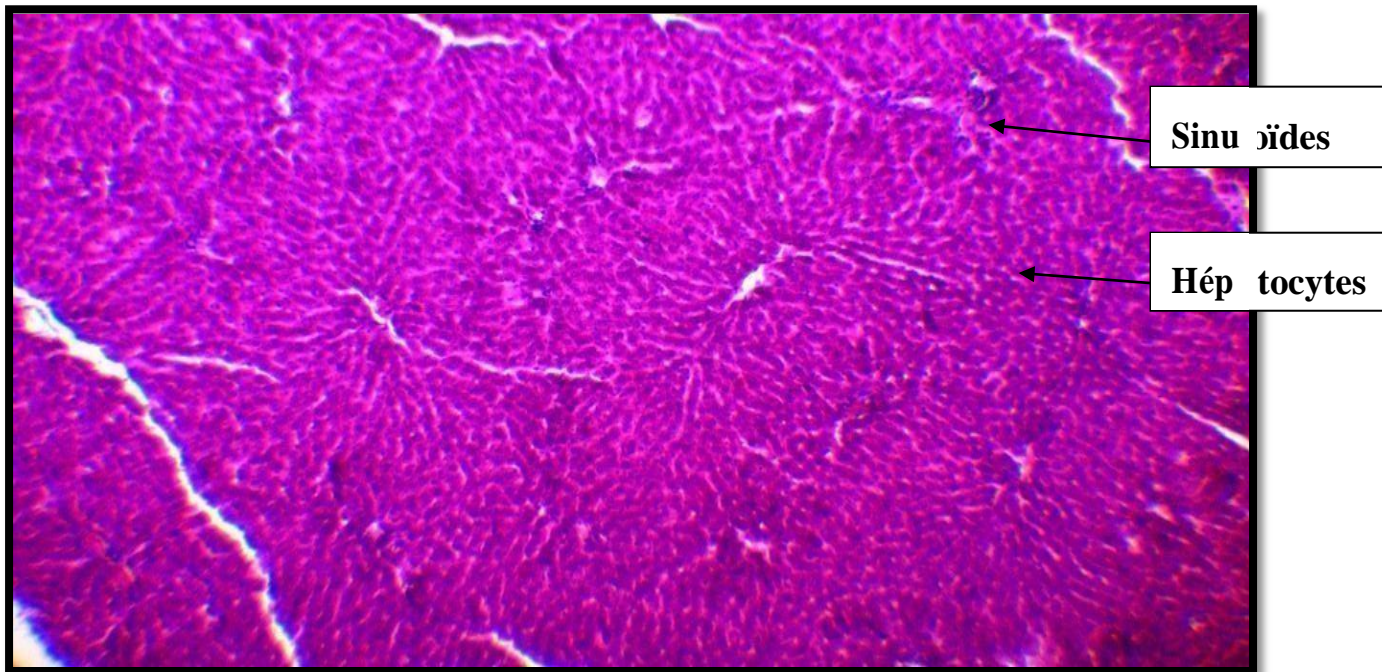


Figure 27 : observation microscopique du parenchyme hépatique d'un lot témoin coupé à $1\mu\text{m}$ coloré par l'H&E ordinaire G x 10

En ce qui concerne l'étude microscopique des coupes histologiques au niveau de foie chez les rats intoxiqués par AlCl_3 (10mg/kg PC) comparées aux témoins, l'observation microscopique des coupes histologiques de parenchyme hépatique montre la présence de quelques défauts de la membrane cellulaire et espacement cytoplasmique relativement faible autour des noyaux dans certains de ces hépatocytes également des défauts de la membrane cellulaire et l'espacement autour de leurs noyaux. Certains ont également montré, des noyaux de petites tailles et ellipsoïdes en forme (**Figure 28**).

L'observation microscopique du parenchyme hépatique d'une rate traitée par 10 mg d' AlCl_3 /kg/j, montre la présence de lésions d'hépatocytes avec et une infiltration de cellules inflammatoires. **Figure 29**

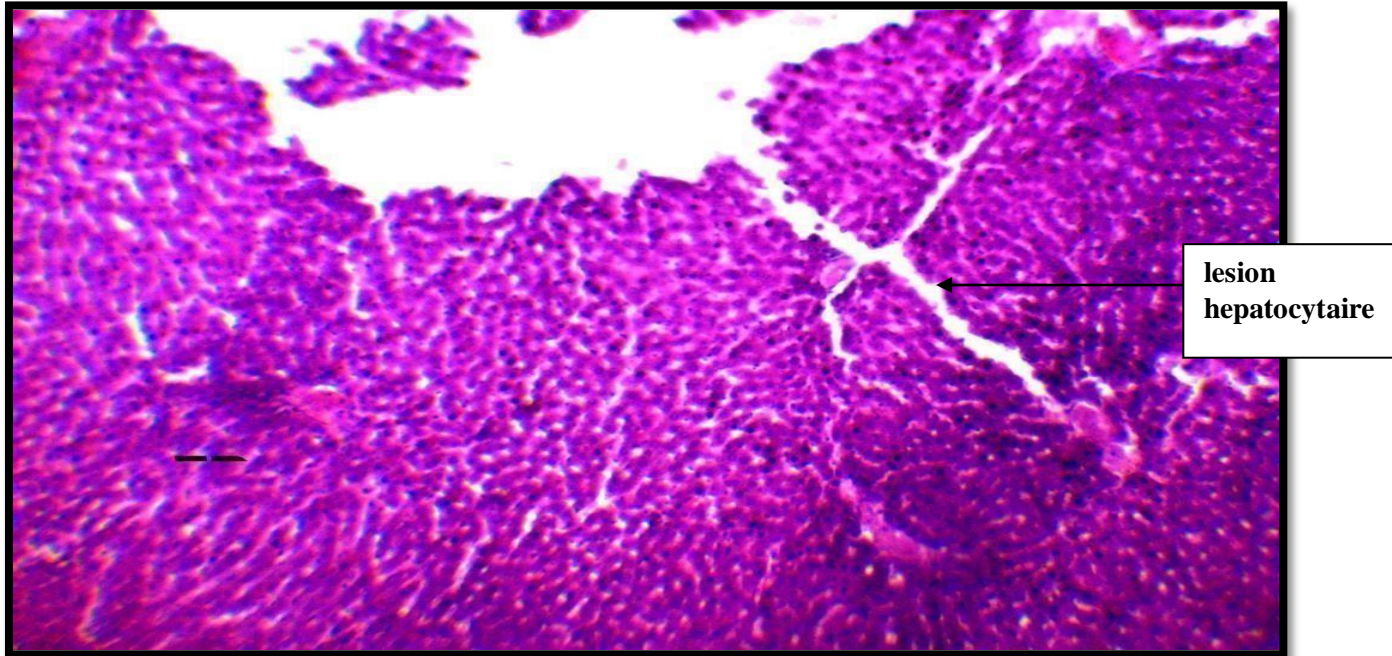
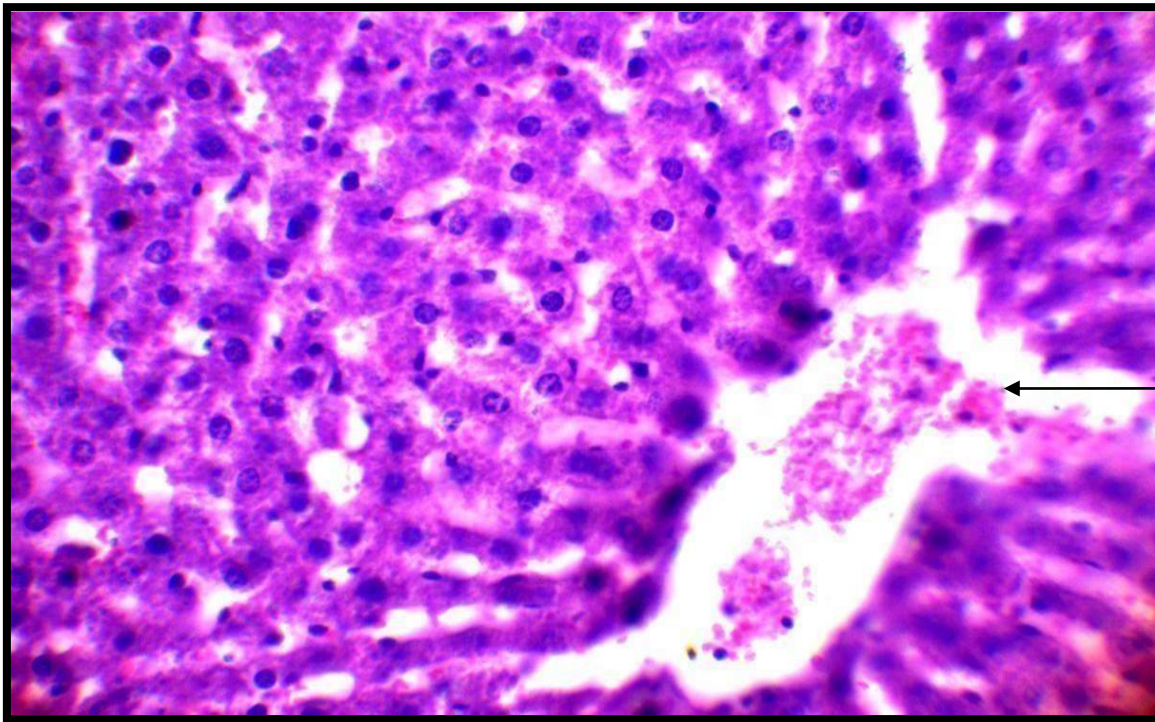


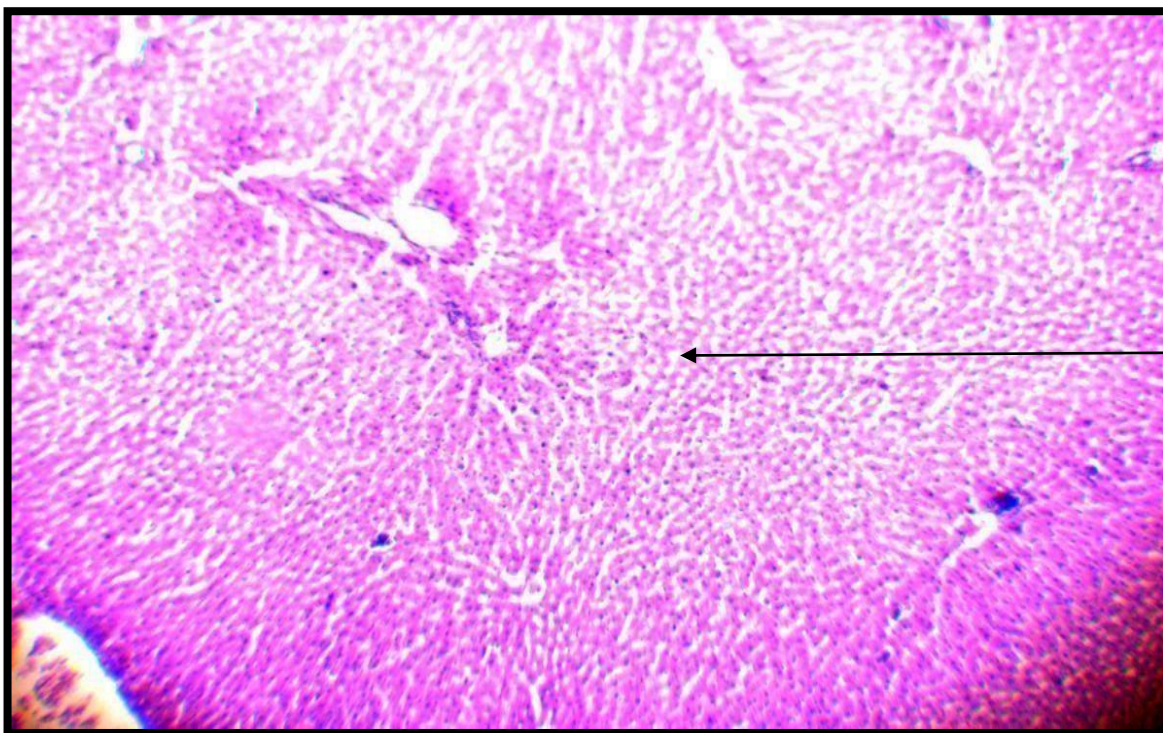
Figure28 : étude microscopique de parenchyme hépatique coupé à 1µm coloré par l'H&E ordinaire d un groupe intoxiqué par l'AlCl₃ (10 mg/kg) avec une injection intra-péritonéale pendant 5j (G×40).

Le traitement par AlCl₃ entraîne probablement un afflux de sang à l'intérieur de cette veine très notable pour la dose de 10 mg d'AlCl₃/kg/j. On observe aussi dans les hépatocytes un développement très important du tissu conjonctif de la veine centrolobulaire très apparent avec la coloration trichrome Par ailleurs, certains hépatocytes sont lésés. Ce traitement entraîne aussi l'apparition de foyers inflammatoires pour la dose la plus élevée (A) et une nécrosé totale (B) (**Figure 30**).



Veine
centrolubulaire

(A)



Necrose

(B)

Figure 30 : étude microscopique de parenchyme ovarien coupé à 1 μ m coloré par l'H&E ordinaire d un groupe intoxiqué par l'AlCl₃ (10 mg/kg) avec une injection intra-péritonéale pendant 1 5j (G \times 40)

Nous avons observé que le traitement des rats femelles par le chlorure d'aluminium affecte la structure histologique du foie, avec l'apparition de lésions cellulaires et/ou des foyers inflammatoires. En effet, Gomez et al 2012 ont observé chez les rates de souche Sprague- Dawley ayant reçu de l'eau potable contenant du nitrate d'aluminium aux doses de 0, 355, 750 et 1000 mg/kg/j correspondant respectivement à 0,27,54 et 108 mg d'aluminium/kg du

p.c. /j pendant un mois, de légers changements histologiques (Hyperémie) dans le foie à la dose la plus élevée. Par contre, **Domingo et al. 1993** n'ont observé aucun changement histologique hépatique après administration du nitrate d'aluminium dans l'eau potable à des doses de 0, 360, 760 et 3600 mg d'aluminium/kg du p.c. /j (correspondant respectivement à 0, 26, 52 et 260 mg d'aluminium/kg du p.c /j) pendant 100 jours. **Favarato et Zatta . 1993** ont aussi observé différentes lésions pathologiques hépatiques à la suite de traitement de lapins par le lactate d'aluminium (6,2 mg Al³⁺ ou Al (lact)3) en solution aqueuse à un pH neutre pendant 21 jours. Des souris traitées par le chlorure d'aluminium par voie orale pendant 3, 9, et 13 semaines, ont montré un changement morphologique des hépatocytes et des macrophages du tissu hépatique par rapport aux souris témoins. Des changements d'ultrastructure des lysosomes, ainsi que des vésicules de pinocytose des macrophages du foie ont été aussi observés (**Kametani et al, 2006**). Le dépôt d'aluminium dans les organes non nerveux et ses effets ultérieurs sont moins connus. Il a été précédemment décrit que les effets de l'aluminium dans les reins et le foie du rat, où il induit une activation lysosomale, augmentent le dépôt de fer (**Stacchiotti et al, 2006**) et que le foie est donc impliqué dans l'absorption et l'excrétion de l'aluminium par flux biliaire (**Gonzales et al, 2007**). Au cours du vieillissement du foie, outre les cellules parenchymateuses (examinées par **Schmucker. 2000**) les changements morphologiques ont impliqué l'endothélium, les cellules des voies biliaires et les cellules non parenchymateuses (**Kmiec Z, et al ,2001**). En particulier, des altérations de l'hémodynamique microvasculaire chez le rat (**Vollmer B et al ,2002**) et un épaississement sinusoïdal lié à l'âge ("pseudocapillarisation") ont été signalés chez l'homme (**Mc Lean A et al, 2003**), le rat (**Le Couter et al, 2001**) et la souris (**Warren et al, 2005**). Ces résultats sont similaires à nos observations de sinusoïdes chez les rats déformées Wistar.

3.2. Etude architecturale des ovaires

En ce qui concerne l'étude microscopique des coupes histologiques au niveau des ovaires chez les rats intoxiqués par $AlCl_3$ (10mg/kg PC) comparées aux témoins, l'observation microscopique des coupes histologiques des ovaires du groupe impubère a montré un aspect normal de parenchymes ovarien. Il se divise en une zone corticale (cortex ovarien) et une zone médullaire (médullaire ovarienne).

Dans le tissu conjonctif lâche de la médullaire ovarienne se trouvent des vaisseaux : sanguins et lymphatiques. Les ovocytes se trouvent dans la zone corticale à différents stades folliculaires. (**figure31**).

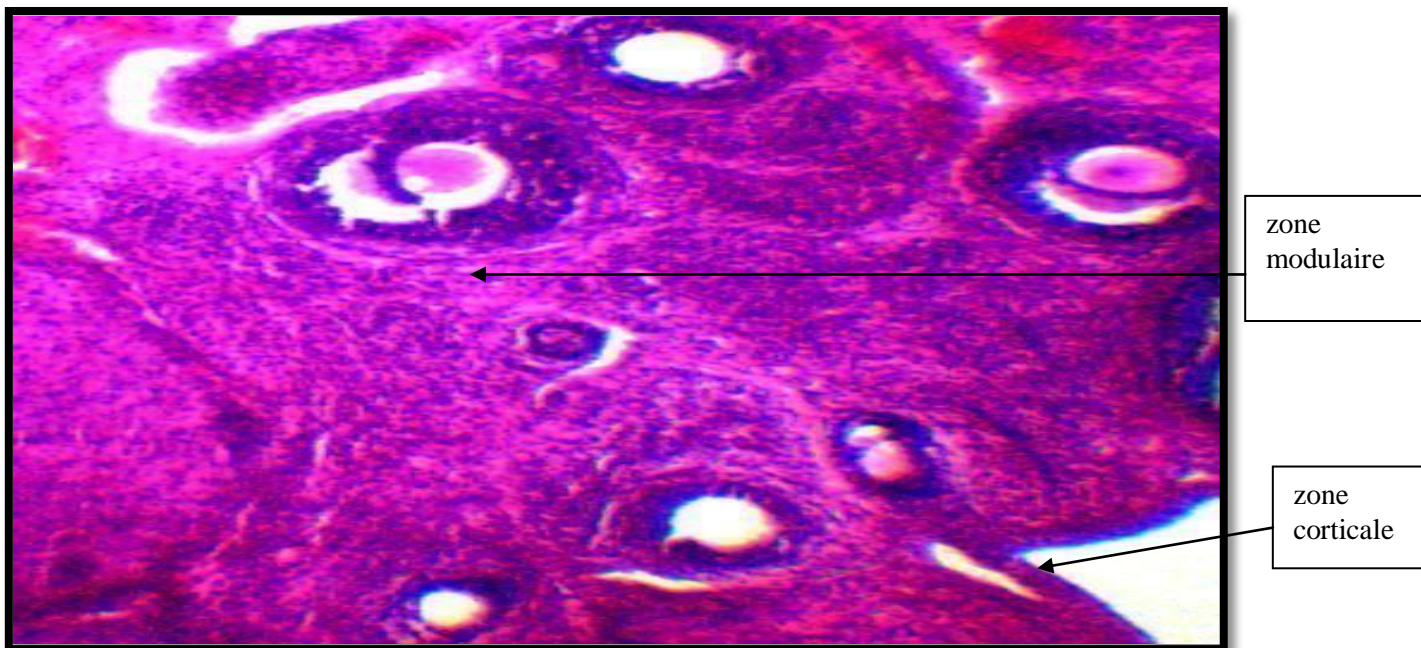


Figure 31: étude microscopique de parenchyme ovarien coupé à $1\mu m$ coloré par l'H&E ordinaire d un groupe témoins ($G \times 40$)

L'observation microscopique des coupes histologiques des ovaires du groupe pubères illustre que le parenchyme ovarien dont les follicules corps progestatifs, la présence de 03 série s'hypertrophient, s'hyperplasient et luteinisée séparés par des cloisons fibrovascularis (Figure 32 et .33)



Figure 33: étude microscopique de parenchyme ovarien coupé à 1 μ m coloré par l'H&E ordinaire d un groupe intoxiqué par l'AlCl₃ (10 mg/kg) avec une injection intrapéritonéale pendant 15j (G \times 40).

CP CORPS PROGESTATIF
Hyp ;HYPERTROPHIE

C F V CLOISON FIBRO VASCULAIR

Pour la structure histologique des ovaires, nous avons observé que le traitement des rattes par le chlorure d'aluminium affecte légèrement la structure histologique des ovaires avec l'apparition des cloisons fibrovascularisee entre les corps progestatif donc ils peuvent affecter le cycle sexuel des rats femelles. Nos résultats sont en accord avec **Agrawal et al. 1996** qui ont observé que l'intoxication par l'Al entraine des perturbations du cycle ovarien.

3.3. Etude architecturale Cérébrale

La structure histologique normale du cortex cérébral dans le cerveau de rats avec des neurones et des cellules gliales intacts a été observée chez des animaux témoins. (Figure 34,35).

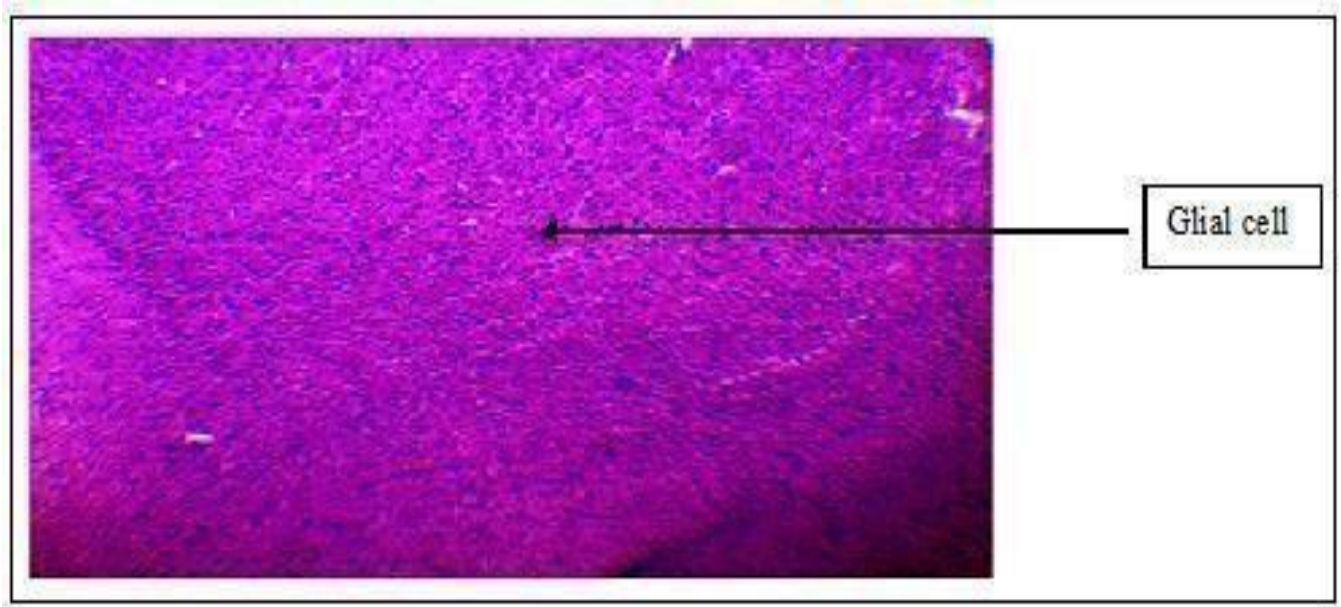


Figure 34 : Coupes histologiques du tissu du cortex cérébral dans le cerveau de rats colorés avec H&E (groupe témoin). Gx10.

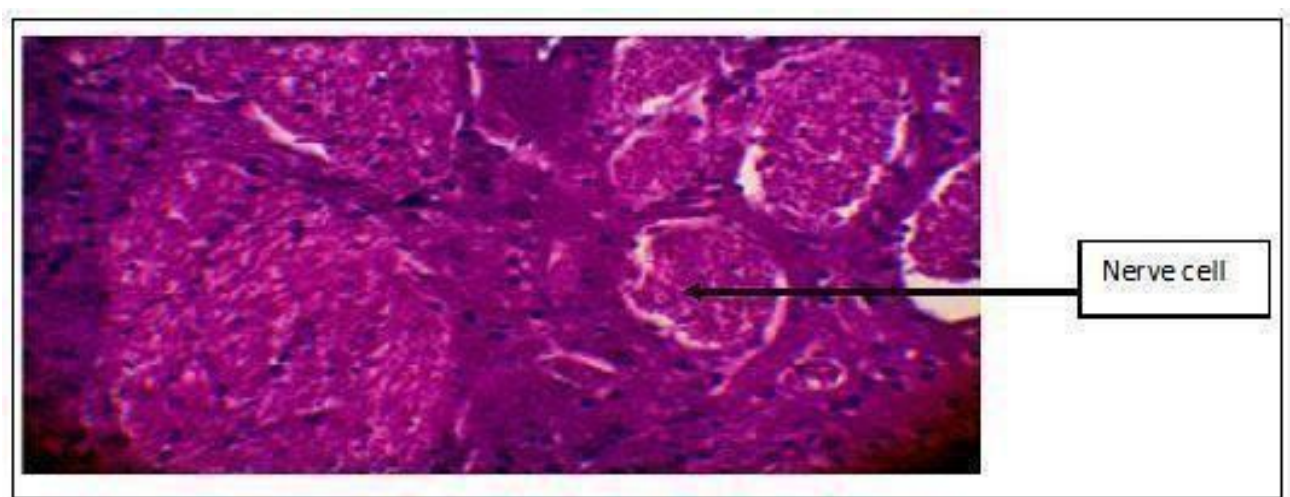


Figure 35 : Coupes histologiques du cortex cérébral dans le cerveau de rats colorés avec H&E (groupe témoin). Gx100.

Le groupe II traité présentait un léger signe de dégénérescence avec une légère aryopknose de distorsion des cellules neuronales (cellule pyramidale) **Figure 36**.

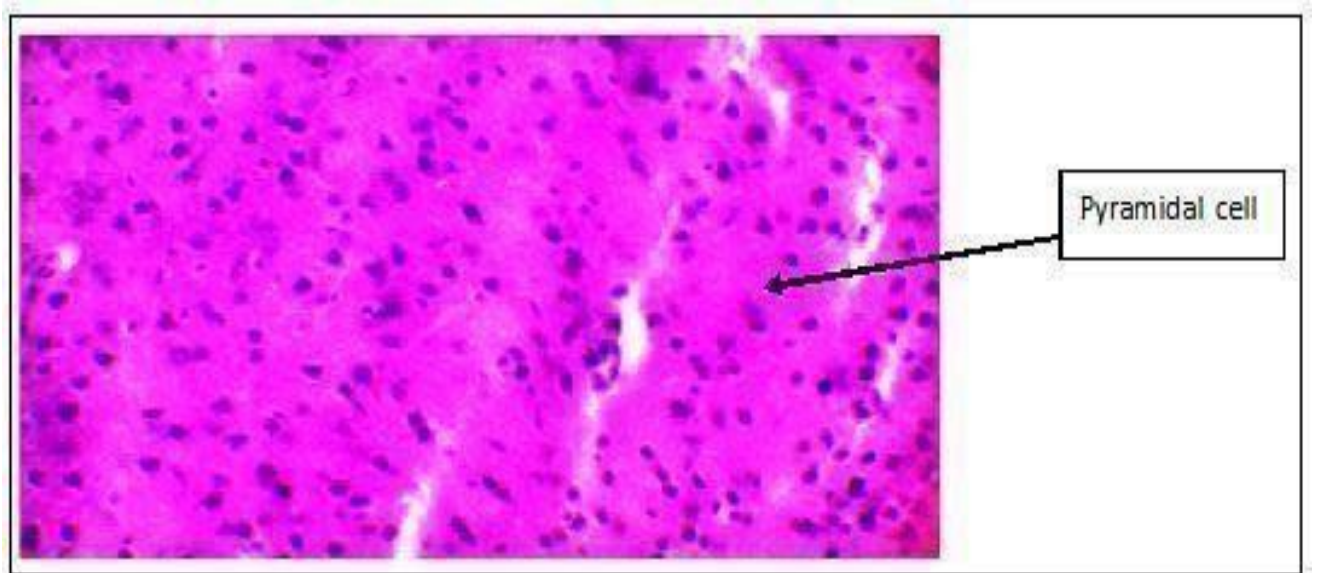


Figure 36. Coupes histologiques dans le cerveau de rats montrant une légère fibrose neuronale et une caryopknose des cellules neuronales du cortex cérébral de rats Wistar du groupe I, colorées avec H&E. G X40.

Les photomicrographies de coupes de cerveaux de rats intoxiqués par $AlCl_3$ (groupe 03) ont entraîné une nécrose et une vacuolisation graves du cortex cérébral

Nos résultats montrent que l'administration subchronique de chlorure d'aluminium dans les groupes expérimentaux a montré un certain niveau de neurodégénérescence (nécrose) sur l'hippocampe des rats traités par rapport au groupe de contrôle I . **Figure 37**

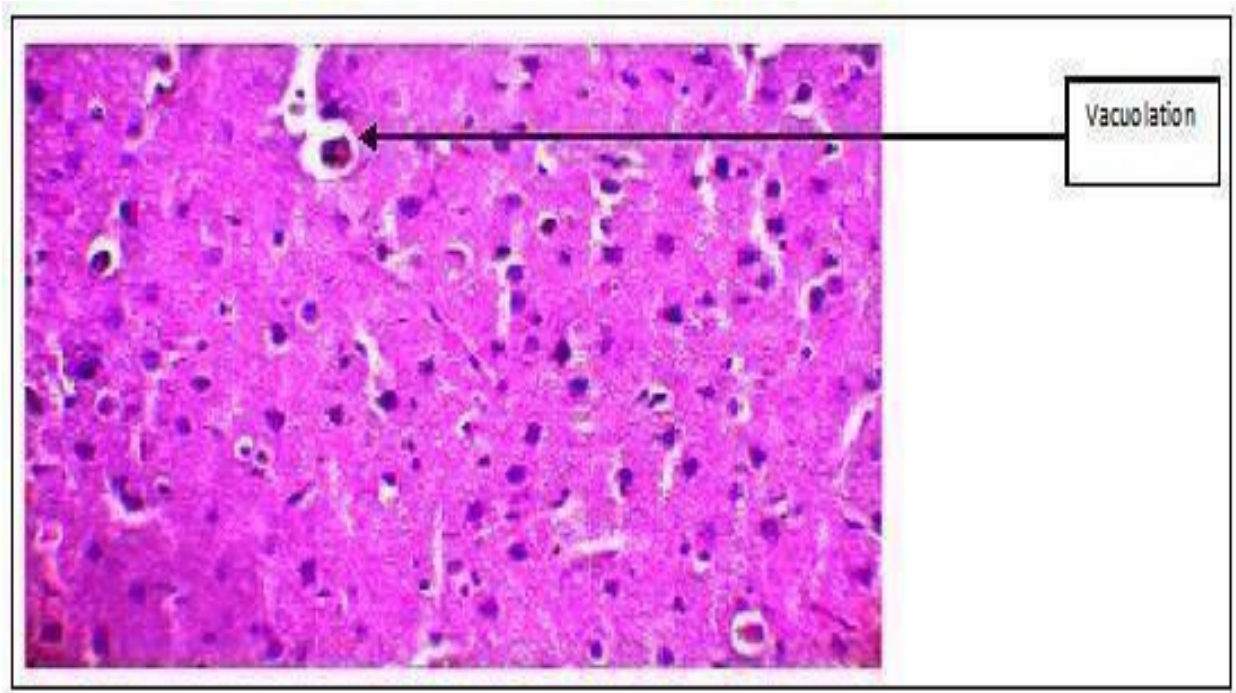


Figure 37. Coupes histologiques dans le cerveau des rats montrant une légère vacuolisation neuronale du Cortex Cérébral de rats Wistar du groupe II, colorés avec H&E. G X40

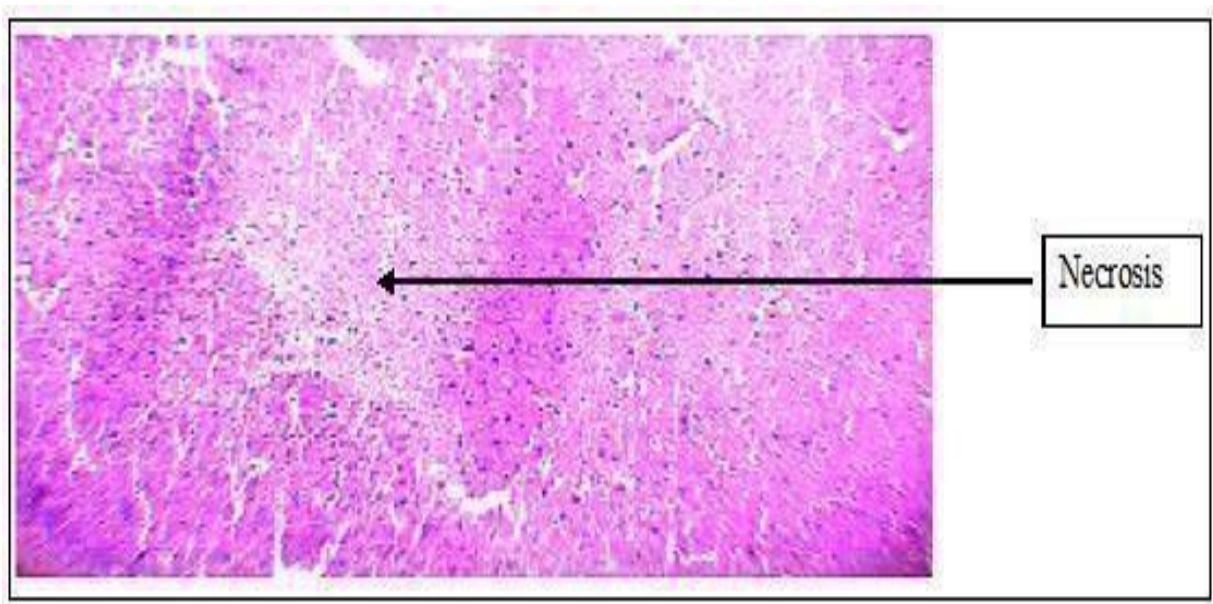


Figure 38. Coupes histologiques montrant la nécrose du cortex cérébral dans le cerveau de rats du groupe III colorés avec H&E. G X10.

Les coupes histologiques du cortex cérébral des groupes II et III montrent qu'il existe une dégénérescence cellulaire, une vacuolisation et une nécrose caractérisée par une fibrose (Fig. 03-05) par rapport à un lot témoin qui présente un grand nombre de neurones normaux accompagnés de cellules gliales.

L'observation microscopique de coupes histologiques dans le cerveau de rats et de leur progéniture révèle l'action du chlorure d'aluminium. Cet effet se traduit dans l'architecture des tissus par une vacuolisation et une nécrose neuronale du cerveau. Nos résultats sont similaires à ceux de Buraimohet al (2012 b) qui ont démontré que l'exposition de rats à l' $AlCl_3$ pendant huit (08) semaines induirait une grave neurodégénérescence au niveau de l'hippocampe démontrée par des études histologiques. Selon Crapper et al. (1980), la concentration d'aluminium était élevée dans les neurones contenant des enchevêtrements neurofibrillaires et peut-être dans les pestes séniles, cependant, l'aluminium pourrait s'accumuler dans les neurones.

Les modifications dégénératives intracellulaires secondaires et les changements neuropathologiques et comportementaux consécutifs à l'exposition à l'aluminium étaient similaires à ceux observés dans la maladie d'Alzheimer. Ceci est en accord avec Muller et al. (1990), qui ont suggéré que l'aluminium pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, bien que cela soit basé sur des preuves circonstanciées. Nous avons donc conclu que l'administration de chlorure d'aluminium a un effet neurodégénérateur (dommage) sur l'hippocampe des rats Wistar, comme le montre la figure 37-38.

II. Effet de l'acide alpha lipoique chez rats wistar intoxiqué par l chlorure d'aluminium

1. Evolution pondérale

Les rats ont été pesés chaque jour tout au long de l'étude afin de suivre l'évolution de leur prise de poids (Figure 01). Les variations de poids corporel des rats soumis à différents traitements sont représentées dans le tableau (01). Aucun décès n'a été observé dans tous les groupes au cours de la période expérimentale.

Le poids corporel a montré une réduction prononcée chez les rats de groupe traité à l'acide alpha lipoique, groupe traité à l' $AlCl_3 + \alpha$ -LA par rapport au contrôle respectivement (tableau 12).

En outre, une augmentation significative du poids corporel chez les rats de Groupe intoxiqué par l' $AlCl_3$, de lot 5 traités par acide alpha lipoique après exposition subaiguë de chlorure d'aluminium a été observée par rapport aux autres groupes et au contrôle tableau 12.

Aucune réduction significative n'a été observée dans le poids corporel du reste des animaux des différents lots par rapport au groupe témoin.

Tableau 12 : Évolution du poids corporel (g) chez les rats intoxiqués par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg, intoxiqué et traité (I-tr) traité par acide alpha lipoïque (100mg/kg V.O) comparées aux témoins(T) durant 21jours

| | Témoin | AlCl ₃ | Acide α lipoïque | Acide α lipoïque avec AlCl ₃ | Acide α lipoïque après AlCl ₃ |
|-----------------|-----------|-------------------|-------------------------|--|---|
| Jour 0 | 192,8±5.8 | 199,7±1.7 | 198,3±12.5 | 198,8±8.2 | 203,7±3.3 |
| Jours 7 | 200,0±7.3 | 203,8±3.0 | 198,5±12.7 | 203,5±10.7 | 202,0±3.9 |
| Jours 14 | 207,6±6.0 | 212,3±3.7 | 204,3±10.3 | 205,8±8.0 | 205,2±5.8 |
| Jours 21 | 213,2±6.7 | 213,8±6.7 | 203,2±10.7 | 203,8±8.9 | 212,3±5.4 |

2. Les paramètres hématologiques

Le nombre des paramètres hématologiques suivants : Neutrophiles, Lymphocytes, Basophile, hémoglobine et VGM dans le groupe traité à l' $AlCl_3$ étaient ont diminution de manière significative par rapport à celles des autres groupes.

Dans cette étude le chlorure d'aluminium provoque une réduction significative dans quelques paramètres tels que Neutrophiles, Lymphocytes, Basophile, hémoglobine et VGM par rapport à celles des autres groupes. Alors que le nombre des globules rouge (GR) chez les trois groupes était plus élevé que celles des contrôles. Une augmentation des globules blancs, lymphocytes, MCH sur globules blanc, monocytes éosinophile chez les rats traités avec $AlCl_3 + \alpha-LA$ et $\alpha-LA$ seul en comparant avec des rats témoins. (Mais Il n'y a pas eu d'effet significatif) (**Figure 38**). Le nombre des lymphocytes, basophiles, MCH des groupes traités avec l'acide alpha lipoïque et $AlCl_3 + \alpha-LA$ étaient significativement plus élevée que dans le groupe témoin, mais il restait à des niveaux physiologiques. En outre aucune différence significative n'a été observée (**figure 38**).

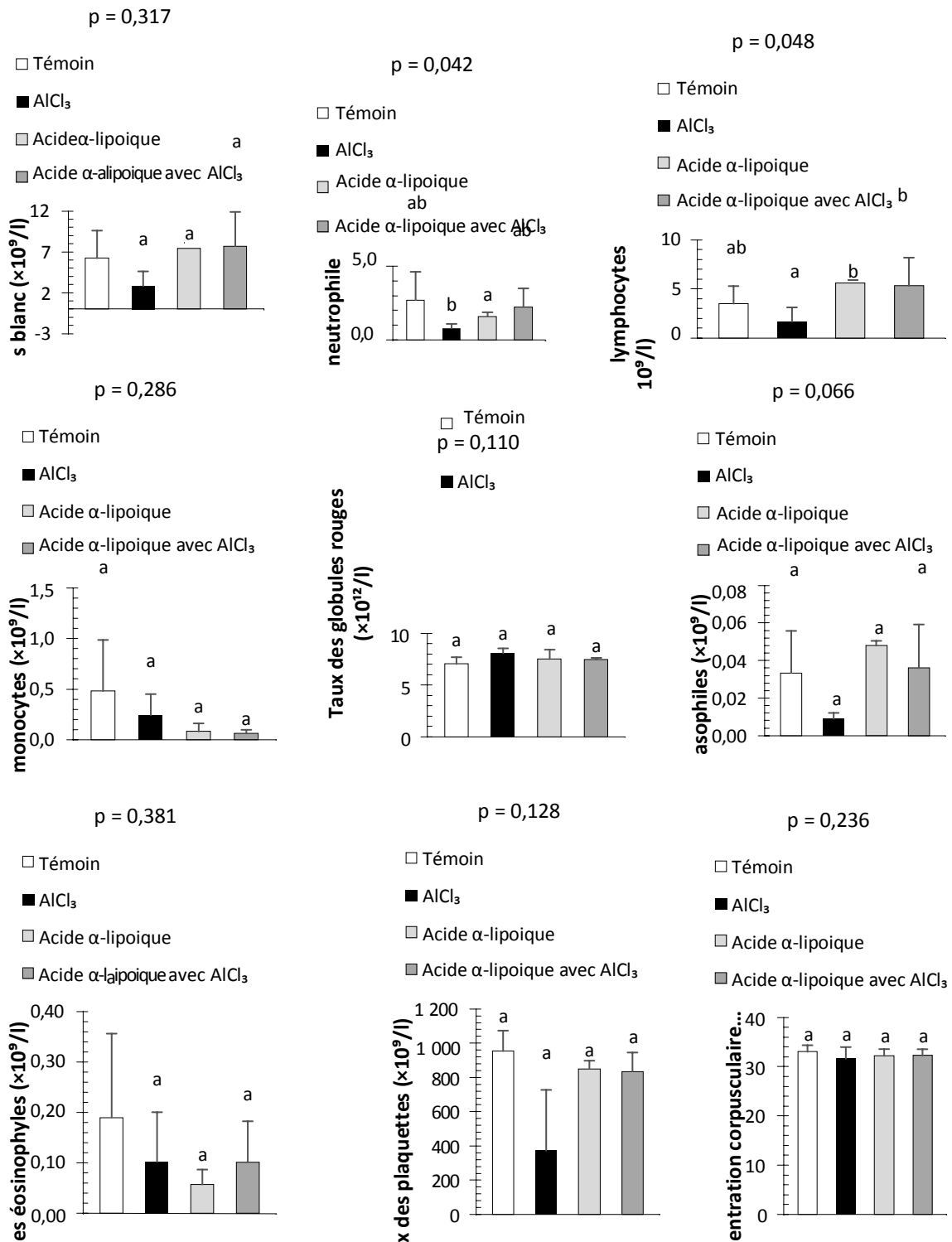


Figure 39. Résultats des paramètres hématologique chez les rats intoxiqués par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiqué et traité par acide alpha lipoïque (100mg/kg.p.c) comparées aux témoins(T) durant 21jour

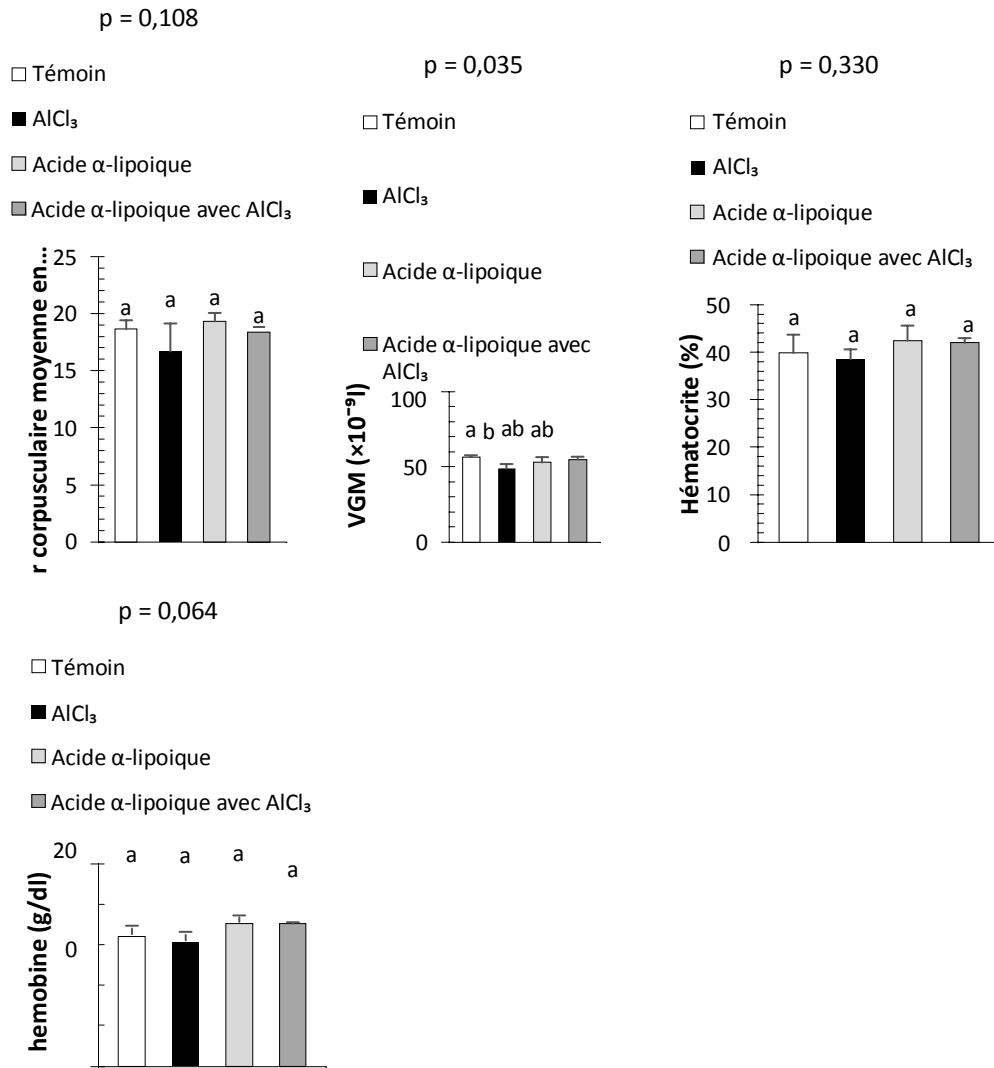


Figure 39. Résultats des paramètres hématologique chez les rats intoxiquées par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiqué et traité par acide alpha lipoïque (100mg/kg .pc) comparées aux témoins(T) durant 21jour

Cette étude démontre que l'aluminium a des effets toxiques sur la morphologie des éléments du sang chez les rats. Dans les enquêtes antérieures des auteurs ont révélé que l'aluminium a un effet sur les lignées cellulaires érythroïdes dans de la moelle osseuse (Zaman et al., 1990c). Dans notre étude, nous avons montré que l'Aluminium a également été à l'origine d'une diminution du nombre Neutrophiles, Lymphocytes, Basophile, du taux d'hémoglobine et l'indice d'hématocrite. Cependant, il a augmenté de manière significative le taux des érythrocytes dans le sang.

L'augmentation du pourcentage des érythrocytes est expliquée par le fait que le sang périphérique est plus résistant à l'effet du composé d'aluminium administrée à une dose expérimentale. Cependant, cette augmentation de l'entrée de cellules sanguines immatures dans la circulation avec une diminution simultanée de nombre d'érythrocytes peut suggérer un trouble de l'érythropoïèse et la maturation des érythrocytes lors d'un empoisonnement par aluminium (Zaman et al., 1989).

Plusieurs études ont montré que l'Aluminium est un facteur exogène responsable de l'anémie développée se manifeste à la fois dans les animaux d'expérimentation (*Kaiser et al. 1984 ; Drueke et al. 1986a ; Zaman et al. 1993 ; Fulton et Jeffer. 1994*) et des patients sous hémodialyse (*Parkinson et al. 1981*). Notre étude montre aussi la diminution significative des niveaux de MCV de l'exposition à l'Al (tableau 1). Nos résultats sont similaire à d'autres études (*Vittori et al. 1999 ; Mahieuet al. 2000 ; Bazzoni et al. 2005 ; Farina et al. 2005*).

Ces résultats montrent que les mesures à court terme et une faible dose d'Al peuvent avoir des effets négatifs sur les paramètres hématologiques. Il est connu que l'Al peut provoquer une anémie, mais les mécanismes moléculaires des effets de Al sur la circulation les érythrocytes et/ou l'érythropoïèse ne sont pas clairs et la connaissance des effets toxiques de l'aluminium sur cette situation reste contradictoire (*Farina et al. 2005*). Al (*Mohieu et al. 2000*).

L'Acide alpha-lipoïque (ALA) est considéré comme un cofacteur nutritionnel de l'acide acétique la déshydrogénase qui est impliquée dans le métabolisme énergétique de protéines, de glucides et de graisses.

En outre au rôle central dans le métabolisme, il a également été constaté pour modifier l'état redox de la cellule en agissant de manière endogène un piègeur de radicaux libres à l'intérieur et à l'extérieur des cellules et ainsi, s'incarnant comme un antioxydant universel dans le corps.

L'Aluminium dans l'étude actuelle servant de toxiques peut générer des en raison de leur métabolisme dans l'organisme et les radicaux libres peuvent à leur tour servir de cause érythrocytopenie, hypohémoglobinémie et autres altération des valeurs en hématologie. En effet, le rôle de protection de l'acide alpha lipoïque en résistant aux changements de paramètres hématologiques tels qu'ils sont observés dans le présent peut être indirectement justifiée par sa capacité de l'extinction des radicaux libres et le maintien de l'énergie en agissant comme cofacteur pour les enzymes du métabolisme de l'aluminium dans les animaux.

3. Variation des paramètres biochimiques

3.1. Glycémie :

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation de la concentration plasmatique en glucose chez le groupe traité par le chlorure d'aluminium comparant au groupe témoin. Par contre, on enregistre une diminution de la concentration plasmatique en glucose chez les groupes traités par l'acide alpha lipoïque et chez les groupes traités par la combinaison $AlCl_3$ et ALA (figure 39)

Aucune variation significative n'a été observée chez les trois groupes par rapport aux valeurs témoins.

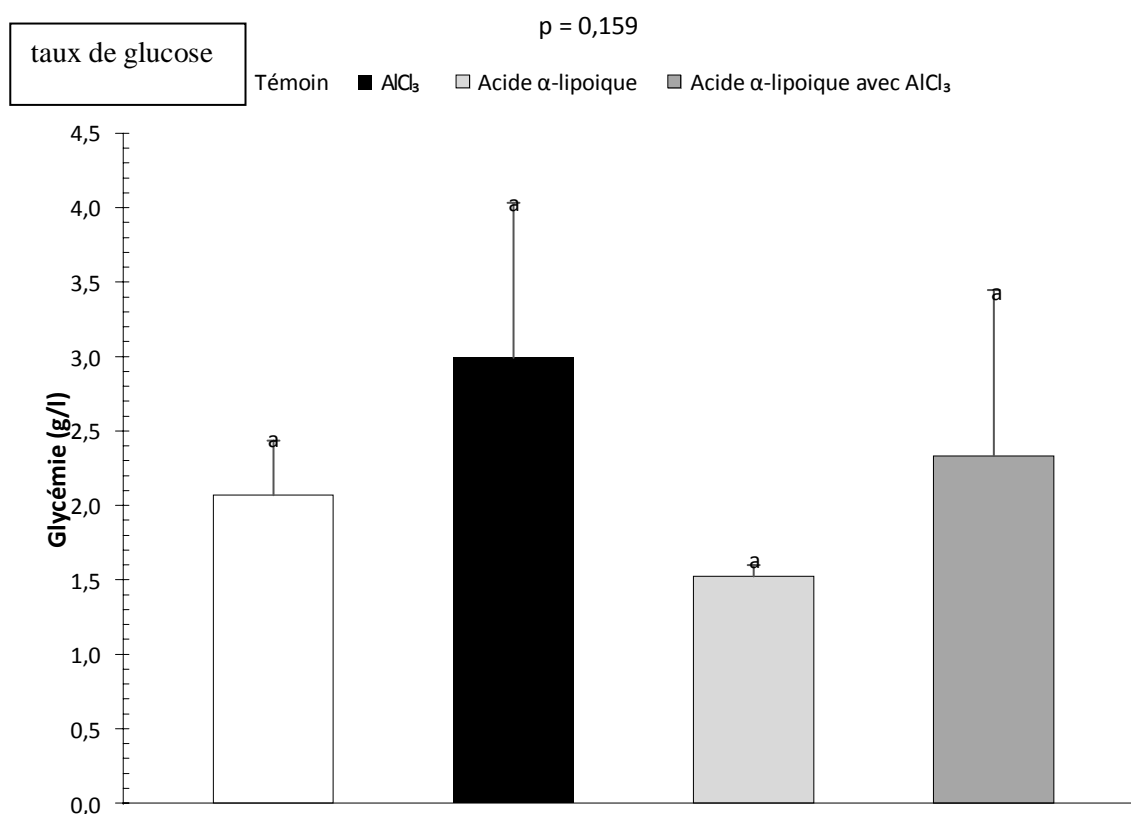


Figure 40 : Évolution le taux de glycémie chez les rats intoxiquées par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiqué et traité par acide alpha lipoïque (100mg/kg.pc) comparées aux témoins(T) durant 21jours Les barres marquées avec des lettres identiques ne sont pas significativement différentes ($p > 0.05$).

3.2.Urée :

L'administration du chlorure d'aluminium a induit une augmentation du taux de l'urée chez les rats femelles aux doses de 100 mg/kg pc ($0,87 \pm 0,08$) par rapport aux lots témoins ($0,68 \pm 0,05$ g/L). Les traitements ALA, seuls, ont entraîné une diminution significative du taux de l'urée par rapport au groupe témoin et aux trois autres groupes. Les traitements $AlCl_3$ et ALA, combinés, sont à l'origine d'une diminution significative du taux d'urée par rapport au groupe témoin. ($P < 0,001$).

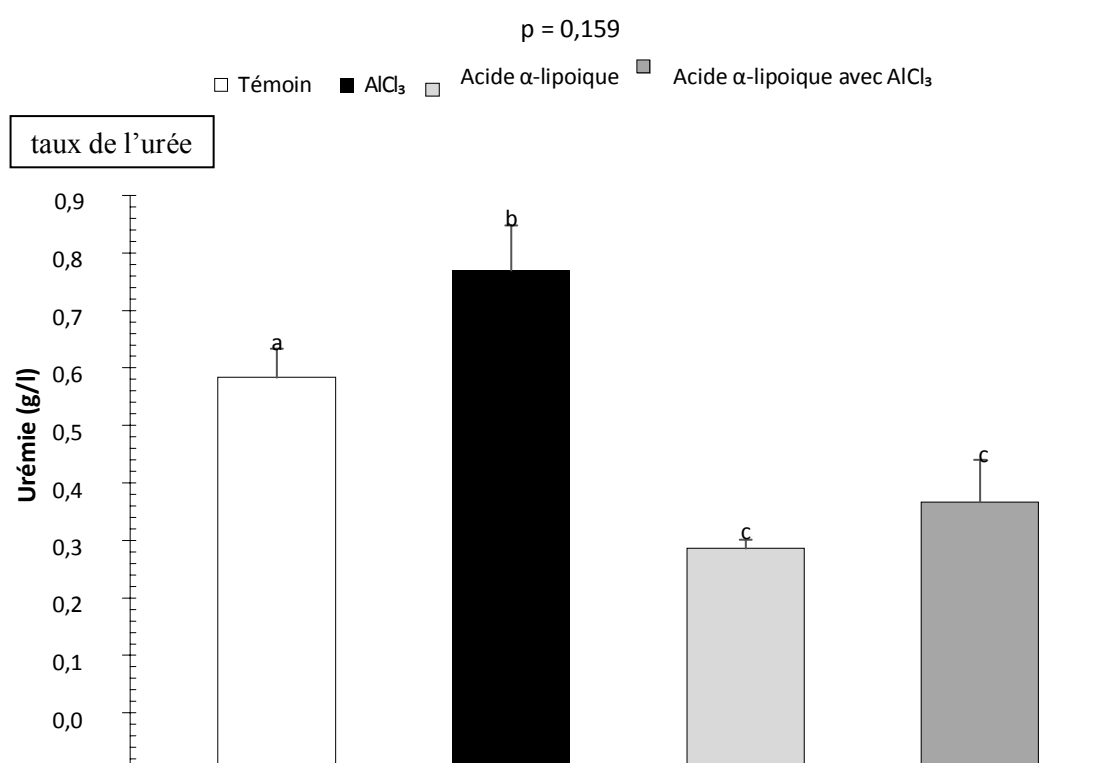


Figure 41 : Évolution le taux de l'urée chez les rats intoxiquées par le chlorure d'aluminium à une dose de 100 mg/kg par, intoxiqué et traité par acide alpha lipoïque (10 0 mg/kg .pc) comparées aux témoins(T) durant 21jours.

4. Etude histopathologique :

4.1.L'examen microscopique du cerveau de groupe témoins :

Notre étude a montré une histologie normale d'un tissu cérébral des rats Wistar du groupe I qui ont reçu uniquement de l'eau physiologique dont l'aspect microscopique a montré un tissu glial sans particularités histopathologiques (sans anomalies) siège de neurones et de cellules gliales intactes, présentant des noyaux pourpres et un cytoplasme (fond) rose.

Pour le cervelet du groupe témoins, l'étude microscopique a noté une substance blanche d'aspect normal comportant ces différentes couches et une substance grise faite d'une couche moléculaire, une couche contenant les cellules de Purkinje et une couche de cellules des grains.

Ce tissu cérébral est irrigué par le plexus choroïde qui est constitué par une couche de cellules semi-cubiques, reposant sur un axe étroit conjonctif lâche comportant de nombreux capillaires (Figure 42).

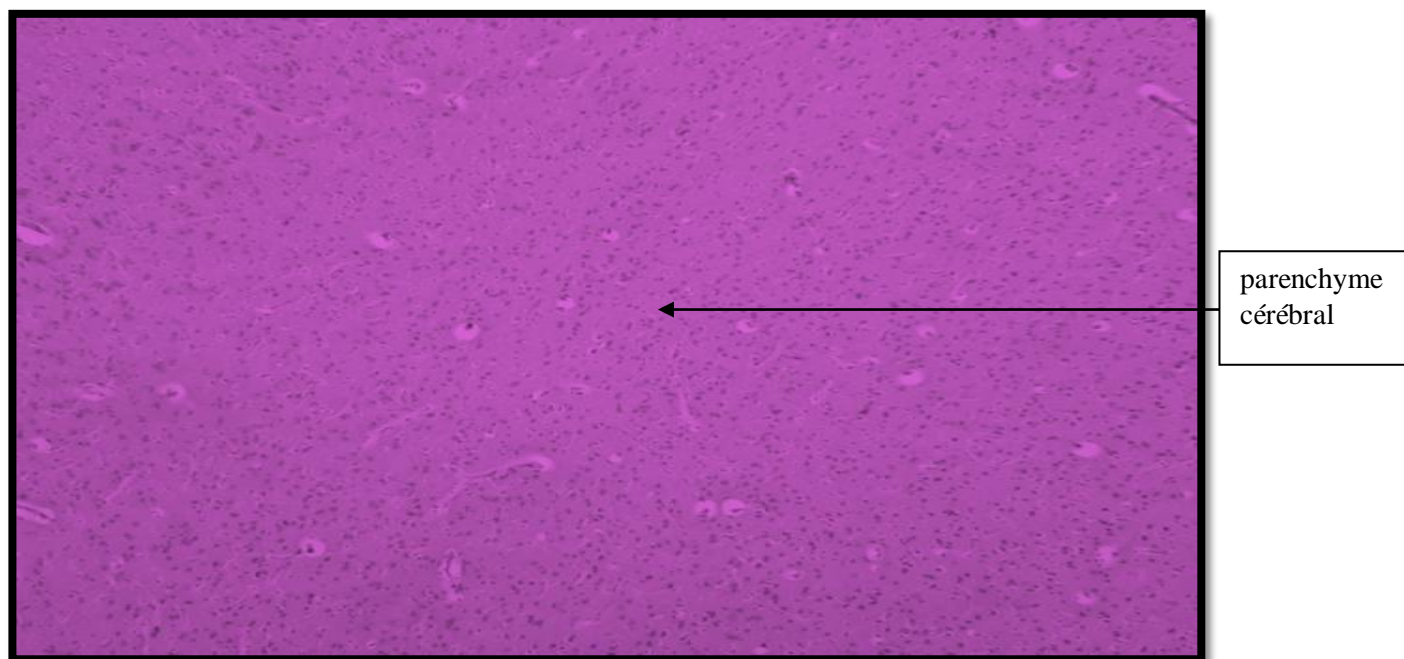


Figure 42: Coupes histologiques du parenchyme cérébral des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin). Gx10

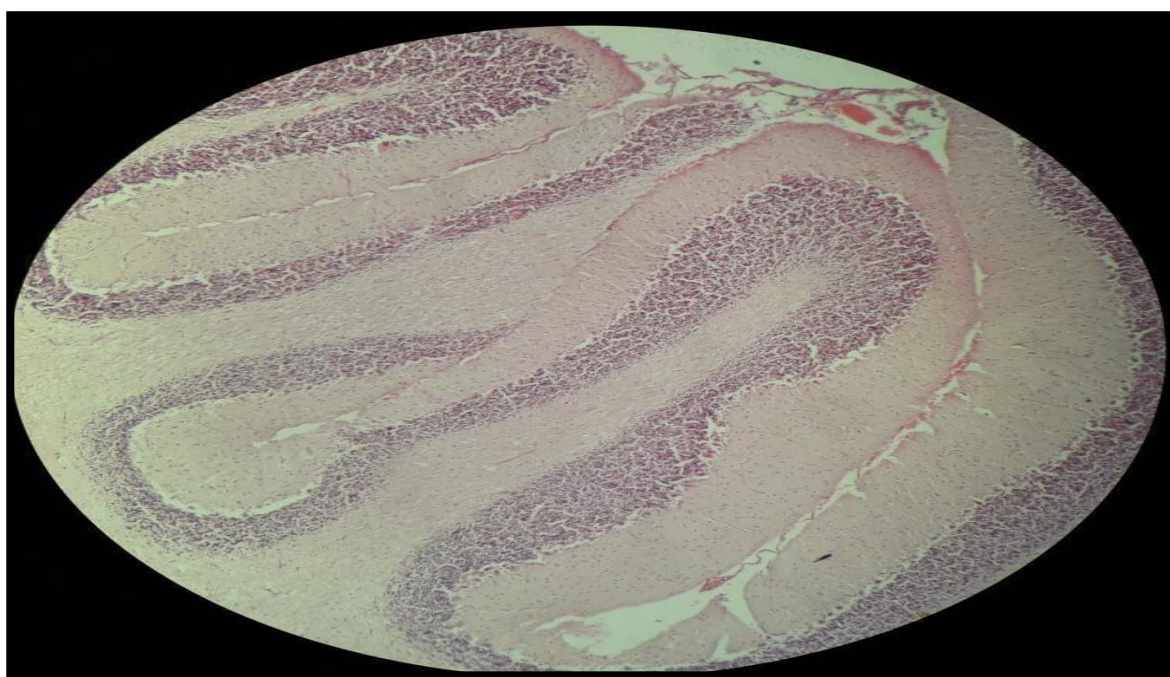


Figure 43: Coupes histologiques du parenchyme cérébelleux des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin). Gx10

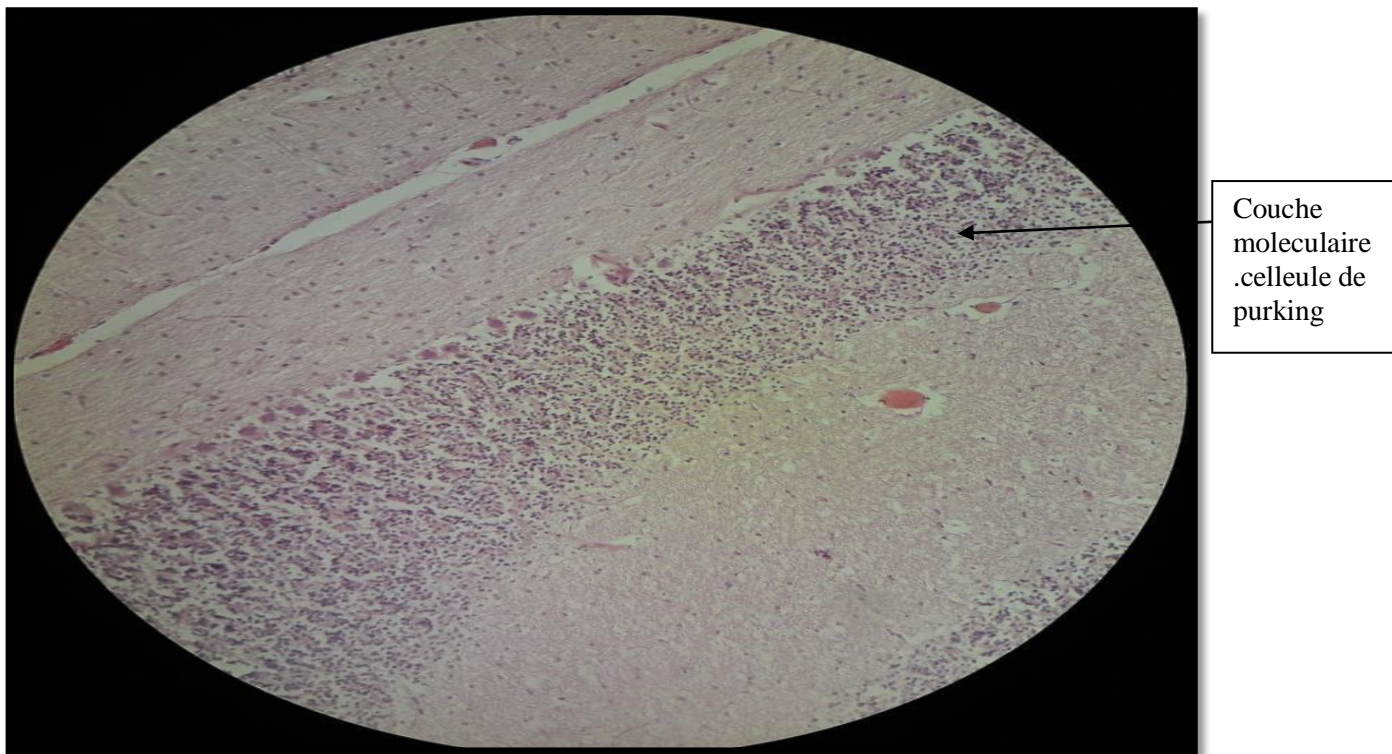


Figure 44: Coupes histologiques du parenchyme cérébelleux : cellules de Purkinje des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin). Gx10

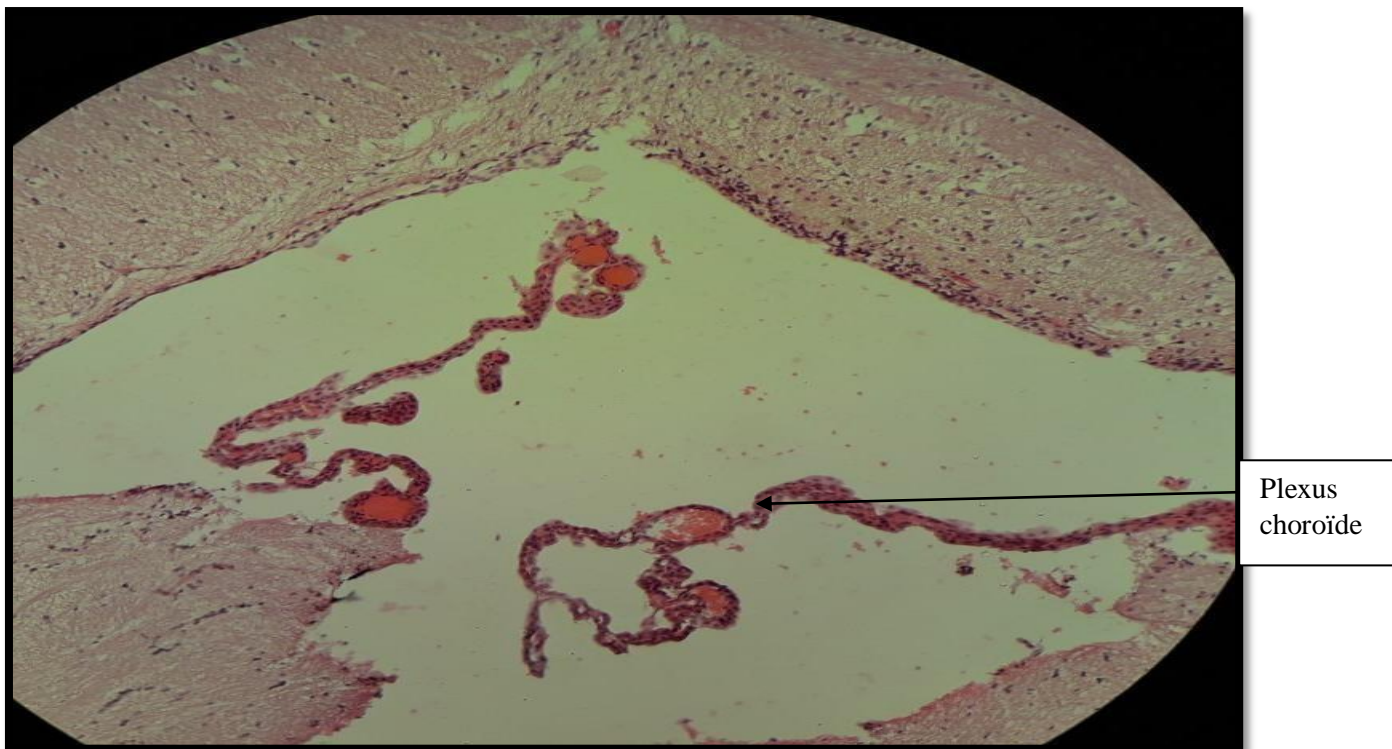


Figure 45: Coupes histologiques du Plexus choroïde des rats wistar colorés avec H&E (groupe témoin). Gx10

4.2.L'examen microscopique du cerveau de groupe intoxiqué par le chlorure d'aluminium :

Les observations histologiques des groupes traités à l'aluminium (100mg/kg PC) ont révélé une destruction cellulaire marquée par congestion vasculaire (**figure 44**), une vacuolisation et une dégénérescence neuronale étendue du cortex cérébral des rats Wistar. (**figure 45**). Aussi, la présence d'un infiltrat inflammatoire au sein du parenchyme cérébral a été notée. (**figure 46**). Des plaques de nécrose (figure 47) et une désorganisation architecturale des différentes couches du cerveau avec une spongieuse (figure 48), des œdèmes et une fibrose du parenchyme cérébral (figure 49) et Parfois une réduction des cellules gliales ont été bien noté dans les différentes lames.

Notre étude a montré que le cervelet du groupe traité à l'aluminium a révélé : Une dégénérescence des neurones (figure 50) et une infiltration de cellules de la couche moléculaire. Une couche moléculaire réduite et clairsemée(figure 52). Disparition des cellules de Purkinje par rapport au témoin. Hyperplasie de la couche des grains.(figure 51)

Résultats comparables ont également été obtenus par **Manal et al.** 2003 Qui ont démontré que l'administration pendant un mois d' $AlCl_3$ à une dose de 1600 mg/l dans l'eau potable provoquent des altérations histopathologique marquées dans le tissu cérébral qui sont représentée par la glosions focale et diffuse dans le cortex cérébral, l'œdème et l'infiltration des cellules inflammatoires et œdème péri cellulaire dans le cortex cérébral, encéphalomyelose avec dégénérescence neuronale (**Shi-Liang et al., 2013**). Enfin, il a signalé que l' $AlCl_3$ a des effets neurodégénératifs sur l'histologie du cortex cérébral.

Buraimoh et al. Ont également mené une étude afin d'évaluer les effets possibles que l'exposition à l' $AlCl_3$ pourrait avoir sur l'histologie du cortex cérébral de la progéniture des rats a montré des apparences histologiques normales de la cortex cérébral (**Mahdy et Farrag, 2009**). Sur la base de cette observation, ils ont indiqué que les effets neurodégénératifs de l' $AlCl_3$ l'exposition sur le cortex cérébral des rats Wistar adultes n'est pas transférable aux descendants.

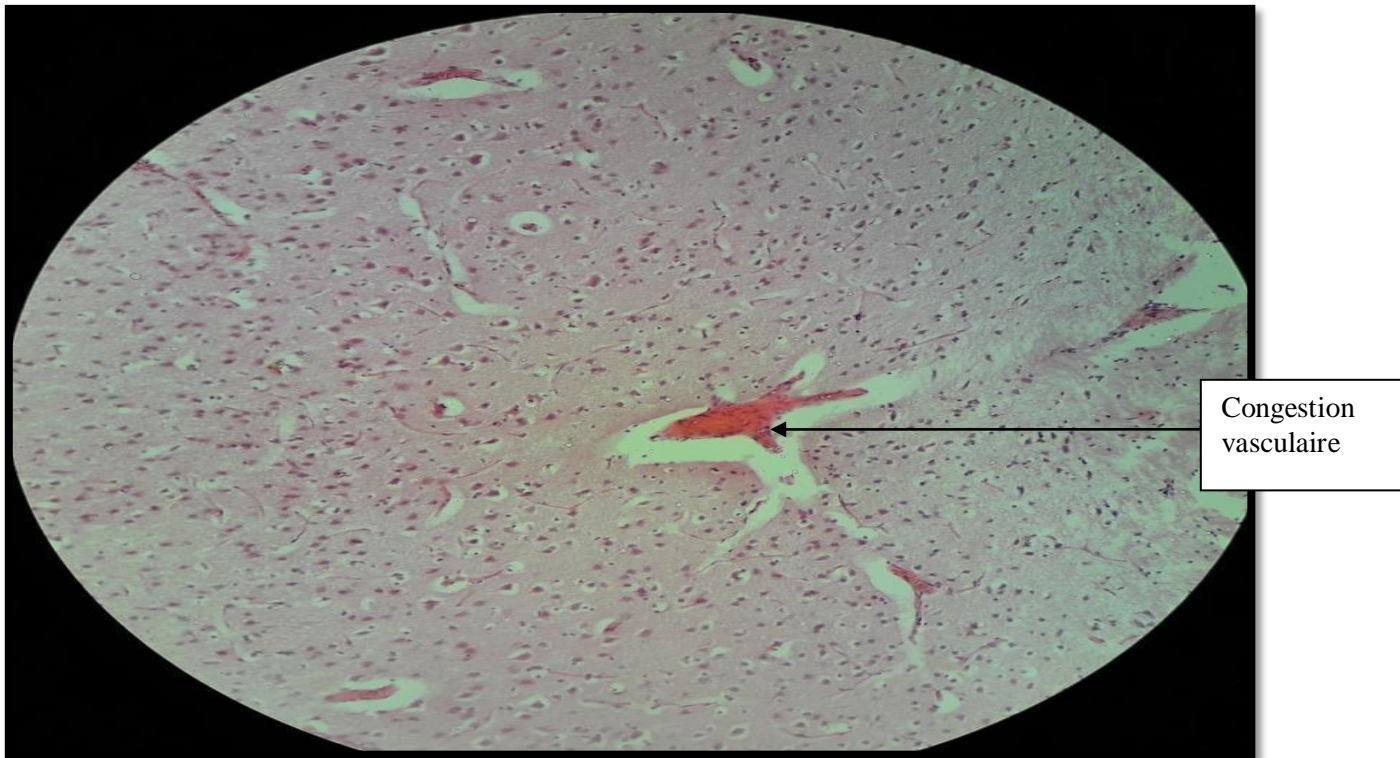


Figure 46: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : congestion vasculaire desrats wistar colorés avec H&E (groupe AlCl3) .Gx10

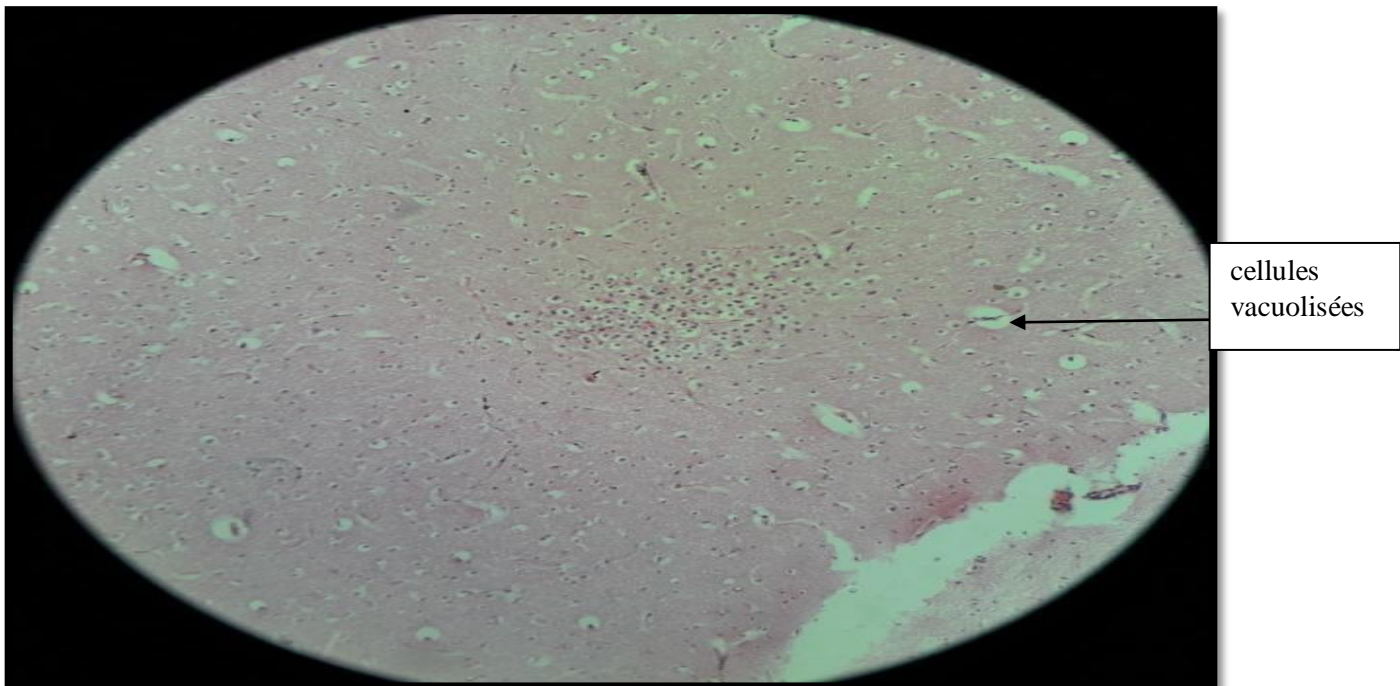
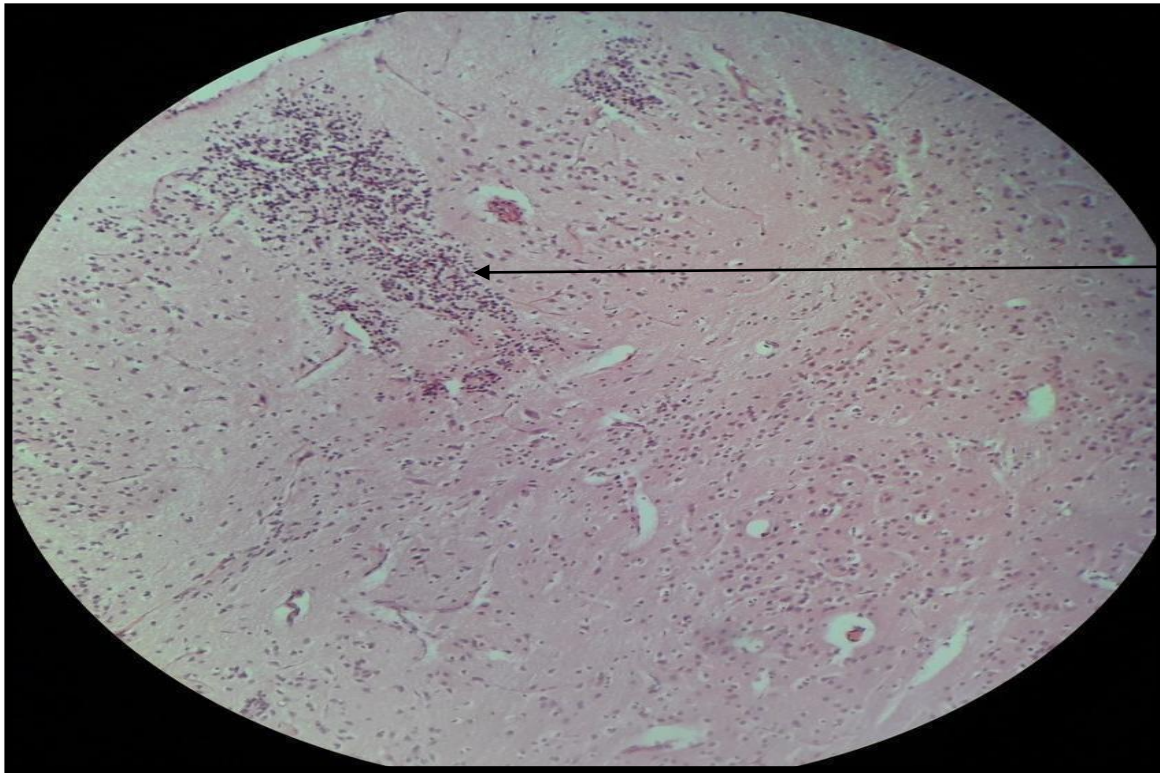


Figure 47: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : cellules vacuolisées desrats wistar colorés avec H&E (groupe AlCl3) Gx10



cellules
inflammatoires

Figure 48: Coupes histologiques Parenchyme cérébral : infiltration de cellules inflammatoires des rats wistar colorés avec H&E (groupe AlCl3). G x10

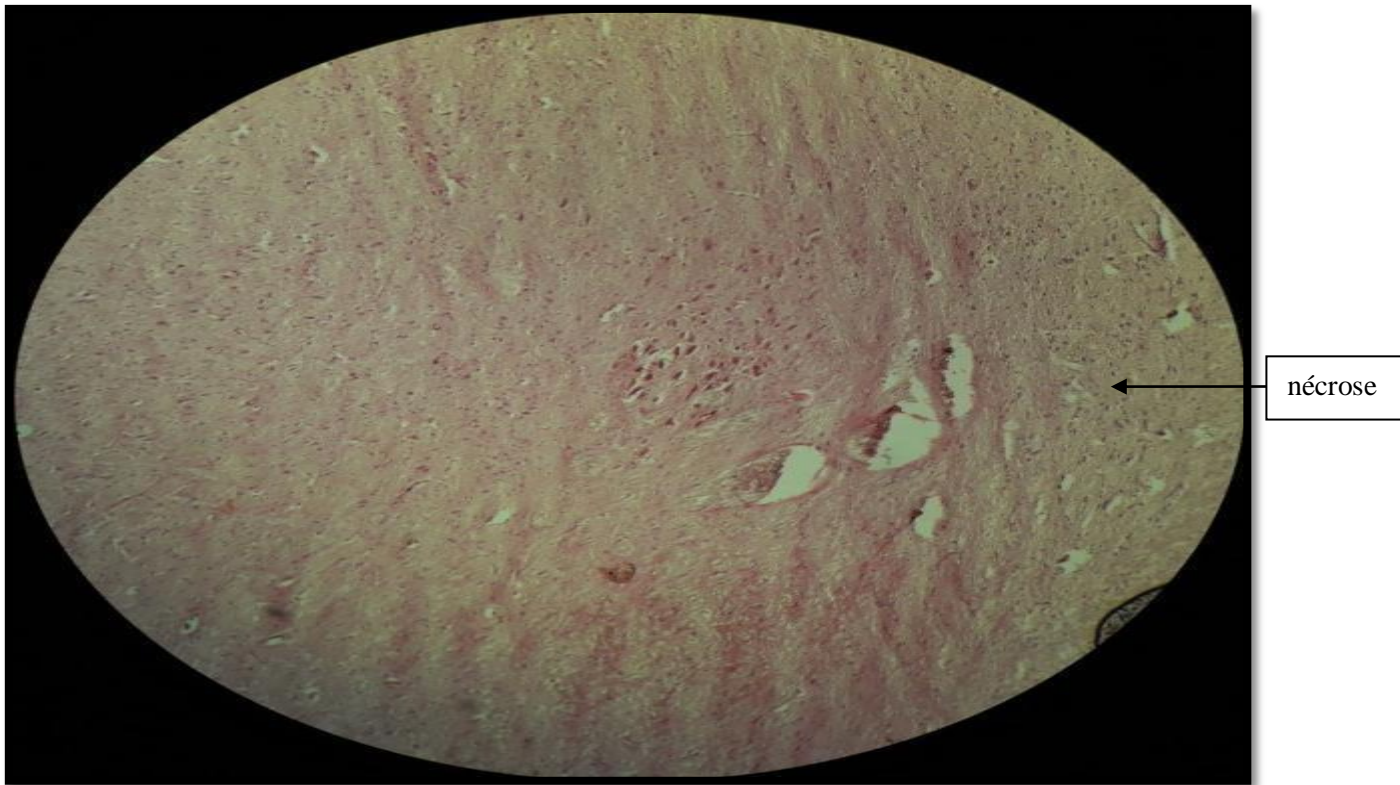


Figure 49: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : présence de plaque de nécrose avec des fibres nerveuses dégénérées des rats wistar colorés avec H&E (groupe AlCl3).

Gx10

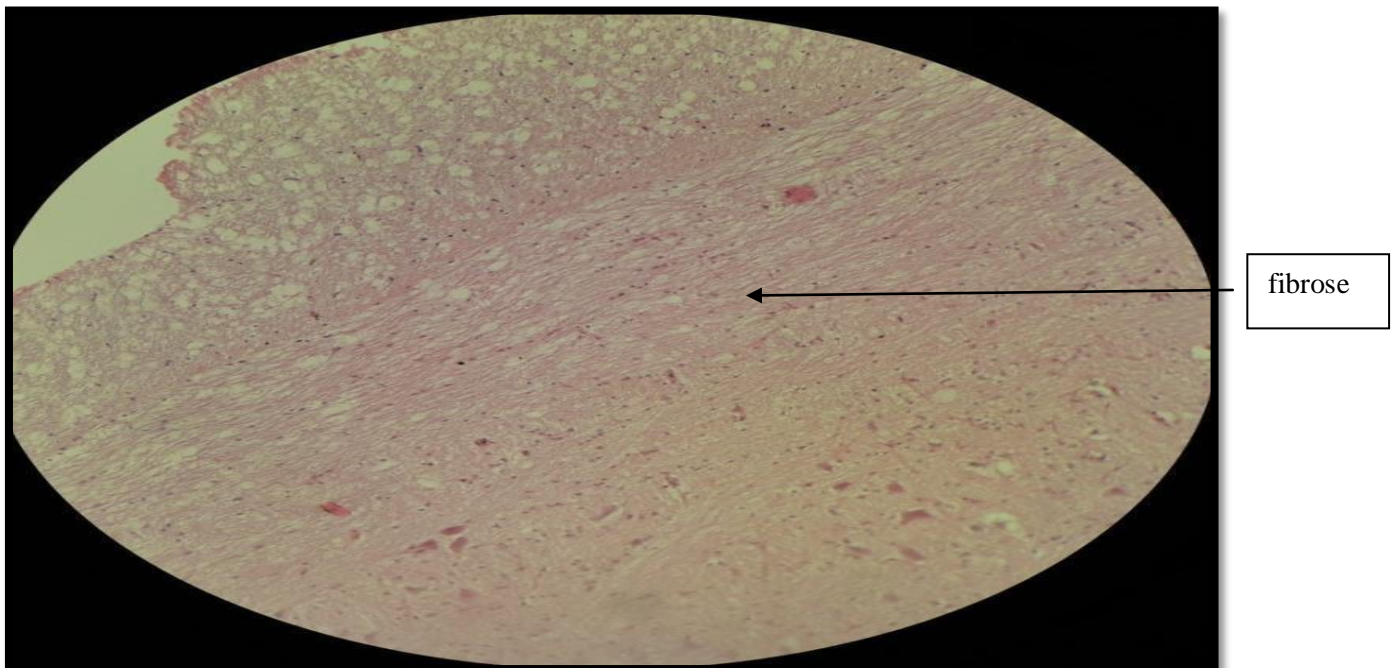


Figure 50: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : fibrose et œdème du cortex des rats wistar colorés avec H&E (groupe AlCl3).Gx10

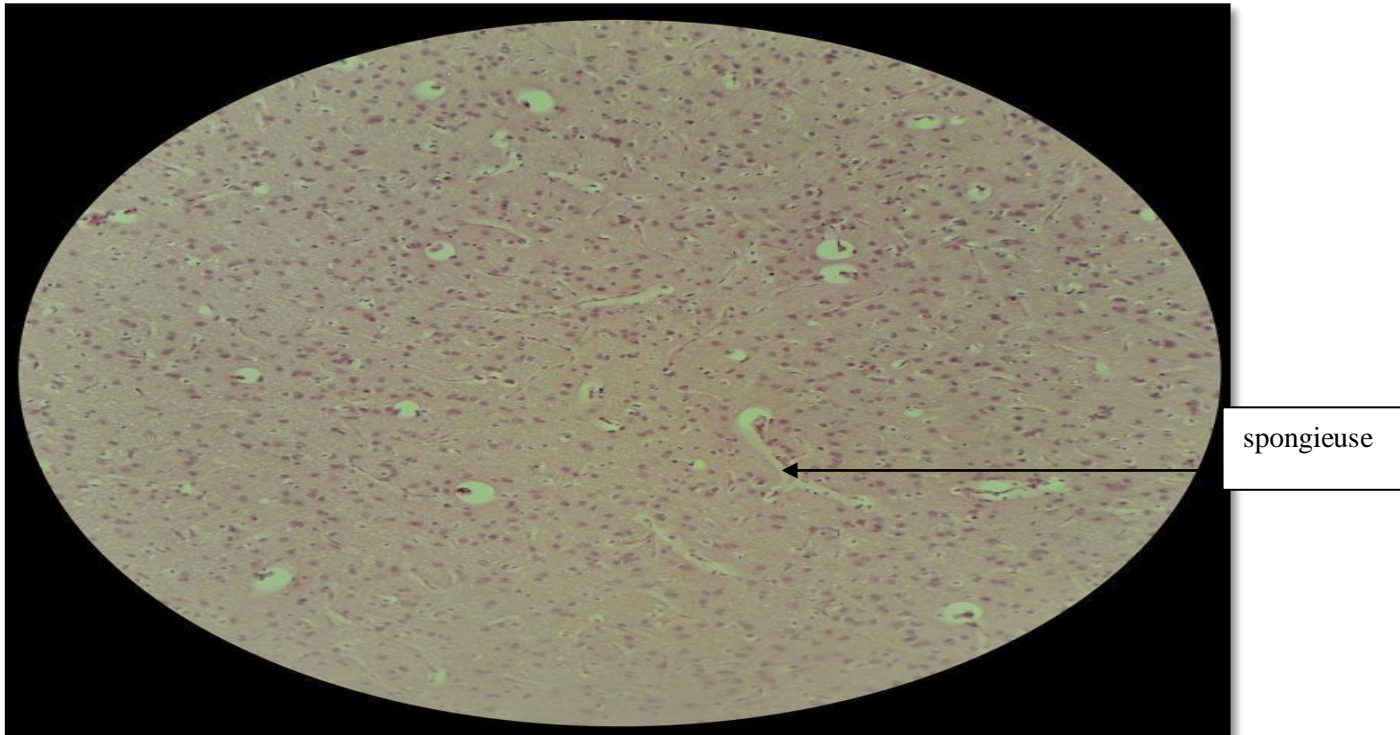


Figure 51: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : œdème péri cellulaire (spongieuse) des rats wistar E (groupe AIC13) colorés avec H&E.G x10

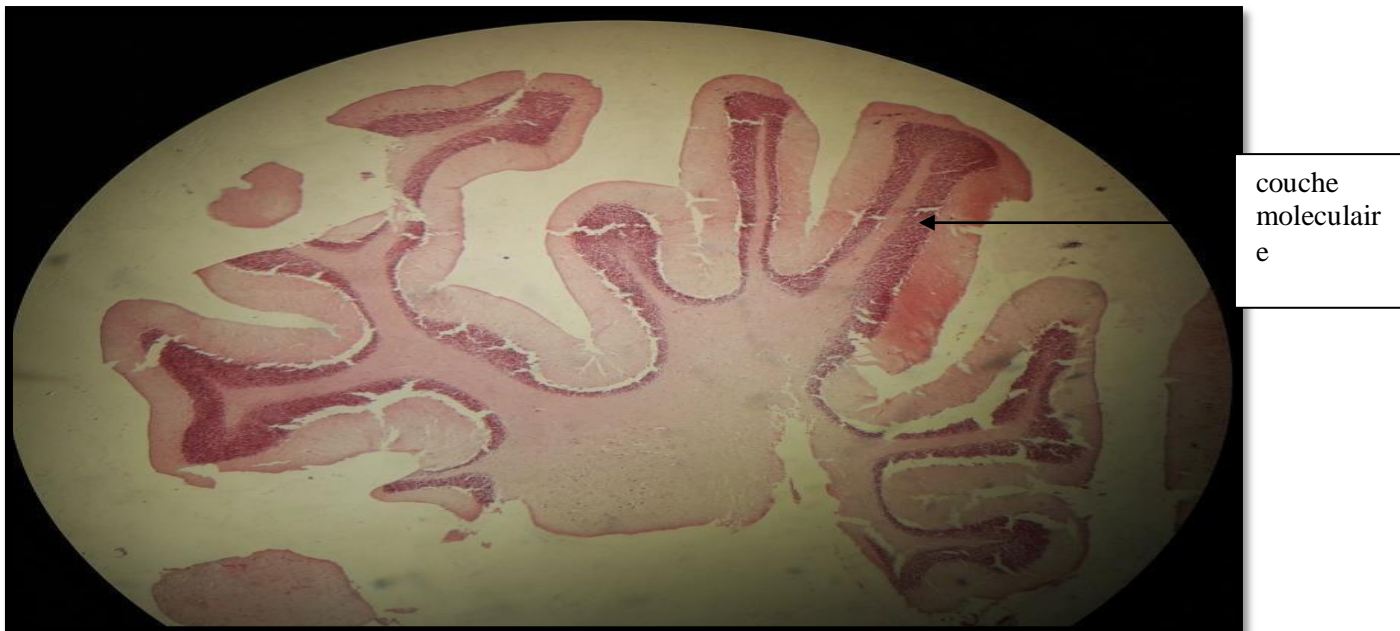


Figure 52: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux : faible épaisseur de la couche moléculaire des rats wistar colorés avec H&E (groupe AIC13).G x10

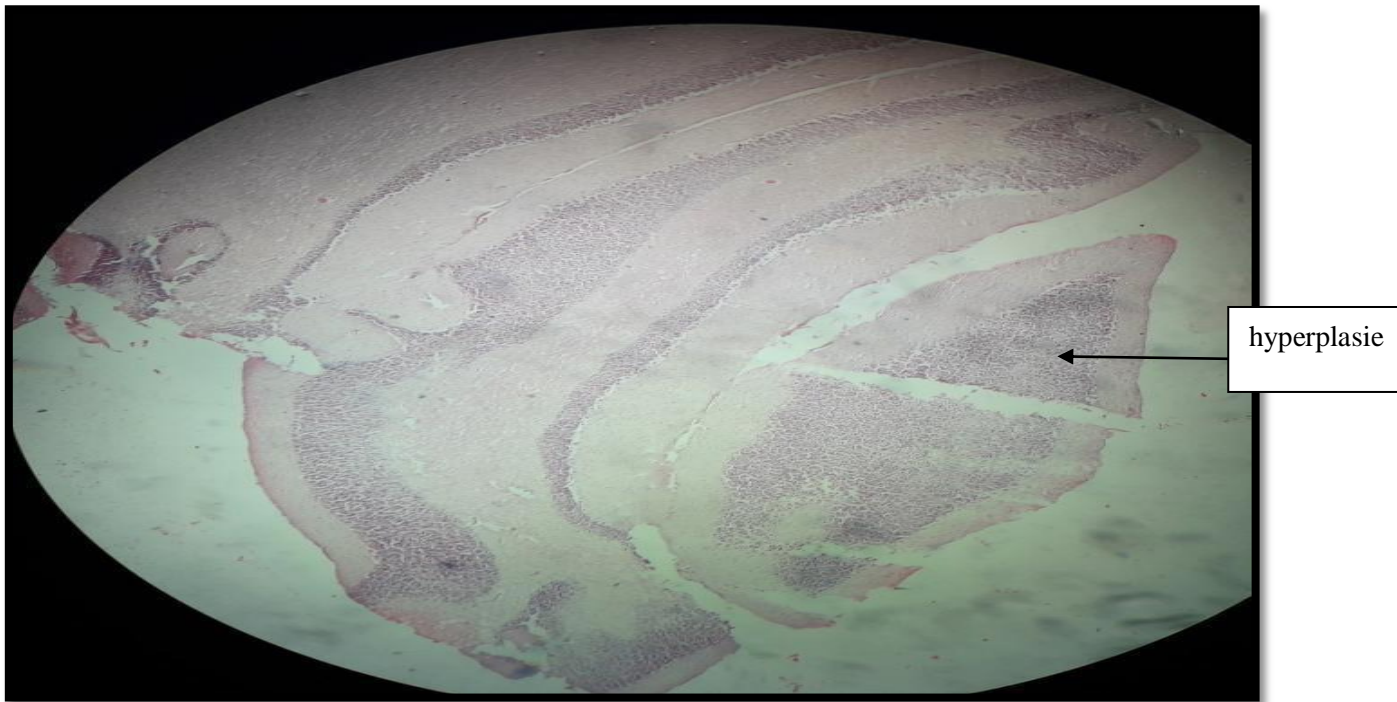


Figure 53: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux : hyperplasie de la couche des grains des rats wistar colorés avec H&E (E (groupe AIC13). G x10

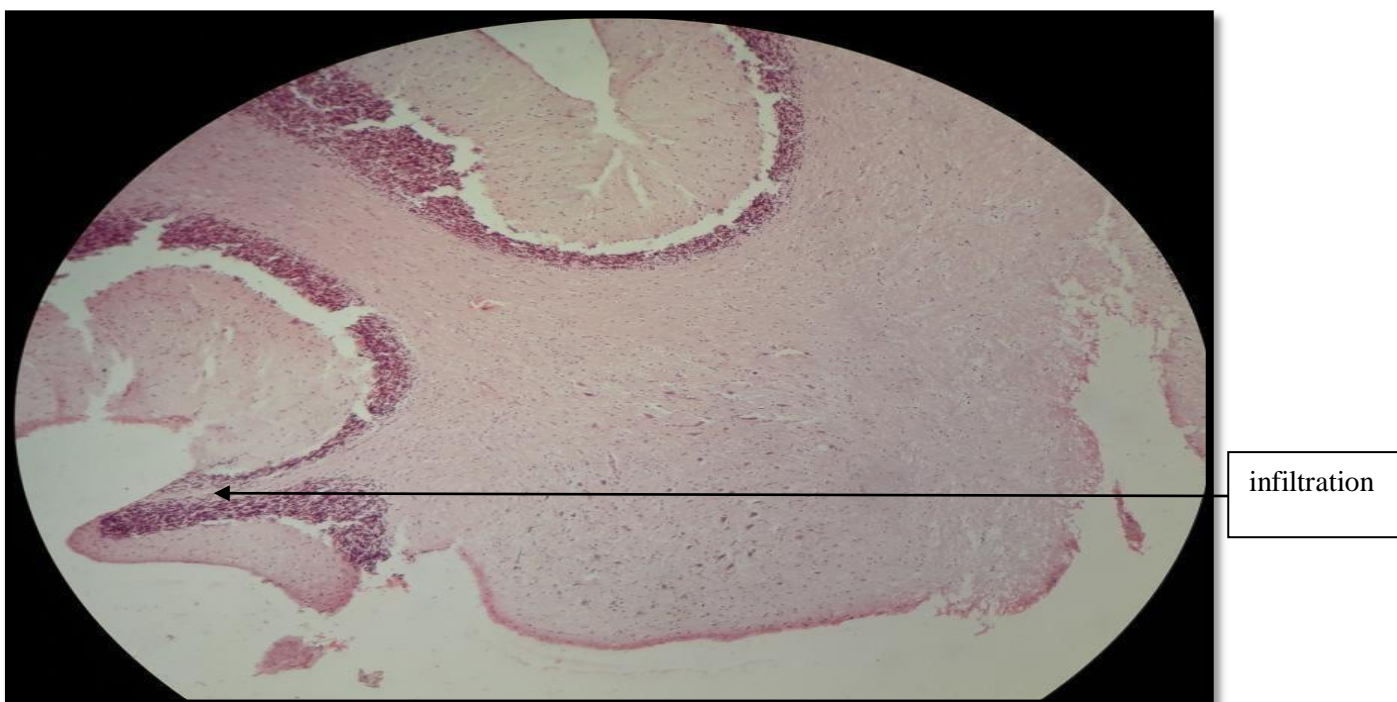


Figure 54: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux : infiltration de cellules de la couche moléculaire des rats wistar colorés avec H&E (groupe AIC13). G x10

4.3.L'examen microscopique du cerveau du groupe traité par l'acide alpha lipoïque (ALA) :

La comparaison des coupes histologiques du cerveau des rats expérimentaux par rapport aux rats témoins montre l'absence de l'œdème et de la nécrose et que les différentes cellules nerveuses restent les mêmes sans aucune différence ou modifications structurales par rapport aux celles traités par le chlorure de l'aluminium.

En outre, le traitement à l'ALA est capable de réguler l'infiltration des cellules inflammatoires dans le système nerveux. Par ailleurs, l'histologie du cerveau des rats supplémentés en AAL est comparable à celle des rats normaux. (**figure 54**)

L'observation des coupes histologiques du cerveau des rats traités par l'acide alpha lipoïque a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire ainsi que les structures vasculaires normales. (figure 53)

En revanche, le traitement des rats par l'acide alpha lipoïque a légèrement préservé ces lésions tissulaires, ce qui peut être expliqué par son effet antioxydant cytoprotecteur au niveau des organes étudiés. L'effet protecteur de l'acide alpha lipoïque contre les lésions tissulaires a été démontré par d'autres études (**Neves *et al.*, 2004; Abdel-Zaher *et al.*, 2008; Winiarska *et al.*, 2008; Saad *et al.*, 2010**).

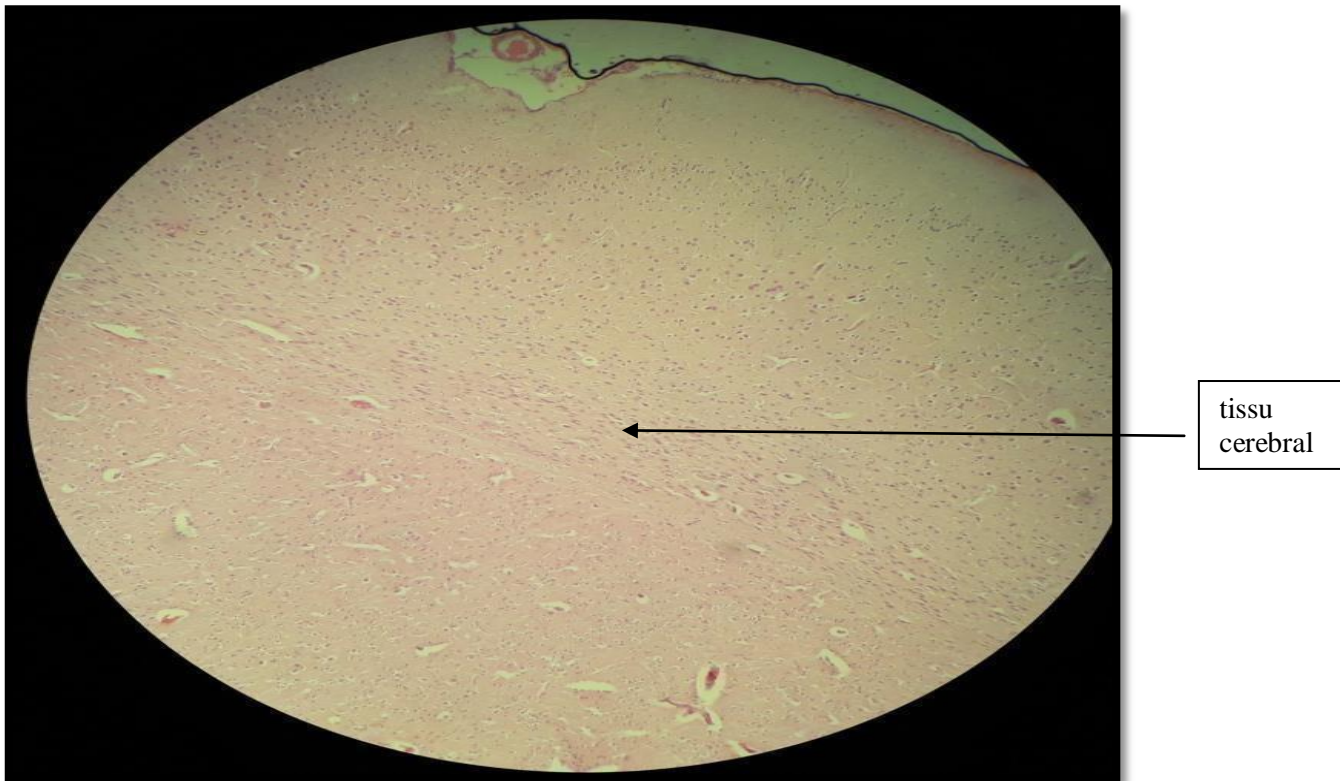


Figure 55: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : des rats wistar traité à l'acide alpha lipoïque colorés avec H&E (groupe ALA) .Gx10

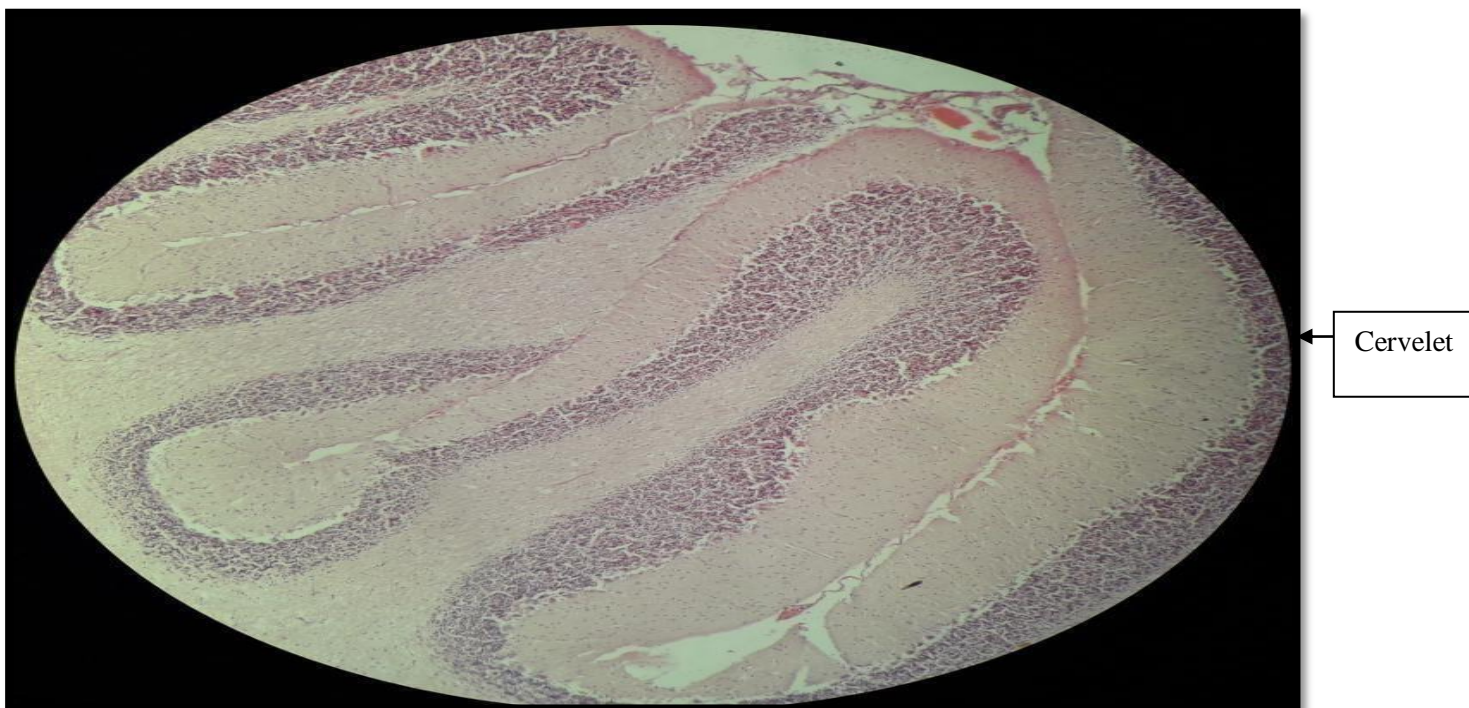


Figure 56: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux des rats wistar traité à l'acide alpha lipoïque colorés avec H&E (groupe ALA). G x10

4.4.L'examen microscopique du cerveau de groupe traité par la combinaison de l'acide alpha lipoïque et le chlorure aluminium :

En outre, le traitement à l'ALA est capable de réguler l'infiltration des cellules inflammatoires dans le système nerveux. et que les différentes cellules nerveuses restent les mêmes sans aucune différence structurales entre les différents lots témoins (figure 57). L'observation des coupes histologiques du cerveau des rats traiter a l'acide lipoïque a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire; vaisseaux normaux.

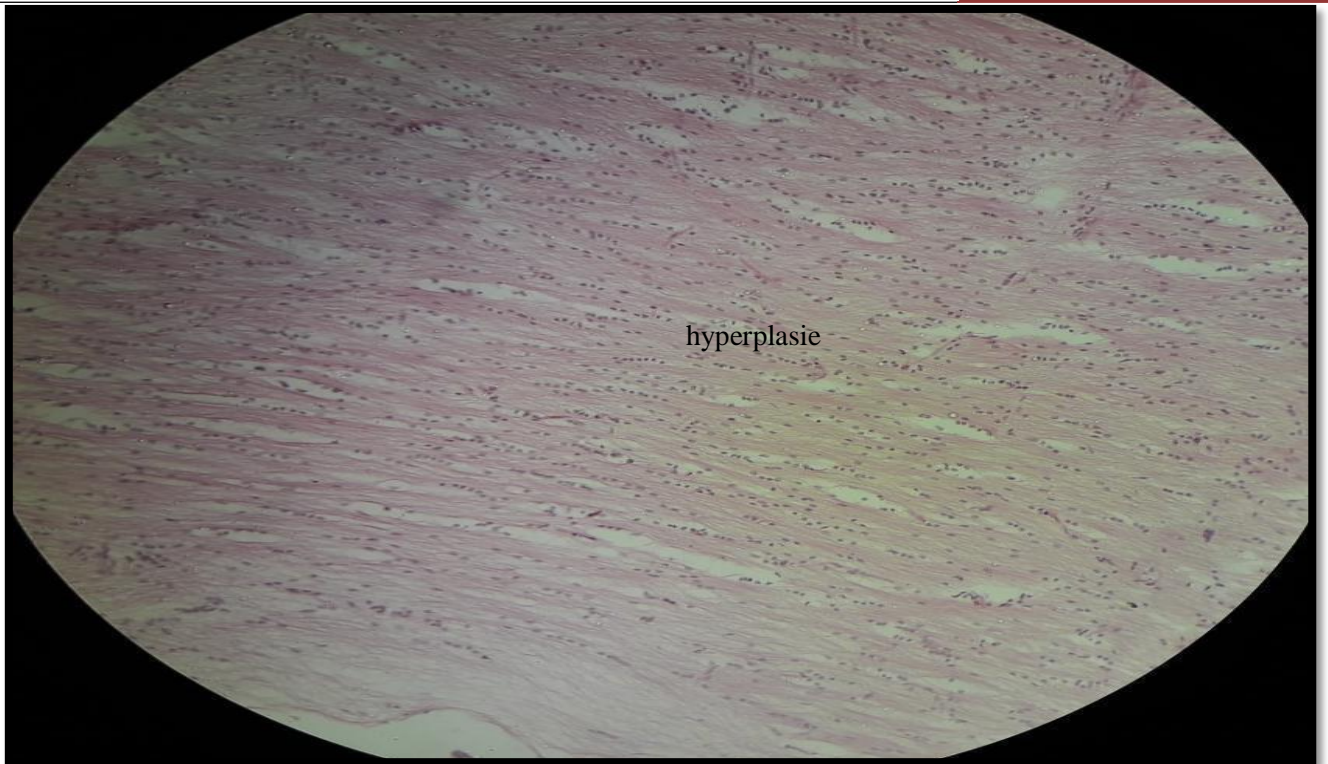
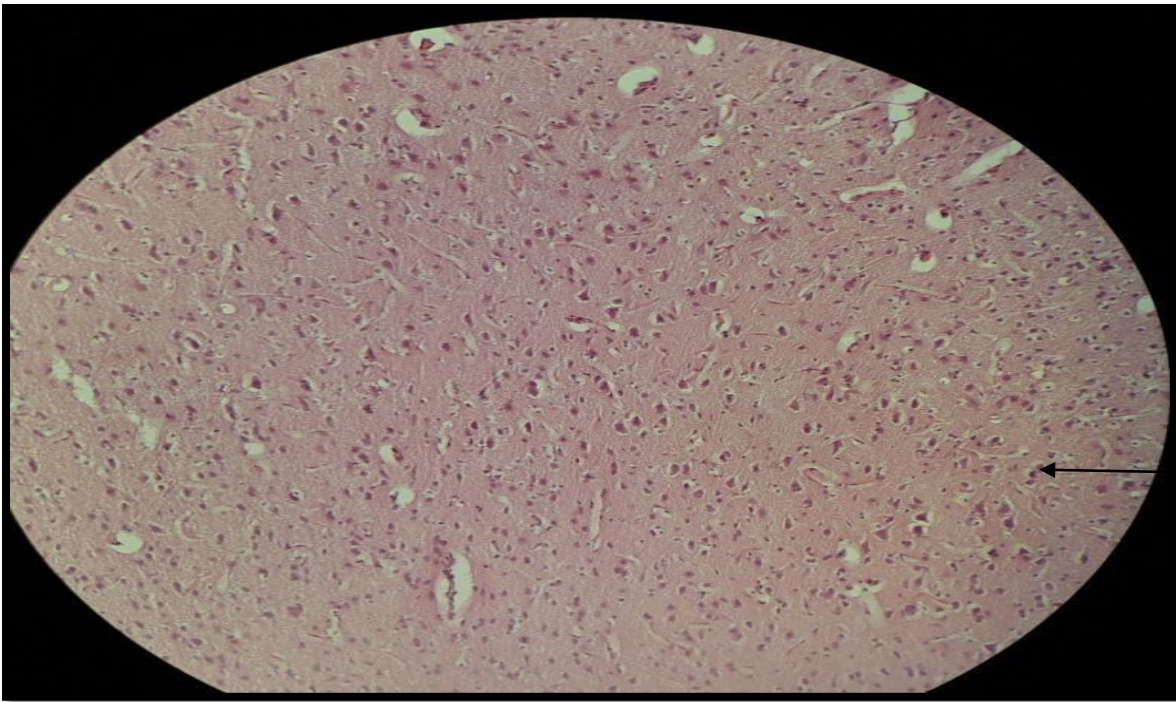


Figure 57: Coupes histologiques du Parenchyme cérébelleux des rats wistar traité à l'acide alpha lipoïque+ chlourure daluminium colorés avec H&E (groupe ALA+ALCL₃) .G x10

4.5.L'examen microscopique du cerveau du groupe traité à l'acide alpha lipoïque (ALA) après administration du chlorure de l'aluminium :

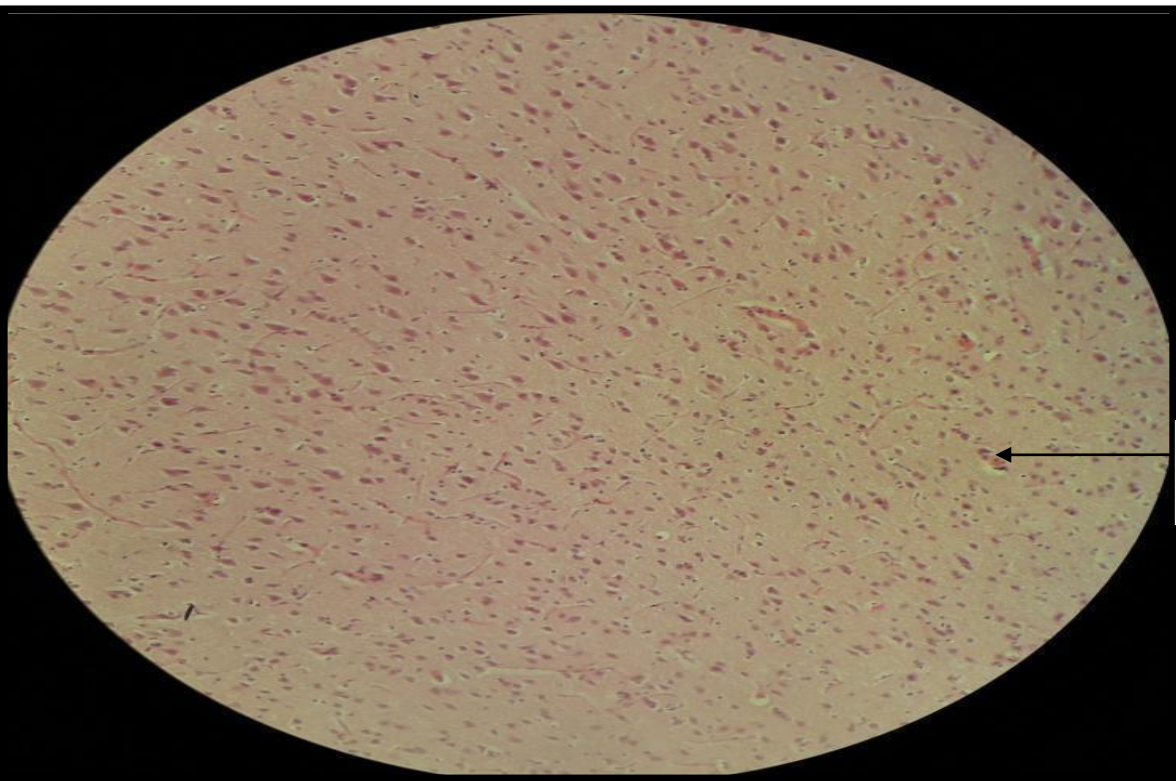
L'étude microscopique des coupes histologiques réalisées sur des rats Wistar traités par le chlorure d'aluminium puis supplémentés par l'acide alpha lipoïque a objectivé une amélioration des structures histologiques détruites par le chlorure d'aluminium par une régénération des fibres nerveuses et des cellules gliales du parenchyme cérébral et cérébelleux se traduisant par une hyperplasie cellulaire diffuse (figure 58-59).

Plusieurs études ont révélé l'acide alpha lipoïque a réduit le stress oxydant provoqué par le chlorure d'aluminium, permettant la diminution des altérations histologiques et la restauration de l'état physiologique normal de l'organisme. Ceci est le résultat de son effet réducteur vis-à-vis la peroxydation lipidique induite dans les organes étudiés. Il a été précédemment démontré, que l'administration orale de la nigelle restaure les dommages tissulaires chez les rats intoxiqués par le chlorure d'aluminium (Mahdy et Farrag, 2009), par la gentamicine (Yaman et Balikci, 2010) ainsi que chez des rats et des souris soumissent a d'autres facteurs oxydants (Mahmoud *et al.*, 2002; Awadalla, 2012; Tayman *et al.*, 2013).



cellule
pyramidale

Figure 58: Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : hyperplasie des cellules pyramidales des rats wistar colorés avec H&E (groupe A1A-A1C13) .G x10



cellule gliale

Figure 59 : Coupes histologiques du Parenchyme cérébral : hyperplasie des cellules pyramidales et gliales des rats wistar ((groupe A1A-A1C13) colorés avec H&E .G x10

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

La présente étude nous a permis de montrer dans un premier temps que l'acide α lipoïque possède des propriétés antioxydantes importantes et très intéressantes. Le traitement des rats par le chlorure d'aluminium à 100 mg/kg du poids corporel pendant trois (03) semaines a provoqué des perturbations biochimiques, hormonales et histopathologiques. En revanche, la supplémentation de l'acide alpha lipoïque à raison de (100 mg/kg de poids corporel) avec le chlorure d'aluminium améliore la plupart de ces perturbations. L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de conclure ce qui suit

1. L'administration du chlorure d'aluminium aux rats, a engendrée:

- ❖ Des perturbations au niveau des paramètres physiologiques, locomoteur et hématologiques
- ❖ Augmentation du poids corporel
- ❖ Diminution du nombre des globules rouges (GR), augmentation du nombre des globules blancs et diminution du taux d'hémoglobine et d'hématocrite témoignant une anémie microcytaire ;
- ❖ Des dommages au niveau cérébrale

2. La supplémentation en acide alpha lipoïque aux rats traités par le chlorure d'aluminium, a provoqué:

- ❖ Une amélioration des paramètres biochimique.
- ❖ Une protection de l'érythropoïèse contre les perturbations hématologiques.
- ❖ Protection des cellules nerveuses contre les substances toxiques.

L'acide α -Lipoïque et sa forme réduite, le DHLA, ont été qualifiés d'antioxydants universel" avec leur capacité à éteindre une variété d'espèces réactives de l'oxygène, inhiber des générateurs d'oxygène réactifs, et épargnent d'autres antioxydants.

Certaines études expérimentales et cliniques sur l'acide α -lipoïque confirment qu'il s'agit d'un agent thérapeutique pour des maladies aussi diverses que les maladies du myocarde et l'ischémie cérébrale - lésion de reperfusion, des dommages causés par les radiations, le diabète et les métaux lourds empoisonnement y compris l'aluminium qui est un métal toxique cumulatif pour l'homme.

Les compléments alimentaires montrent une fois de plus leurs utilités dans le combat contre la maladie d'Alzheimer. Il possède une série d'effets qui semblent en faire un idéal antioxydant thérapeutique pour le traitement du cerveau et des maladies neurodégénératives les troubles dans lesquels les radicaux libres se transforment sont impliqués, notamment par sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique, s'accumuler et être réduit dans le tissu cérébral.

L'enrichissement du régime alimentaire par l'acide-lipoïque (AAL), sera sans doute à l'origine d'une réduction des risques avec un renforçant de la sensibilité à l'insuline en favorisant un bon équilibre des niveaux de sucre dans le sang.

Enfin, on peut conclure à travers les résultats obtenu que l'exposition au chlorure d'aluminium provoque des effets toxiques et qu'il est possible d'utiliser l'acide alpha lipoïque dans le but de prévenir contre cette intoxication. De plus, l'effet antioxydant et les propriétés de l'acide a-lipoïque et son interaction avec d'autres antioxydants importants comme la vitamine E, l'ascorbate, et le glutathion fourniront un terrain fertile pour la poursuite de la recherche.

References Bibliographiques

1. Abder-rahman h., battah a.h., ibraheem y.m. , shomaf m.s. , e batainch n.,« aluminum phosphide fatalities, new local experience. »*med.sci.law* 2000 apr ; 40 (2) : 164- 168.
2. Abder-rahman h., « effect of aluminum phosphide on blood glucose level. » *vet.hum.toxicol.* 1999 feb ; 41 (1) : 31-32.
3. ackrill p., day j.p. « desferrioxamine in the treatment of aluminum overload» *clin. Nephrol.* 1985 ; 24 suppl 1 : 94-97.
4. Agence francaise de securite sanitaire des produits de sante. Evaluation du risque lié à l'utilisation de l'aluminium dans les produits cosmétiques. Afssaps, 2011. 44 p.
5. ahin, g., varol, i., temizer, a., benli, k., demirdamar, r. Et duru, s. Determination of aluminum levels in the kidney, liver, and brain of mice treated with aluminum hydroxide. *Biol. Trace element res.*, 41: 129-135 (1994).
6. Ahn h.w. , fulton b. , moxon d. , jeffery e.h. ,« interactive effects of fluoride and aluminum uptake and accumulation in bones of rabbits administered both agents in their drinking water »*j.toxicol.envIRON.health* 1995 mar ; 44 (3) : 337-350.
7. Akbari M, Ostadmohammadi V, Lankarani KB, et al. The effects of alpha- lipoic acid supplementation on glucose control and lipid profiles among patients with metabolic diseases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Metabolism.* 2018;87:56-69. (PubMed)
8. Al Abdan M., Alfa-lipoic acid controls tumor growth and modulates hepatic redox
9. Alfrey a.c., legendre g.r., kaehny w.d.,« the dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminum intoxication. »*n.engl.j.med.*, 1976; 294 (4) : 184-188.
10. Allain p., maurus y., krari n., duchier j., cournot a., larcheveque j., « plasma and urine aluminium concentrations in healthy subjects after administration of sucralfate. » *br.j.clin.pharmacol.* 1990 apr; 29 (4): 391-395.
11. Al-Olayan EM, El-Khadragy MF, Abdel Moneim AE. The protective properties of melatonin against aluminium-induced neuronal injury. *Int J Exp Pathol* 2015;96:196–202.
12. Altmann, p., al-salihi, f., butter, k., cutler, p., blair, j., leeming, r., cunningham, j. Et marsh, f. Serum aluminum levels and erythrocyte dihydropteridine reductase activity in patients on hemodialysis. *N. Engl. J. Med.*, 317: 80-84 (1987).
13. Alvarez-Gonzalez et al., 2007. Effects on growth and apparent digestibility. Caribbean & Latin American Aquaculture 2007, 6–9 November 2007. San Juan, Puerto Rico
14. Anane r, bonini m, grafeille jm, creppy ee. Bioaccumulation of water soluble aluminium chloride in the hippocampus after transdermal uptake in mice. *Arch toxicol* 1995; 69:568–571.
15. Andress d.l. , kopp j.b., maloney n.a. , coburn j.w. , sherrard d.j.,« early deposition of aluminum in bone in diabetic patients on hemodialysis. » *n.engl.j.med.* 1987 feb 5; 316 (6): 292-296.
16. Anger f. , paysan f. , brousse f. , le normand i , devalay p. , gaillard y. , baert a. , le gueut m.a. , pepin g. , anger j.p.,« fatal aluminum phosphide poisoning. »*anger f. Et al .2000 j.anal.toxicol.* 2000 mar ; 24 (2) : 90-92.

17. Arivazhagan P., Shila S., Kumaran S., Panneerselvam C., Effect of DL-alpha- lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in various brain regions of aged rats, *Exp. Gerontol.* 37 (2002) 803–811.
18. Arivazhagan S and al., Ganesan Texture segmentation using wavelet transform pattern Recognition letters 24 (2003)3197-3203 Elsevier.
19. Arivazhagan, P., Ramanathan, K., and Panneerselvam, C. (2001b). Effect of DLalpha- lipoic acid on glutathione metabolic enzymes in aged rats. *Exp. Gerontol.* 37, 81–87.
20. Bazzoni, G., Martinez-Estrada, O. M., Orsenigo, F., Cordenonsi, M., Citi, S. and Dejana, E. (2000b). Interaction of junctional adhesion molecule with the tight junction components ZO-1, cingulin, and occludin. *J. Biol. Chem.* 275, 20520-20526
21. Begue p., girard m., bazin h., bach j. F. Les adjuvants vaccinaux: quell actualité en 2012 ?. *Academie nationale de medecine*, juin 2012. 32 p.
22. Biewenga G, Haenen G, Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol.* 1997;29:315–331.
23. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol.* 1997;29(3):315-331.
24. Bilska, A., Dubiel, M., Sokolowska-Jezewicz, M., Lorenc-Koci, E., and Wlodek, L. (2007). Alpha-lipoic acid differently affects the reserpine-induced oxidative stress in the striatum and prefrontal cortex of rat brain. *Neuroscience* 146, 1758–1771.
25. Birchall j.d. , « the interrelationship between silicon and aluminium in the biological effects of aluminium. »*ciba found symp.* 1992 ; 169 : 50-61.
26. Birchall j.d. , chappell j.s. ,« the chemistry of aluminum and silicon in relation to alzheimer’s disease. »*clin.chem.* 1988 feb ; 34 (2) : 265-267.
27. Bismuth c. *Toxicologie clinique.* Paris: médecine-sciences flammariion; 2000 1092 p.
28. Bohrer d. , do nascimento p.c. , mendonca j.k. , polli v.g. ,de carvalho l.m., « interaction of aluminium ions with some amino acids present in human blood. » *amino acids* 2004; 27 (1) : 75-83.
29. Burnatowska-hledin ma. kaiser l., mayor gh., « aluminum, parathyroid hormone, and osteomalacia. » *spec.top.endocrinol.metab.* 1983; 5: 201-226.
30. Busse E, Zimmer G, Schopohl B, Kornhuber B. Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung.* 1992;42(6):829831.
31. Bustamante J, Lodge JK, Marcocci L, et al. Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med.* 1998;24(6):1023–1039.
32. Bustamante J, Lodge JK, Marcocci L, et al. Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med.* 1998;24(6):1023–1039.
33. Bustamante J, Lodge JK, Marcocci L, Tritschler HJ, Packer L, Rihn BH. Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24(6):1023-1039.
34. Byun E, Lim JW, Kim JM, Kim H. alpha-Lipoic acid inhibits Helicobacter pylori- induced oncogene expression and hyperproliferation by suppressing the activation of NADPH oxidase in gastric epithelial cells. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:380830.
35. Cannata j.b. , gomez alonso c., fernandez menendez m.j ,fernandez soto i., mc gregor s. , menendez-fraga p., brock j.h. ,« iron uptake in aluminium overload : in vivo and in vitro studies. »*nephrol.dial.transplant.* 1991 ; 6 (9) : 637-642.

36. Cannata j.b. , olaizola i.r. , gomez-alonso c. , menendez-fraga p. , Alonso-suarez m., diaz-lopez j.b. ,« serum aluminum transport and aluminum uptake in chronic renal failure : role of iron and aluminum metabolism. »nephron. 1993 ; 65 (1) : 141-146.
37. Canstantinscu A., U. Pick, N. Haramaki, D. Han ,M. podda, H.J. Tritschler, L. Packer, «Reduction and transport of lipoic acid by human erythrocytes», *Biochemical Pharmacology*, vol. 50,no 2,17 juillet 1995, p. 253-261
38. Carreau JP. Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids. *Methods Enzymol* 1979;62:152–8.
39. Chaudhary P, Marracci GH, Bourdette DN. Lipoic acid inhibits expression of ICAM-1 and VCAM-1 by CNS endothelial cells and T cell migration into the spinal cord in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*. 2006; 175(1 2):87-96. (PubMed)
40. Chaudhary P., Marracci G.H., Bourdette D.N., Lipoic acid inhibits expression of ICAM-1 and VCAM-1 by CNS endothelial cells and T cell migration into the spinal cord in experimental autoimmune encephalomyelitis, *J. Neuroimmunol*. 175 (2006) 87–96.
41. Chen k.m., «disappearance of als from guam : implications for exogenous causes. »(japanese) *rinsho shinkeigaku* 1995 dec ; 35 (12) : 1549-1553.
42. Chng H.T., New L.S., Neo A.H., Goh C.W., Browne E.R., Chan E.C., Distribution study of orally administered lipoic acid in rat brain tissues, *Brain Res*. 1251 (2009) 80–86.
43. Cho Y.S., Lee J., Lee T.H., Lee E.Y., Lee K.U., Park J.Y., Moon H.B., alpha- Lipoic acid inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of asthma, *J. Allergy Clin. Immunol*. 114 (2004) 429–435.
44. Crapper d.r., krishnan s.s., dalton a.j.,« brain aluminium distribution in alzheimer’s disease and experimental neurofibrillary degeneration. » *science*. 1973 ; 180 : 511-513.
45. Crapper, d.r., quittkat, s., krishnan, s.s., dalton, a.j. Et de boni, u. Intranuclear aluminum content in alzheimer’s disease, dialysis encephalopathy, and experimental aluminum encephalopathy. *Acta neuropathol.*, 50: 19-24 (1980).
46. Dana Consortium on the Therapy of HIV Dementia and Related Cognitive Disorders. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of deprenyl and thioctic acid in human immunodeficiency virus-associated cognitive impairment. *Neurology*. 1998;50(3):645-651. (PubMed)
47. dartigues j.f. , gagnon m. , barberger-gateau p. , letenneur l. , commenges d. , sauvel c. , michel p. , salamon r. ,« the paquid epidemiological program on brain ageing.»*neuroepidemiology*. 1992 ; 11 suppl. 1 : 14-18.
48. De Oliveira AM, Rondo PH, Luzia LA, D'Abronzio FH, Illison VK. The effects of lipoic acid and alpha-tocopherol supplementation on the lipid profile and insulin sensitivity of patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;92(2):253-260. (PubMed)
49. Diesel B, Kulhanek-Heinze S, Holtje M, et al. Alpha-lipoic acid as a directly binding activator of the insulin receptor: protection from hepatocyte apoptosis. *Biochemistry*. 2007;46(8):2146-2155. (PubMed)
50. Dinman bd. Aluminium. In: bingham e, cohrrsen b, powell c, editors. *Patty’s toxicology*. New york: john wiley; 2001. P. 353–415.
51. Dollinger, h.c., zumkey, h., spieker, c. Et al. Aluminum in antacids shown to accumulate in brain and bone tissue. *Gastroenterol. Obs.*, 5: 478 (1986)

52. Domingo j.l. , gomez m. , llobet j.m., corbella j. ,« influence of some dietary constituents on aluminum absorption and retention in rats. » *kidney int.* 1991 apr ; 3 (4) : 598-601
53. Domingo j.l., gomez m. , llobet j.m., corbella j. ,« effect of various dietary constituents on gastrointestinal absorption of aluminum from drinking water and diet. » *res.commun.chem.pathol.pharmacol.* 1993 mar ; 79 (3) : 377-380.
54. Domingo j.l., gomez m., llobet j.m., richard c.« effect of ascorbic acid on gastrointestinal aluminium absorption. »*lancet* 1991 dec 7 ; 338 (8780) : 1467.
55. Dong Y, Wang H, Chen Z. Alpha-lipoic acid attenuates cerebral ischemia and reperfusion injury via insulin receptor and PI3K/Akt-dependent inhibition of NADPH oxidase. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:903186. (PubMed)
56. Doraiswamy PM, Finefrock AE. Metals in our minds: therapeutic implications for neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol.* 2004;3(7):431-434. (PubMed)
57. Duprè S, Spoto G, Matarese RM, Orlando M, Cavallini D. Biosynthesis of lipoic acid in the rat: incorporation of 35S- and C-labeled precursors. *Arch Biochem Biophys* 1980;202:361–5.
58. Duterte-Boucher D, Kamenka JM and Costentin J (1990) Comparison of the effects of three indirect dopamine agonists, GK 13, GBR12783 and dexamphetamine on behavioural tests involving central catecholaminergic transmissions. *Psychopharmacology* 101:344 –353
59. Dy SM, Bennett WL, Sharma R, et al. AHRQ Comparative Effectiveness Reviews. Preventing complications and treating symptoms of diabetic peripheral neuropathy. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2017.
60. El Midaoui, A. J. de Champlain, Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by alpha-lipoic acid, *Hypertension* 39 (2002) 303–307.
61. Estrada DE, Ewart HS, Tsakiridis T, et al. Stimulation of glucose uptake by the natural coenzyme alpha-lipoic acid/thioctic acid: participation of elements of the insulin signaling pathway. *Diabetes.* 1996;45(12):1798-1804. (PubMed)
62. Farina M, Frizzo ME, Soares FA, Schwalm FD, Dietrich MO, Zeni G, Rocha JB, Souza DO. Ebselen protects against methylmercury-induced inhibition of glutamate uptake by cortical slices from adult mice. *Toxicol Lett.* 2003a;144:351–357
63. Fateheya M Metwally 1, Manal S Mazhar Effect of aluminium on the levels of some essential elements in occupationally exposed workers. *Arh Hig Rada Toksikol* 2007 Sep;58(3):305-11.
64. Fatemi, s.j.a., kadir, f.h.a. Et moore, g.r. Aluminium transport in blood serum. Binding of aluminium by human transferrin in the presence of human albumin and citrate. *Biochem. J.*, 280: 527-532 (1991).
65. Fayez AM, Zakaria S, Moustafa D. Alpha lipoic acid exerts antioxidant effect via Nrf2/HO-1 pathway activation and suppresses hepatic stellate cells activation induced by methotrexate in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018;105:428-433. (PubMed)
66. Federici M., Menghini R., Mauriello A., Hribal M.L., Ferrelli F., Lauro D., Sbraccia P., Spagnoli L.G., Sesti G., Lauro R., Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells, *Circulation* 106 (2002) 466– 472.
67. Fernandez i , fernandez j.l. , rodriguez r. , sanz-medel a., cannata j.b. ,« influence of the degree of saturation of iron stores on the gastrointestinal absorption of aluminum. » (Article in spanish)*rev.esp.fisiol.* 1989 mar; 45 (1): 33-39.
68. Ferretti g. , marchionni c. , bacchetti t. , galeazzi t. , dousset n. , « effect of aluminium on lipid peroxidation of human high density lipoproteins. *Free radic.res.* 2003 may ; 37 (5) : 515-521.

69. Flarend r, bin t, elmore d, hems sl. A preliminary study of the dermal absorption of aluminium from antiperspirants using aluminium-26. *Food chem toxicol* 2001;39:163–168.
70. Forbes w.f., agwani n., « a suggested mechanism for aluminum biotoxicity. » *j.theor.biol.* 1994 nov 21; 171 (2) : 207-214.
71. Forman HJ, Davies KJ, Ursini F. How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2014;66:24–35.
72. Fratantonio D, Speciale A, Molonia MS, et al. Alpha-lipoic acid, but not di- hydro-lipoic acid, activates Nrf2 response in primary human umbilical-vein endothelial cells and protects against TNF-alpha induced endothelium dysfunction. *Arch Biochem Biophys.* 2018;655:18-25.(PubMed)
73. Froment d.p., molitoris b.a., buddington b., miller n. , alfrej a.c., « site and mechanism of enhanced gastrointestinal absorption of aluminum by citrate. » *Kidney int.* 1989 ; 36 (6) : 978-984.
74. Fulton b. , jaw s. , jeffery e.h. ,« bioavailability of aluminum from drinking water » *fundam.appl.toxicol.* 1989 jan ; 12 (1) : 144-150.
75. Fung k.f. , zhang z.q. , wong j.w. , wong m.h. ,« aluminium and fluoride concentrations of three tea varieties growing at lantau island, hong kong. » *environ.geochem.health* 2003 jun ; 25 (2) : 219-232.
76. Gajdusek d.c. And salazar a.m.,« amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonian syndromes in high incidence among the auya and jakai people of west new guinea. » *neurology.* 1982 feb ; 32 (2) : 107-126.
77. Gandolfi l. , stella m.p. , zambenedetti p. , zatta p. ,« aluminum alters intracellular calcium homeostasis in vitro. »*biochim.biophys.acta.* 1998 apr. 28; 1406 (3): 315-320.
78. Garbossa g, galvez g, castro me et al - oral aluminium administration to rats with normal renal function. 1. Impairment of erythropoiesis. *Hum exp toxicol.* 1998 ;17(6) : 312-317
79. García T, Esparza JL, Giralt M, Romeu M, Domingo JL, Gómez M Protective role of melatonin on oxidative stress status and RNA expression in cerebral cortex and cerebellum of AbetaPP transgenic mice after chronic exposure to aluminum. *Biol Trace Elem Res* 2010;135:220–32.
80. Garruto r.m. , shankar s.k., yanagihara r.t. , salazar a.m., amyx h.l. , Gajdusek d.c. «low-calcium, high-aluminum diet-induced motor neuron pathology in cynomolgusmonkeys.» *acta neuropathol. (berl.)* 1989 ; 78 (2) : 210-219.
81. Garruto r.m. , swyt c. , fiori c.e. , yanagihara r.t. , gajdusek d.c. , « intraneuronal deposition of calcium and aluminium in amyotrophic lateral sclerosis of guam. » *Lancet* 1985 dec 14 ; 2 (8468) : 1353.
82. Garruto r.m., gajdusek d.c., chen k.m.,« amyotrophic lateral sclerosis among chamorro migrants from guam. »*ann.neurol.* 1980 dec; 8 (6) : 612-619.
83. Garruto r.m., yanagihara r.t., gajdusek d.c.,« disappearance of high-incidence amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia on guam. »*neurology.* 1985 feb ; 35 (2) : 193-198.
84. Gebka A, Serkies-Minuth E, Raczynska D. Effect of the administration of alpha- lipoic acid on contrast sensitivity in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Mediators Inflamm.* 2014:131538. (PubMed)
85. George JD, Kim E, Spain R, Bourdette D, Salinthon S. Effects of lipoic acid on migration of human B cells and monocyte-enriched peripheral blood mononuclear cells in relapsing remitting multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2018; 315:24-27.

86. Ghibu S L, Richard C, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Direct and indirect antioxidant properties of alpha-lipoic acid and therapeutic potential. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(1):114-125. (PubMed)
87. Ghibu, S., Richard, C., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y., and Rochette, L. (2009). Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 54, 391–398.
88. Golub m.s. , han b. , keen c.l. ,« aluminum uptake and effects on transferrin mediated iron uptake in primary cultures of rat neurons, astrocytes and oligodendrocytes. » *neurotoxicology.* 1999 dec.; 20 (6): 961-970.
89. Gorąca A, Huk-Kolega H, Piechota A, et al. Lipoic acid – biological activity and therapeutic potential. *Pharmacol Rep.* 2011;63(4):849– 858.
90. Gourrier-frery c., frery n. « aluminium ». *Emc - toxicol.-pathol.* Juillet 2004. Vol. 1, n°3, p. 79-95.
91. Graves a.b. , white e. , koepsell t.d. , reffer b.v. , bell g.v., lanson e.b. « The association between aluminum containing products and alzheimer’s disease. » *j.clin.epidemiol.* 1990 43: 35-44.
92. Greger, j.l. Aluminum metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, 13: 43-63 (1993)
93. Hagen T.M., Moreau R., Suh J.H., Visioli F., Mitochondrial decay in the aging rat heart: evidence for improvement by dietary supplementation with acetyl-L-carnitine and/or lipoic acid, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 959 (2002) 491–507.
94. Hagen TM, Vinarsky V, Wehr CM, Ames BN. (R)-alpha-lipoic acid reverses the age-associated increase in susceptibility of hepatocytes to tert-butylhydroperoxide both in vitro and in vivo. *Antioxid Redox Signal.* 2000;2(3):473-483. (PubMed)
95. Hager K, Kenklies M, McAfoose J, Engel J, Munch G. Alpha-lipoic acid as a new treatment option for Alzheimer's disease--a 48 months follow-up analysis. *J Neural Transm Suppl.* 2007(72):189-193. (PubMed)
96. Hager K, Marahrens A, Kenklies M, Riederer P, Munch G. Alpha-lipoic acid as a new treatment option for Alzheimer type dementia. *Arch Gerontol Geriatr.* 2001;32(3):275- 282. (PubMed)
97. Haram e.m., weberg r., berstad a.,« urinary excretion of aluminium after ingestion of scalfate and a aluminium-containing antacid in man. »*scan.j.gastroenterol.* 1987 Jun; 22 (5) 615-618.
98. Harrison E.H., McCormick D.B., The metabolism of dl-(1, 6–14C) lipoic acid in the rat, *Arch. Biochem. Biophys.* 160 (1974) 514–522.
99. Hayacibara m.f. , queiroz c.s. , tabchoury c.p. , cury j.a. ,« fluoride and aluminum in teas and tea-based beverages. »*rev.saude publica.* 2004 feb ; 38 (1) : 100-105
100. He s.c. , qiao n. , sheng w. ,« neurobehavioral, autonomic nervous function and lymphocyte subsets among aluminum electrolytic workers »*int.j.immunopathol.pharmacol.* 2003 may-aug ; 16 (2) : 139-144.
101. Heinisch BB, Francesconi M, Mittermayer F, et al. Alpha-lipoic acid improves vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes: a placebo-controlled randomized trial. *Eur J Clin Invest.* 2010;40(2):148-154. (PubMed)
102. Heitzer T, Finckh B, Albers S, Krohn K, Kohlschutter A, Meinertz T. Beneficial effects of alpha-lipoic acid and ascorbic acid on endothelium-dependent, nitric oxide- mediated vasodilation in diabetic patients: relation to parameters of oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(1):53-61. (PubMed)
103. Holmquist L., et al, Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer’s disease and related dementia, *Pharmacol. Ther.* Jan2007, 113(1):154-64.

104. Ihsan Yaman Engin Balikci Protective effects of *Nigella sativa* against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats April 2009 *Experimental and toxicologic pathology: official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie* 62(2):183-90
105. Ikeda U., Ito T., Shimada K., Interleukin-6 and acute coronary syndrome, *Clin. Cardiol.* 24 (2001) 701–704.
106. Institut de veille sanitaire. Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de la population française à l'aluminium : eaux, aliments, produits de santé. Invs, afssa, afssaps, 2003. 193 p.
107. Institut de veille sanitaire. Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de la population française à l'aluminium : eaux, aliments, produits de santé. Invs, afssa, afssaps, 2003. 193 p.
108. Institut für anatomie, abteilung für cytologie, medizinische fakultät, ruhr-universität bochum, universitätstrase, 150, 44780 bochum, germany.
109. Jacob S, Henriksen EJ, Schiemann AL, et al. Enhancement of glucose disposal in patients with type 2 diabetes by alpha-lipoic acid. *Arzneimittelforschung.* 1995;45(8):872- 874. (PubMed)
110. Jacob S, Rett K, Henriksen EJ, Haring HU. Thioctic acid--effects on insulin sensitivity and glucose-metabolism. *Biofactors.* 1999;10(2-3):169-174. (PubMed)
111. Jansson e.t.,« aluminum exposure and alzheimer's disease. » *j.alzheimers dis.* 2001 ; 3 (6) : 541- 549.
112. Jederlinic p.j. , abraham j.l ,churg a. , himmelstein j.s.,epler g.r., Gaensler e.a., « pulmonary fibrosis in aluminum oxide workers, with pathologic examination and microanalysis in three of them. » *am.rev.respir.dis.* 1990 nov ; 142 (5) : 1179-1184.
113. Jones W, Li X, Qu ZC, Perriott L, Whitesell RR, May JM. Uptake, recycling, and antioxidant actions of alpha-lipoic acid in endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2002;33(1):83-93.
114. Kaiser, M.L., Desch, M.D. and Connerney, J.E.P. (1984). Saturn's ionosphere: Inferred electron densities. *Journal of Geophysical Research* 89:: 0148-0227
115. Kaki S.S., Grey C., Adlercreutz P., Bioorganic synthesis, Characterization and antioxidant activity of esters of natural phenolics and lipoic acid, *Journal of Biotechnology* 95: 32-43 (1988)
116. Kametani F. et al. Identification of casein kinase-1 phosphorylation sites on TDP 43. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 382, 405–409, 10.1016/j.bbrc.2009.03.038 (2009). [PubMed]
117. Karl-Heinz Diehl¹ , Robin Hull² , David Morton³ , Rudolf Pfister⁴ , David Smith^{6,*}, Jean-Marc Vidal⁷ and Cor van de Vorstenbosch. A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes *J. Appl. Toxicol.* 21, 15–23 (2001)
118. Khalili M, Azimi A, Izadi V, et al. Does lipoic acid consumption affect the cytokine profile in multiple sclerosis patients: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Neuroimmunomodulation.* 2014;21(6):291-296. (PubMed)
119. Khalili M, Eghtesadi S, Mirshafiey A, et al. Effect of lipoic acid consumption on oxidative stress among multiple sclerosis patients: a randomized controlled clinical trial. *Nutr Neurosci.* 2014;17(1):16-20. (PubMed)

120. Khalili M, Soltani M, Moghadam SA, Dehghan P, Azimi A, Abbaszadeh O. Effect of alpha-lipoic acid on asymmetric dimethylarginine and disability in multiple sclerosis patients: A randomized clinical trial. *Electron Physician*. 2017;9(7):4899- 4905
121. Kilic F, Handelman GJ, Traber K, et al. Modelling cortical cataractogenesis XX. In vitro effect of alpha-lipoic acid on glutathione concentrations in lens in model diabetic cataractogenesis. *Biochem Mol Biol Int*. 1998;46(3):585–595.
122. Kim H.S., Kim H.J., Park K.G., Kim Y.N., Kwon T.K., Park J.Y., Lee K.U., Kim J.G., I.K. Lee, Alpha-lipoic acid inhibits matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting NF-kappaB transcriptional activity, *Exp. Mol. Med*. 39 (2007) 106–113.
123. Kirschbaum b.b. , schoolwerth a.c. ,acute aluminium toxicity associated with oral citrate and aluminum-containing antacids. »*am.j.med.sci*. 1989 jan ; 297 (1) : 9- 11.
124. Koch k.r., pougnet m.a., de villiers s. , monteagudo f. ,« increased urinary excretion of al after drinking tea. » *nature* 1988 may 12 ; 333 (6169) : 122.
125. Kohlschutter A., Meinertz T., Beneficial effects of alpha-lipoic acid and ascorbic acid on endothelium-dependent, nitric oxide-mediated vasodilation in diabetic patients:
126. Konagaya m. , kato t. , sakai m. , kuru s. , matsuoaka y. , konagaya y. , Hashizume y. , tabira t. ,« a clinical and pathological study of a japanese case of amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex with family history. »*J.neurol*. 2003 feb ; 250 (2) : 164-170.
127. Konrad D. Utilization of the insulin-signaling network in the metabolic actions of alpha-lipoic acid-reduction or oxidation? *AntioxidRedoxSignal*. 2005;7(7-8):1032-10
128. Koufaki M., Detsi A., Theodorou E., Kiziridi C., Calogeropoulou T., Vassilopoulos, A. Kourounakis A.k., Rekka E., D. Panos, N. Kourounakis, D. Catherine, G. kib, P. Papazafirib, Synthesis of chroman analogues of lipoic acid and evaluation of their activity against reperfusion arrhythmias, *Bioorganic& Medicinal Chemistry* 12 (2004).
129. Kozlov AV, Gille L, Staniek K, et al. Dihydrolipoic acid maintains ,ubiquinone in the antioxidant active form by two-electron reduction of ubiquinone and one- electron reduction of ubisemiquinone. *Arch Biochem Biophys*. 1999;363(1):148–154
130. Kozlov AV, Gille L, Staniek K, Nohl H. Dihydrolipoic acid maintains ubiquinone in the antioxidant active form by two-electron reduction of ubiquinone and one-electron reduction of ubisemiquinone. *Arch Biochem Biophys*. 1999;363(1):148-154. (PubMed)
131. Kucukgoncu S, Zhou E, Lucas KB, Tek C. Alpha-lipoic acid (ALA) as a supplementation for weight loss: results from a meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev*. 2017;18(5):594-601. (PubMed).
132. kumura h.,« epidemiological and clinical patterns of western pacific amyotrophic lateral sclerosis (als) in guam and sporadic als in rochester, minnesota, u.s.a. And hokkaido, japan :a comparative study. »
133. Kunt T., Forst T., Wilhelm A., Tritschler, H. Pfuetzner A., Harzer O., Engelbach M., A. Zschaebitz, E. Stofft, J. Beyer, Alpha-lipoic acid reduces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and endothelial adhesion of human monocytes after stimulation with advanced glycation end products, *Clin. Sci. (Lond.)* 96 (1999) 75–82.
134. Larghero P., Vene R., Minghelli S., Travaini G., Morini M., Ferrari N., Pfeffer U., Noonan D.M., Albin A., Benelli R., Biological assays and genomic analysis reveal lipoic acid modulation of endothelial cell behavior and gene expression, *Carcinogenesis* 28 (2007) 1008–1020.

135. Le Couteur DG, Cogger VC, Markus AMA, Harvey PJ, Yin ZL, Anselin AD, McLean AJ. 2001. Pseudocapillarization and associated energy limitation in the aged rat liver. *Hepatology* 33: 537–543.
136. Lee E.Y., Lee C.K., Lee K.U., Park J.Y., Cho K.J., Cho Y.S., Lee H.R., S.H., Moon H.B. Moon, B. Yoo, Alpha-lipoic acid suppresses the development of collagen- induced arthritis and protects against bone destruction in mice, *Rheumatol. Int.* 27 (2007) 225–233.
137. Levine s.n. , sonnier g.b. , abreo k. , « effect of diabetes mellitus and aluminium toxicity on myocardial calcium transport. » *Toxicology.* 1990 dec 17 ; 65 (1-2) : 137- 148.
138. Lin YC, Lai YS, Chou TC. The protective effect of alpha-lipoic Acid in lipopolysaccharide-induced acute lung injury is mediated by heme oxygenase-1. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:590363. (PubMed)
139. Linnane AW, Eastwood H. Cellular redox regulation and prooxidant signaling systems: a new perspective on the free radical theory of aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1067:47–55.
140. Lione a., « aluminum intake from non-prescription drugs and sucralfate » *gen.pharmacol.* 1985; 16 (3): 223-228.
141. Lione a., « aluminum toxicology and the aluminum-containing medications. » *pharmacol.ther.* 1985; 29 (2): 155-285.
142. Lione a., allen p.v., smith j.c. « aluminium coffee percolators as a source of dietary aluminium. *Food chem.toxicol.* 1984 apr ; 22 (4) : 265-268.
143. Locher M, Busker E, Borbe HO. Metabolism of alpha-lipoic acid in human volunteers. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1995;351:R52.
144. Lodge JK, Youn HD, Handelman GJ, et al. Natural sources of lipic acid: determination of lipoyllysine released from protease-digested tissues by high performance liquid chromatography incorporating electrochemical detection. *J Appl Nutr.* 1997;49(1 & 2):3-11.
145. Lodge JK, Youn HD, Handelman GJ, et al. Natural sources of lipic acid: determination of lipoyllysine released from protease-digested tissues by high performance liquid chromatography incorporating electrochemical detection. *J Appl Nutr.* 1997;49(1 & 2):3-1
146. Louhelainen M., Merasto S., Finckenberg P., Lapatto R., Cheng Z.J., Mervaala E.M., Lipoic acid supplementation prevents cyclosporine-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats, *J. Hypertens.* 24 (2006) 947– 956.
147. Lu, C., Liu, Y., Yum, S. S., Niu, S., & Endo, S. (2012). A new approach for estimating entrainment rate in cumulus clouds. *Geophysical*
148. Mahdy, K. A. and Farrag, A. R. H.(2009)'Amelioration of aluminum toxicity with black seed supplement on rats', *Toxicological & Environmental Chemistry*,91:3,567 576 (12)
149. Mahieu s.t. , navoni j. , millen n. , del carmen contini m. , Gonzalez m. , elias m., « effects of aluminum on phosphate metabolism in rats : a possible interaction with vitamin d 3 renal production. » *arch.toxicol.* 2004
150. Malekshah AK, Torabizadeh Z, Naghshwar F. Developmental toxicity of aluminum from high doses of AlCl₃ in mice. *J Appl Res* 2005;5:575–9.
151. Malik RA, Tesfaye S, Ziegler D. Medical strategies to reduce amputation in patients with type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2013;30(8):893-900. (PubMed)
152. Marracci G.H., Marquardt W.E., Strehlow A., McKeon G.P., Gross J., Buck D.C., Kozell L.B., Bourdette D.N., Lipoic acid downmodulates CD4 from human T lymphocytes by dissociation of p56(Lck), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344 (2006) 963–971.

153. Marracci GH, Jones RE, McKeon GP, Bourdette DN. Alpha lipoic acid inhibits T cell migration into the spinal cord and suppresses and treats experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 2002;131(1-2):104-114. (PubMed)
154. Marracci GH, McKeon GP, Marquardt WE, Winter RW, Riscoe MK, Bourdette DN. Alpha lipoic acid inhibits human T-cell migration: implications for multiple sclerosis. *J Neurosci Res.* 2004;78(3):362-370. (PubMed)
155. Martin R.B., « aluminium speciation in biology » ciba found symp. 1992;169:5-18.
156. May JM, Qu ZC, Mendiratta S. Protection and recycling of alpha-tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. *Arch Biochem Biophys.* 1998;349(2):281-289. (PubMed)
157. Mayr JA, Feichtinger RG, Tort F, et al. Lipoic acid biosynthesis defects. *J Inherit Metab Dis.* 2014;37:553–563.
158. Mayr JA, Feichtinger RG, Tort F, Ribes A, Sperl W. Lipoic acid biosynthesis defects. *J Inherit Metab Dis.* 2014; 37(4):553-563.
159. Mayr JA, Feichtinger RG, Tort F, Ribes A, Sperl W. Lipoic acid biosynthesis defects. *J Inherit Metab Dis.* 2014; 37(4):553-563. (PubMed).
160. Mayr JA, Zimmermann FA, Fauth C, et al. Lipoic acid synthetase deficiency causes neonatal-onset epilepsy, defective mitochondrial energy metabolism, and glycine elevation. *Am J Hum Genet.* 2011;89(6):792-797. (PubMed)
161. Mc Dermott j.r., smith a.i., wards m.k., parkinson i.s., kerr d.n., « brain-aluminium concentration in dialysis encephalopathy. » *lancet.* 1978; 1 (8070): 901-904.
162. McLain A.L., Cormier P.J., Kinter M., Szweda I.: Glutathionylation of α - ketoglutarate dehydrogenase: the chemical nature and relative susceptibility of the cofactor lipoic acid to modification. *Free Radic Biol Med* 2013
163. McLean, J.E., Bentzen, P., and Quinn, T.P. 2003. Differential reproductive success of sympatric, naturally spawning hatchery and wild steelhead (*Oncorhynchus mykiss*).
164. McMackin C.J., Widlansky M.E., Hamburg N.M., Huang A.L., Weller S., Holbrook M., Gokce N., Hagen T.M., Keaney J., Vita, Effect of combined treatment with alpha-lipoic acid and acetyl-L-carnitine on vascular function and blood pressure in patients with coronary artery disease, *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)* 9 (2007) 249–255.
165. Michel p., commenges d., dartigues j.f., gagnon m. And paquid research group, « study on he relationship between alzheimer’s disease and aluminum in drinkingwater (abstract) *neurobiol. Aging.* 1990 ; 11 : 264.
166. Midaoui, A A.E.. Elimadi, L. Wu, P.S. Haddad, J. de Champlain, Lipoic acid prevents hypertension, hyperglycemia, and the increase in heart mitochondrial superoxide production, *Am. J. Hypertens.* 16 (2003) 173–179.
167. Mohamed Abdel Zaher et al., A preliminary regional geothermal assessment of the Gulf of Suez, Egypt May 2011 *Journal of African Earth Sciences* 60(3):117-132
168. Moini H, Packer L, Saris NE. Antioxidant and prooxidant activities of alpha- lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 182:84–90.
169. Moini H, Packer L, Saris NE. Antioxidant and prooxidant activities of alpha- lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 182:84–90.
170. Molz P, Schroder N. Potential therapeutic effects of lipoic acid on memory deficits related to aging and neurodegeneration. *Front Pharmacol.* 2017;8:849.

171. Monette JS, Gomez LA, Moreau RF, et al. (R)-alpha-Lipoic acid treatment restores ceramide balance in aging rat cardiac mitochondria. *Pharmacol Res.* 2011;63(1):23-29.
172. Montagnani M., Ravichandran L.V., Chen H., Esposito D.L., Quon M.J., Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells, *Mol. Endocrinol.* 16 (2002) 1931–1942.
173. Morikawa T, Yasuno R, Wada H. Do mammalian cells synthesize lipoic acid? Identification of a mouse cDNA encoding a lipoic acid synthase located in mitochondria. *FEBS Lett* 2001;498:16–21
174. Morikawa T, Yasuno R, Wada H. Do mammalian cells synthesize lipoic acid? Identification of a mouse cDNA encoding a lipoic acid synthase located in mitochondria. *FEBS Lett* 2001;498:16–21.
175. Morini M, Roccatagliata L, Dell'Eva R, et al. Alpha-lipoic acid is effective in prevention and treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 2004;148(1-2):146-153. (PubMed)
176. Morini M., L. Roccatagliata, R. Dell'Eva, E. Pedemonte, R. Furlan, S. Minghelli, D. Giunti, U. Pfeffer, M. Marchese, D. Noonan, G. Mancardi, A. Albin, A. Uccelli, Alpha- lipoic acid is effective in prevention and treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis, *J. Neuroimmunol.* 148 (2004) 146–153.
177. Morris c.m. , candy j.m. , oakley a.e. , taylor g.a. , mountfort s. ,bishop h. , ward m.k. , bloxham c.a. , edwardson j.a. , « comparison of the regional distribution of transferrin receptors and aluminium in the forebrain of chronic renal dialysis patients »*j.neurol.sci.* 1989 dec; 94 (1-3): 295-306.
178. Moura FA, De Andrade KQ, Dos Santos JC, et al. Lipoic acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications. *Curr Top Med Chem.* 2015;15(5):458–483.
179. Moura FA, de Andrade KQ, dos Santos JC, Goulart MO. Lipoic acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications. *Curr Top Med Chem.* 2015;15(5):458-483. (PubMed)
180. Namazi N, Larijani B, Azadbakht L. Alpha-lipoic acid supplement in obesity treatment: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Clin Nutr.* 2018;37(2):419-428.(PubMed)
181. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care.* 2007;30(3):753-759.
182. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Diabetic Eye Disease. Available at: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/preventing-problems/diabetic-eye-disease>. Accessed 9/24/18.
183. Neves, G., Zucker, J., Daly, M., Chess, A. (2004). Stochastic yet biased expression of multiple Dscam splice variants by individual cells. *Nat. Genet.* 36(3): 240–246.
184. Nguyen N, Takemoto JK. A case for alpha-lipoic acid as an alternative treatment for diabetic polyneuropathy. *J Pharm Pharm Sci.* 2018;21(1s):177s-191s.
185. Obrosova IG. Diabetes and the peripheral nerve. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1792(10):931-940. (PubMed)
186. Oehha (office of environmental health hazard assessment). California environmental protection agency. Public health goal for aluminium in drinking water. April 2001 p.68

187. Ondreicka r, ginter e et kortus j - chronic toxicity of aluminum in rats and mice and its effects on phosphorus metabolism. *Brj ind med.* 1966 ; 23(4) : 305-31.
188. Organisation mondiale de la santé (OMS) « guidelines for drinking-water quality, 2nd edition, addendum to volume 1-recommendations, »who. , Geneva, 1998
189. Ott s.m. « aluminum accumulation in individuals with normal renal function »*am.j.kidney dis.* 1985 Nov. ; 6 (5): 297-301.
190. Ou P, Tritschler HJ, Wolff SP. Thiocctic (lipoic acid): a therapeutical metal- chelating antioxidant? *Biochem Pharmacol* 1995; 50:123–6.
191. Ou P, Tritschler HJ, Wolff SP. Thiocctic (lipoic acid): a therapeutical metal- chelating antioxidant? *Biochem Pharmacol* 1995; 50:123–6.
192. Ou P, Tritschler HJ, Wolff SP. Thiocctic (lipoic) acid: a therapeutic metal- chelating antioxidant? *Biochem Pharmacol.* 1995;50(1):123-126. (PubMed)
193. Ozkaya A, Celik S, Yuce A, Sahin Z, Yilmaz O. The effects of ellagic acid on some biochemical parameters in the liver of rats against oxidative stress induced by aluminum. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010;16:263–8.
194. Packer L, Cadenas E. Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling. *J Clin Biochem Nutr.* 2011;48(1):26-32. (PubMed)
195. Packer L, Cadenas E. Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling. *J Clin Biochem Nutr.* 2011;48(1):26–32.
196. Packer L., Kraemer K., Rimbach G. (2001),"Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications." *Nutrition* 17(10): 888-895.
197. Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J., alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant, *Free Radic. Biol. Med.* 19 (1995) 227–250.
198. Packer, L., Witt, E. H. & Tritschler, H. (1995) Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biol. Med.* 19: 227–250.
199. Packer, L., Witt, E. H. & Tritschler, H. (1995) Alpha-lipoic acid biological antioxidant. *Free Radical Biol. Med.* 19: 227–250.
200. Panigrahi M., Sadguna Y., Shivakumar B.R., Kolluri S.V., Roy S., Packer L.
201. Patel MS, Roche TE, Harris RA. Alpha-keto acid dehydrogenase complexes. In: Azzi A, Packer L, editors. *Molecular and cell biology updates.* Berlin: Birkhauser Verlag; 1996.
202. Patrick L. Mercury toxicity and antioxidants: Part 1: role of glutathione and alpha- lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. *Altern Med Rev.* 2002;7(6):456- 471.
203. Pendlebury w.w., beal m.f., kowall n.w. And solomon p.r. ,« results of immunocytochemical, neurochemical, and behavioral studies in aluminum-induced neurofilamentous degeneration»*j.neural.transm. Suppl.* 1987 ; 24 : 213- 217.
204. Pennington j.a., schoen s.a.,« estimates of dietary exposure to aluminium ».*food addit.contam.* 1995 jan-feb; 12 (1): 119-128.
205. Pennington j.a.,« aluminium content of foods and diets. »*food addit.contam.* 1988 apr-jun ; 5 (2) : 161-232
206. Perl d.p. , gajdusek d.c. , garruto r.m. , yanagihara r.t. , gibbs c.j.jr. , « intraneuronal aluminum accumulation in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia of guam. »*science.* 1982 sep. 10 ; 217 (4564) : 1053-1055.
207. Perl d.p. , good p.f. « uptake of aluminium into central nervous system along nasal-olfactory pathways. » *lancet.* 1987 may 2 ; 1 (8540) : 1028.

208. Perl D.P., « relationship of aluminum to alzheimer's disease. » *environ.health perspect.* 1985 nov ; 63 : 149-153.
209. Perl d.p., brody a.r., « alzheimer's disease : x-ray spectrometric evidence of aluminum accumulation in neurofibrillary tangle-bearing neurons. » *science* 1980 apr 18 ; 208 (4441) : 297-299.
210. Petersen Shay K., Moreau R.F., Smith E.J., Hagen T.M., Is alpha-lipoic acid a scavenger of reactive oxygen species in vivo? Evidence for its initiation of stress signaling pathways that promote endogenous antioxidant capacity, *IUBMB Life* 60 (2008) 362–367.
211. Phelps k.r., naylor k., brien t.p , wilbur h. , haqqie s.s. ,« encephalopathy after bladder irrigation with alum : case report and literature review. » *am.j.med.sci.* 1999 se ; 318 (3) : 181-185.
212. Piccardo p., yanagihara r.t., garruto r.m., gibbs c.j.jr., gajdusek d.c., « histochemical and x-ray microanalytical localization of aluminum in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism- dementia of guam. » *Acta neuropathol. (berl).* 1988 ; 77 (1)
213. Pick U, Haramaki N, Constantinescu A, Handelman GJ, Tritschler HJ, Packer L. Glutathione reductase and lipoamide dehydrogenase have opposite stereospecificities for alphas-lipoic acid enantiomers. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;206:724–30
214. Pick U, Haramaki N, Constantinescu A, Handelman GJ, Tritschler HJ, Packer L. Glutathione reductase and lipoamide dehydrogenase have opposite stereospecificities for alphas-lipoic acid enantiomers. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;206:724–30.
215. Pilar Valdecantos M, Prieto-Hontoria PL, Pardo V, et al. Essential role of Nrf2 in the protective effect of lipoic acid against lipoapoptosis in hepatocytes. *Free Radic Biol Med.* 2015;84:263-278. (PubMed)
216. Plato c.c. , garruto r.m. , fox k.m. , gajdusek d.c. ,« amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia on guam : a 25-year prospective case-control study. » *Am.j.epidemiol.* 1986 ; 124 (4) : 643-656.
217. Plato c.c. , garruto r.m. , galasko d. , craig u.k. , plato m. ,gamst a. , torres j.m. , wiederholt w.,« amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of guam : changing incidence rates during the past 60 years. » *am.j.epidemiol.* 2003 jan 15; 157 (2) : 149-157.
218. Priest n.d., talbot r.j. , austin j.g. , day j.p. , king s.j. , fifield k. , Cresswell r.g. ,« the bioavailability of 26al-labelled aluminium citrate and aluminium hydroxydein volunteers. » *biometals* 1996 jul ; 9 (3) : 221-22.
219. Priest nd, talbot rj, newton d, day jp, king sj, fifield lk. Uptake by man of aluminium in a public water supply. *Hum exp toxicol* 1998;17:296–301.
220. Priest ND, Talbot RJ, Newton D, Day JP, King SJ, Fifield LK. Uptake by man of aluminium in a public water supply. *Hum Exp Toxicol* 1998;17:296–301.
221. Pullen, r.g.l., candy, j.m., morris, c.m., taylor, g., keith, a.b. Et edwardson, j.a. Gallium-67 as a potential marker for aluminium transport in rat brain: implications for alzheimer's disease. *J. Neurochem.*, 55: 251-259 (1990)
222. Ravindranath V., alpha-Lipoic acid protects against reperfusion injury following cerebral ischemia in rats, *Brain Res.* 717 (1996) 184–188.
223. Reed d.m., brody j.a.,« amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia on guam, 1945-1972.i. Descriptive epidemiology. » *am.j.epidemiol.* 1975 apr ; 101 (4) : 287-301.

224. Reiber s., kukull w., standish-lee p., « drinking water aluminum and bioavailability. » *j.am.water works assoc.* 1995 ; 88 : 86-99.
225. relation to parameters of oxidative stress, *Free Radic. Biol. Med.* 31 (2001) 53
226. Rifat s.l. , eastwood m.r. , mc lachlan d.r. , corey p.n.,« effect of exposure of miners to aluminium powder. »*lancet.* 1990 nov.10 ; 336 (8724) : 1162-1165.
227. Rob p.m., niederstadt c., reusche e.,« dementia in patients undergoing long-term dialysis : aetiology, differential diagnoses, epidemiology and management. » *cns drugs* 2001 ; 15 (9) : 691-699.
228. Roberts AC, Porter KE. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *Diab Vasc Dis Res.* 2013;10(6):472-482. (PubMed)
229. Rooney JP. The role of thiols, dithiols, nutritional factors and interacting ligands in the toxicology of mercury. *Toxicology.* 2007;234(3):145-156. (PubMed)
230. Salinthon S, Schillace RV, Marracci GH, Bourdette DN, Carr DW. Lipoic acid stimulates cAMP production via the EP2 and EP4 prostanoid receptors and inhibits IFN gamma synthesis and cellular cytotoxicity in NK cells. *J Neuroimmunol.* 2008;199(1-2):46-55. (PubMed) Page 155
231. Sante canada, sous-comité provincial sur l'eau potable, « l'aluminium dans l'eau potable »document pour consultation publique. Décembre 1996.
232. Schillace R.V., Pisenti N., Pattamanuch N., Galligan S., Marracci G.H., Bourdette Carr D.N., D.W., Lipoic acid stimulates cAMP production in T lymphocytes and NK cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 354 (2007) 259–264.
233. Schillace RV, Pisenti N, Pattamanuch N, et al. Lipoic acid stimulates cAMP production in T lymphocytes and NK cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;354(1):259-264. (PubMed)
234. Schmidt m.l. , zhukavera v. , perl d.p. , sheridan s.k. , schuck t. , Lee v.m. , trojanowski j.q. ,« spinal cord neurofibrillary pathology in alzheimer disease and guam parkinsonism-Dementia complex. » *j.neuropathol.exp.neurol.* 2001 nov ; 60 (11) : 1075-1086.
235. Schreibelt G, Musters RJ, Reijerkerk A, et al. Lipoic acid affects cellular migration into the central nervous system and stabilizes blood-brain barrier integrity. *J Immunol.* 2006; 177(4):2630-2637. (PubMed)
236. Segal AW. The function of the NADPH oxidase of phagocytes and its relationship to other NOXs in plants, invertebrates, and mammals. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(4):604-618. (PubMed)
237. Sena C.M., Nunes E., Louro T., Proenca T., Fernandes R., Boarder M.R., Seica R.M., Effects of alpha-lipoic acid on endothelial function in aged diabetic and high-fat fed rats, *Br. J. Pharmacol.* 153 (5) (2007) 894–906.
238. Sena CM, Cipriano MA, Botelho MF, Seica RM. Lipoic acid prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis in Goto Kakizaki rats by reducing oxidative stress through Nrf2 activation. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9). (PubMed)
239. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(10):1149–1160.
240. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, Smith AR, Hagen TM. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(10):1149-1160. (PubMed)

241. Shinto L, Quinn J, Montine T, et al. A randomized placebo-controlled pilot trial of omega-3 fatty acids and alpha lipoic acid in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2014;38(1):111-120. (PubMed)
242. Shoskes d.a., radzinski c.a., struthers n.w., honey r.j. « aluminum toxicity and death following intravesical alum irrigation in a patient with renal impairment. » *j.urol.* 1992 mar ; 147 (3) : 697-699.
243. Shu w.s., zhang z.q., lan c.y., wong m.h. ,« fluoride and aluminium concentrations of tea plants and tea products from sichuan province, pr china. » *chemosphere* 2003 sep ;52 (9) : 1475-1482.
244. Siergrist c.-a. « les adjuvants vaccinaux et la myofasciite à macrophages ». *Arch. Pédiatrie.* 2005. Vol. 12, n°1, p. 96f101.
245. Sinczuk-walczak h. , szymczak m. , razniewska g. , matczak w. , szymczak w. , « effects of occupational exposure to aluminum on nervous system : clinical and electroencephalographic findings. » *int.j.occup.med.envIRON.health.* 2003 ; 16 (4) : 301-310.
246. Singh g.p., « mortality in acute aluminium phosphide poisoning having hypomagnesaemia with and without ecg changes. » *j.indian med.assoc.* 2000 aug ; 98 (8) : 446
247. Siwach s.b., singh h. , jagdish, katyal v.k. , bhardwaj g. ,« cardiac arrhythmias in aluminium phosphide poisoning studied by on continuous holter and cardioscopic monitoring. *J.assoc.physicians india* 1998 jul ; 46 (7) : 598-601.
248. Slanina p., falkeborn y., frech w. , cedergren a. ,aluminium concentrations in the brain and bone of rats fed citric acid, aluminium citrate or aluminium hydroxyde. » *food chem.toxicol.* 1984 may ; 22 (5) : 391-397.
249. Slanina p., frech w. , ekstrom l.g. , loof l. , slorach s. , cedergren a. , « dietary citric acid enhances absorption of aluminum in antacids. » *clin.chem.* 1986 mar ; 32 (3) : 539-541.
250. Smith A.R., Hagen T.M., Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R)-alpha-lipoic acid, *Biochem. Soc. Trans.* 31 (2003) 1447–1449.
251. Smith AR, Hagen TM. Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt- dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R)- alpha-lipoic acid. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(Pt 6):1447-1449. (PubMed)
252. Smith d.r., chang b.s., johnson c.e.,« aluminum hydroxyde : evaluation of two dosage forms and two dosing schedules in reducing intestinal phosphate absorption. » *am.j.hosp.pharm.* 1978 jan; 35 (1): 58-61.
253. Sola S, Mir MQ, Cheema FA, et al. Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: sults of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study. *Circulation.* 2005;111(3):343-348. (PubMed)
254. Sola S., Mir M.Q., Cheema F.A., Khan-Merchant, N. Menon R.G., Parthasarathy S., Khan B.V., Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: results of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study, *Circulation* 111 (2005) 343–348.
255. Sola S., Mir M.Q., Cheema F.A., Khan-Merchant, N. Menon R.G., S. Parthasarathy, B.V. Khan, Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: results of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study, *Circulation* 111(2005) 343–348.

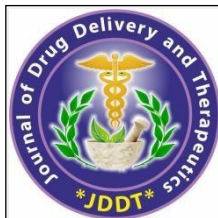
256. Sola S., Mir M.Q., Cheema F.A., Khan-Merchant, Menon N. R.G., Parthasarathy S., Khan B.V., Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: results of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study, *Circulation* 111 (2005) 343–348
257. Spector A, Huang -R-RC, Yah G-Z, et al. Thioredoxin fragment 31-36 is reduced by dihydrolipoamide and reduces oxidized protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988;150(1):156–162.
258. Spencer h. , kramer l. , norris c. , osis d. , « effect of small doses of aluminum- containing antacids on calcium and phosphorus metabolism. » *am.j.clin.nutr.* 1982 jul ; 36 (1) 32-40.
259. Spencer h. , kramer l. , norris c. , wiatrowski e. ,« effect of aluminium hydroxyde on fluoride metabolism. » *clin.pharmacol.ther.* 1980 oct ; 28 (4) : 529-535.
260. Stacchiotti A., Lavazza A., Rezzani R., Rodella L. and Bianchi R.(2004). Mercuric chloride-induced alterations in stress protein distribution in rat kidney. *Histol. Histopathol.* 19, 1209-1218.
261. state in Ehrlich-ascites-carcinoma-bearing mice. *Scientific World Journal* 2012,
262. Stauber jl, davies cm, adams ms, buchanan sj. Bioavailability of aluminium in aluminium-treated drinking water and food. *Research report* 1998;203
263. Streeper RS, Henriksen EJ, Jacob S, et al. Differential effects of lipoic acid stereoisomers on glucose metabolism in insulin-resistant skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1997; 273(1 Pt 1):E185–E191.
264. Suarez-fernandez m.b. , soldado a.b., sanz-medel a., vega j.a. , novelli a. , fernandez-sanchez m.t. « aluminum-induced degeneration of astrocytes occurs via apoptosis and results in neuronal death. » *brain res.* 1999 jul 24 ; 835 (2) : 125-136
265. Suh JH, Moreau R, Heath SH, Hagen TM. Dietary supplementation with (R)- alpha-lipoic acid reverses the age-related accumulation of iron and depletion of antioxidants in the rat cerebral cortex. *Redox Rep.* 2005;10(1):52-60. (PubMed)
266. Suh JH, Shenvi SV, Dixon BM, et al. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(10):3381-3386. (PubMed)
267. Suh JH, Shenvi SV, Dixon BM. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101 (10):3381–3386
268. Suh JH, Wang H, Liu RM, Liu J, Hagen TM. (R)-alpha-lipoic acid reverses the age-related loss in GSH redox status in post-mitotic tissues: evidence for increased cysteine requirement for GSH synthesis. *Arch Biochem Biophys.* 2004;423(1):126-135.
269. Suh JH, Zhu BZ, deSzoeko E, Frei B, Hagen TM. Dihydrolipoic acid lowers the redox activity of transition metal ions but does not remove them from the active site of enzymes. *Redox Rep.* 2004;9(1):57-61. (PubMed)
270. Takaoka M, Kobayashi Y., Yuba, M. M. Ohkita, Y. Matsumura, Effects of alpha-lipoic acid on deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 424 (2001) 121–129.
271. Teichert J, Hermann R, Ruus P, et al. Plasma kinetics, metabolism, and urinary excretion of alpha-lipoic acid following oral administration in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2003;43(11):1257–1267.

272. Teichert J, Preiss R. HPLC-methods for determination of lipoic acid and its reduced form in human plasma. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1992;30(11):511– 512.
273. Teichert J, Tuemmers T, Achenbach H, et al. Pharmacokinetics of alpha-lipoic acid in subjects with severe kidney damage and endstage renal disease. *J Clin Pharmacol.* 2005;45(3):313–328
274. Teichert J., Hermann R., Ruus P. and Preiss R., *J. Clin. Pharmacol.*, 43, 1257 (2003).
275. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med.* 1993;329(14):977-986. (PubMed)
276. Theiss c., meller k., « aluminum impairs gap junctional intercellular communication between astroglial cells in vitro. » *cell.tissue res.* 2002 nov ; 310 (2) : 143-154.
277. Tjalve h. , henriksson j. ,« uptake of metals in the brain via olfactory pathways. » *Neurotoxicology.* 1999 apr-jun. ; 20 (2-3) : 181-195.
278. Toninello a. , clari g. , mancon m. , tognon g. , zatta p. ,« aluminum as an inducer of the mitochondrial permeability transition. »*j.biol.inorg.chem.* 2000 oct ; 5 (5) : 612- 623.
279. Tort F, Ferrer-Cortes X, Thio M, et al. Mutations in the lipoyltransferase LIPT1 gene cause a fatal disease associated with a specific lipoylation defect of the 2- ketoacid dehydrogenase complexes. *Hum Mol Genet.* 2014;23(7):1907-1915. (PubMed)
280. Tsujioka T. et al., The mechanisms of vitamin K2-induced apoptosis of myeloma and lymphoma cells, *Haematologica*, 2006 May, 91(5):613-9.
281. Türkez H, Yousef MI, Geyikoglu F. Propolis prevents aluminiuminduced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food Chem Toxicol* 2010;48:2741–6.
282. Tzamaloukas a.h., agaba e.i., « neurological manifestations of uraemia and chronic dialysis.»*niger.j.med.* 2004; 13 (2): 98-105.
283. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 1998;352(9131):837- 853. (PubMed)
284. Upston JM, Terentis AC, Stocker R. Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement. *Faseb J.* 1999;13(9):977-994. (PubMed)
285. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005;12(10):1161-1208. (PubMed)
286. Van der voet g.b. , de wolff f.a. ,« intestinal absorption of aluminum : effect of sodium and calcium. » *arch.toxicol.* 1998; 72 (2): 110-114.
287. Vasdev S., Gill V., Longerich L., Parai S., Gadag V., Salt-induced hypertension in WKY rats: prevention by alpha-lipoic acid supplementation, *Mol. Cell. Biochem.* 254 (2003) 319–326.
288. Venturini-soriano m. , berthou g. ,« aluminum speciation studies in biological fluids. Part 7. A quantitative investigation of aluminum (iii)-malate complex equilibria and their potential implications for aluminium metabolism and toxicity. » *j.inorg.biochem.* 2001 jun ; 85 (2-3) : 143-154.
289. Verstraeten SV, Aimo L, Oteiza PI. Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. *Arch Toxicol* 2008; 82:789–802.

290. Voisin c. , fisekci f. , buchez b. , didier a. , couste b. , bastien f. Brochard p. , pairon j.c.,« mineralogic analysis of the respiratory tract in aluminium oxide-exposed workers »eur.respir.j. 1996 sep ; 9 (9) : 1874-1879.
291. Vollmer, M. K., and R. F. Weiss, Simultaneous determination of sulfur hexafluoride and three chlorofluorocarbons in water and air, *Mar. Chem.*, in press, 2002
292. Wada H, Shintani D, Ohlrogge J. Why do mitochondria synthesize fatty acids? Evidence for involvement in lipoic acid production. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(4):1591–1596.
293. Wang j.,(«current researches on biological effect of aluminum. ») (Chinese) weisheng yan jiu 2002 aug; 31 (4): 320-322.
294. Wang Y, Li X, Guo Y, Chan L, Guan X. alpha-Lipoic acid increases energy expenditure by enhancing adenosine monophosphate-activated protein kinase- peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha signaling in the skeletal muscle of aged mice. *Metabolism.* 2010;59(7):967-976. (PubMed)
295. Ward MK, Feest TG, Ellis HA. Osteomalacic dialysis osteodystrophy: evidence for a water-borne aetiological agent, probably aluminium. *Lancet* 1978;1:8415.
296. Warner, M. J., and R. F. Weiss, Solubilities of chlorofluorocarbons 11 and 12 in water and seawater, *Deep-Sea Res.*, 32, 1485– 1497, 1985.
297. Wiegmann t.b. , day h.d. , patak r.v. , « intestinal absorption and secretion of radioactive vanadium (48vo3-) in rats and effect of al(oh)3. »j.toxicol.enviro.health. 1982 augu. ; 10 (2): 233-245.
298. Wilking, M. Ndiaye, H. Mukhtar, N. Ahmad, Circadian rythms connections to oxidative stress: implications for human health. *Antioxid Redox Signal*2013, 19:192–208.
299. Winterberg b ., bertram h., rolf n., roedig m., kisters k., remmers s., Spieker c., zumkley h.,« differences in plasma and tissue aluminum concentrations due to different aluminum-containing drugs in patients with renal insufficiency and with normal renal function. »j.trace elem.electrolytes health dis. 1987 dec ; 1 (2) 69- 72.
300. Wolz P, Krieglstein J. Neuroprotective effects of alpha-lipoic acid and its enantiomers demonstrated in rodent models of focal cerebral ischemia. *Neuropharmacology.* 1996;35(3):369–375.
301. Wong m.h., fung k.f., carr h.p.,« aluminium and fluoride contents of tea, with emphasis on brick tea and their health implications. »toxicol.lett. 2003 jan 31 ; 137 (1- 2) : 111-120.
302. Xiang G, Pu J, Yue L, Hou J, Sun H. alpha-lipoic acid can improve endothelial dysfunction in subjects with impaired fasting glucose. *Metabolism.* 2011;60(4):480- 485. (PubMed)
303. Xiang GD, Sun HL, Zhao LS, Hou J, Yue L, Xu L. The antioxidant alpha- lipoic acid improves endothelial dysfunction induced by acute hyperglycaemia during OGTT in impaired glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;68(5):716-723.
304. Yadav V, Marracci G, Lovera J, et al. Lipoic acid in multiple sclerosis: a pilot study. *Mult Scler.* 2005;11(2):159-165. (PubMed)
305. Yadav V, Marracci GH, Munar MY, et al. Pharmacokinetic study of lipoic acid in multiple sclerosis: comparing mice and human pharmacokinetic parameters. *Mult Scler.* 2010;16(4):387-397. (PubMed)
306. Yamamoto H, Watanabe T, Mizuno H, et al. The antioxidant effect of DL- alpha- lipoic acid on copper-induced acute hepatitis in Long-Evans Cinnamon (LEC) rats. 2001;34(1):69- 80.

307. Yanagihara r.t., garruto r.m., gajdusek d.c., « epidemiological surveillance of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia in the commonwealth of the northern mariana islands. » *ann.neurol.* 1983; 13 (1) : 79-86.
308. Yase y., (amyotrophic lateral sclerosis-causative role of trace elements.) (japanese) *Nippon rinsho* 1996 jan 54 (1) 123-128.
309. Yasui m. , ota k. , « aluminum decreases the magnesium concentration of spinal cord and trabecular bone In rats fed a low calcium, high aluminum diet. » *j.neurol.sci.* 1998 apr 15 ; 157 (1) : 37-41.
310. Yasui m. , yase y. , ota k. , garruto r.m. , « aluminum deposition in the central nervous system of patients with amyotrophic lateral sclerosis from the kii peninsula of japan » *neurotoxicology* 1991 fall ; 12 (3) 615-620.
311. Yasui m., yase y. , ota k. , garruto r.m. , « evaluation of magnesium, calcium and aluminum metabolism in rats and monkeys maintained on calcium-deficient diets. » *neurotoxicology.* 1991 fall ; 12 (3) 603-614.
312. Yaworsky K, Somwar R, Ramlal T, Tritschler HJ, Klip A. Engagement of the insulin-sensitive pathway in the stimulation of glucose transport by alpha-lipoic acid in 3T3- L1 adipocytes. *Diabetologia.* 2000;43(3):294-303. (PubMed)
313. Ying Z, Kampfrath T, Sun Q, Parthasarathy S, Rajagopalan S. Evidence that alpha- lipoic acid inhibits NF-kappaB activation independent of its antioxidant function. *Inflamm Res.* 2011;60(3):219-225. (PubMed)
314. Yokel r.a. , ackrill p., burgess e. , day j.p. , domingo j.l. , flaten t.p. , Savory j. « prevention and treatment of aluminum toxicity including chelation therapy : status and research needs » *j.toxicol.envIRON.health* 1996 aug 30 ; 48 (6) : 667-683.
315. Yokel r.a., « the toxicology of aluminum in the brain : a review. » *neurotoxicology.* 2000 oct; 21 (5) : 813-828.
316. Yokel, r.a. Et mcnamara, p.j. Influence of renal impairment, chemical form and serum protein binding on intravenous and oral aluminium kinetics in the rabbit. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*,
317. Zaffe d., bertoldi c., consolo u., « accumulation of aluminium in lamellar bone after implantation of titanium plates, ti-6al-4v screws, hydroxyapatite granules. » *biomaterials* 2004 aug ; 25 (17) : 3837-3844.
318. Zatta p., giordano r., corain b. , bombi g.g. , « alzheimer dementia and the aluminum hypothesis. » *med.hypotheses* 1988 jun ; 26 (2) : 139-142.
319. Zatta p., lain e., cagnolini c. , « effects of aluminum on activity of krebs cycle enzymes and glutamate dehydrogenase in rat brain homogenate. » *eur.j.biochem.* 2000 may ; 267 (10) : 3049-3055.
320. Zhang J, Zhou X, Wu W, Wang J, Xie H, Wu Z. Regeneration of glutathione by alpha-lipoic acid via Nrf2/ARE signaling pathway alleviates cadmium-induced HepG2 cell toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017;51:30-37. (PubMed)
321. Zhang S-J., Ge Q-F., Guo D-W., Hu W-X., Liu H-Z., Synthesis and anticancer evaluation of lipoic acid derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20 (2010) 3078–3083.
322. Zhang W.J., Frei B., Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells, *FASEB J.* 15 (2001) 2423–2432.

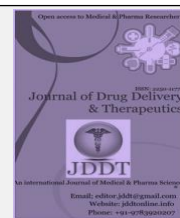
323. Zhang W.J., Wei H., Hagen T., Frei B., Alpha-lipoic acid attenuates LPS- induced inflammatory responses by activating the phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104 (2007) 4077–4082.
324. Zhu yz, liu dw, liu zy et li yf - impact of aluminium exposure on the immune system : a mini review. Environ toxicol pharmacol. 2013 ; 35 : 82-87
325. Ziegler D. Thioctic acid for patients with symptomatic diabetic polyneuropathy: a critical review. Treat Endocrinol. 2004;3(3):173-189. (PubMed)
326. Zunkley, h., bertram, h.p., brandt, m., roedig, m., spieker, s. Et kisters, k. Aluminium concentration in bone and brain tissue in humans taking antacids. Fortschr. Med., 105(suppl. 19): 15-18 (1987)

Available online on 15.06.2020 at <http://jddtonline.info>

Journal of Drug Delivery and Therapeutics

Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

© 2011-18, publisher and licensee JDDT, This is an Open Access article which permits unrestricted non-commercial use, provided the original work is properly cited

Open  Access

Research Article

Histological study of the effects of aluminum chloride exposure on the brain of wistar rats female

Bekhedda Hadjer*, Menadi Norredine, Demmouche Abbassia, Ghani Abdelaziz, Mai Hicham

Biotoxicology laboratory. Department of biology, Faculty of Natural Science and life. University Djilali Liabes Sidi Bel Abbes, Algeria

ABSTRACT

Introduction: Aluminum (Al) has the potential to be neurotoxic in human and animals, is present everywhere in the environment, many manufactured foods and medicines and is also added to drinking water for purification purposes and tooth paste cosmetic products they accumulate in living organisms and disrupt balances, and accumulate in the body biological systems, causing toxic effects (They may affect the nervous system, kidney, liver, respiratory or other functions). Nervous system is a vulnerable target for toxicants due to critical voltages which must be maintained in the cells and the all responses when voltages reach threshold levels.

Objective This study aimed to expose the impact of aluminum chloride (AlCl₃) on brain architecture.

Methods: In our study, twenty healthy female rats were intraperitoneal administered of aluminum chloride (ALCL3) at 10 mg / kg body weight with consecutively for 15 day

Result. The results showed a highly significant reduction in body weight (**p<0.0001**). This is because aluminum has an anorectic effect contrariwise, there is no significant impact of aluminium exposure has been observed with respect to brain weight and relative brain weight respectively (**p<0.912**), (**p<0.45**).

The histological study describes the alterations in the brain marked tissue necrosis and cytoplasmic vacuolations and karyopyknosis of neuronal cells of the brain.

Conclusion; Aluminum is a toxic heavy metal and a ubiquitous environmental pollutant. It can alter the permeability of the blood-brain barrier and enter the brain, severely affecting the functioning of the nervous system.

Keywords: Toxicity, brain, Aluminium chloride, Rats female, necrosis.

Article Info: Received 21 March 2020; Review Completed 28 April 2020; Accepted 11 May 2020; Available online 15 June 2020



Cite this article as:

Bekhedda H, Menadi N, Demmouche A, Ghani A, Mai H, Histological study of the effects of aluminum chloride exposure on the brain of wistar rats female, Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2020; 10(3-s): 37-42
<http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i3-s.4152>

*Address for Correspondence:

Bekhedda Hadjer, Biotoxicology laboratory. Department of biology, Faculty of Natural Science and life. University Djilali Liabes Sidi Bel Abbes, Algeria

Abbreviation:

AlCl₃: aluminum chloride

cm: centimeter

D: day

IP: interperitoneal injection

H: hour

g: gram

Kg: kilogram

mg: milligram

al³⁺:cation of aluminium

(H&E):Haematoxylin and eosin

INTRODUCTION

The human brain is the control centre of the human nervous system. It receives signals from the body's sensory organs and transmits information to the muscles. It has the same basic structure as other mammalian brains, consisting of more than 100 billion nerves that communicate through trillions of connections called synapses

Aluminum is a trivalent cation found in its ionic form in most types of animal and plant tissue and in natural waters everywhere ¹.

The transport of essential and non-essential metal ions across membrane barriers, such as the blood-brain barrier, is mediated by specific transport mechanisms due to their size, although receptor-mediated uptake is a possible mechanism that regulates brain levels of different metals ².

The blood-brain barrier is normally only permeable to small molecules, or to larger molecules, such as proteins, by active transport mechanisms. Because of this low permeability, it is important to understand the mechanisms by which aluminum crosses the barrier.

Aluminum chloride has been implicated for its adverse effects on behavioural parameters in Wistar rats (for its effects on behaviour), for its adverse effects on anxiety-related behaviour in Wistar rats by increasing anxiety levels in aluminum-treated rats, and for its neurodegenerative effects on the histology of the cerebral cortex in adult Wistar rats, particularly at high doses ^{3,4,5} as the brain is a preferred site of aluminum accumulation in grey and white matter, primarily in certain cortical regions and on the hippocampus ^{6,7,8}.

Aluminium is one of the trace elements with a moderate toxic effect on living organism ⁹.

Chronic exposition to this trace element can cause alterations in skeletal, nervous, hematopoietic and respiratory systems ^{10,11,12,13}.

The effect depends on the dose, the Al compound used and the particular animal model. It can show a discrepancy from death to behavioural change (memory loss), loss of weight or slight changes in Al buildup in bone ^{14, 15}.

This study was aimed at evaluating the histological effects that Aluminium Chloride Exposure could have on the brain determined and to determine the possible effects on the body weight /relative brain weight of Wistar Rats female.

MATERIALS AND METHODS:

The ground-breaking studies on Aluminium neurotoxicity in experimental animals were initially described in 1886 by Siem and Dollken ¹⁶. This experiment was conducted in the Department of biology Faculty of Natural Science and life University Djillali Liabes Sidi Bel Abbes Algeria. The rules and regulations governing animal handling were observed.

Experimental Animals:

Twenty adult Wistar rats were used for this experiment. The Wistar rats were housed in steel cages in the animal house of Department of biology, they were given sufficient food, water and kept under good ventilation. The Wistar rats were kept for two weeks before commencement of aluminum chloride administration. This was to enable the Wistar rats acclimatized to the environment.

Experimental Design:

The study comprised 20 female Wistar rats divided into two groups of ten for this experiment.

The Wistar rats were housed in a stainless steel cages maintained at standard environmental conditions (12h-12h light-dark cycle with light on at AM) with sufficient food, water and under good ventilation

All the rats were acclimatized for 2 week before the test, and randomly divided into four equal groups:

The wistar rats were divided into two groups.:

Control group I: was given NaCl 0.9 .

Group II: received 10mg/Kg body weight ALCL3 for five teen days (15D)

Aluminum chloride administered to female rats via injection intraperitoneale.

Statistical analysis

The Weights of the Wistar rats were taken before the commencement of administration and later re-weighted after expiration of two weeks of the experiment with the aid of weighing balance. The weights were recorded before and after administration; and they were tested statistically. All of the data are expressed as the means \pm standard deviation (SD) from at least three independent experiments with different batches of cells. Differences between groups were analysed by one-way analysis of variance (ANOVA) using SPSS 20 software and followed by the post hoc Fisher's Least Significance Difference (LSD) test, with P.

Histopathologique examinations in brain

The Wistar rats were humanely sacrificed by anesthetizing them in a suffocating chamber using chloroform, after the end of the experiment, animals were sacrificed by decapitation and brain were immediately removed and immediately fixed in 10% formalin. After fixation, the tissues were transferred into an automatic processor where they went through a process of dehydration in ascending grades of alcohol (ethanol) 70%, 80%, 95% and absolute alcohol for 2 changes each.

The tissues were then cleared in xylene and embedded in paraffin wax. Serial sections of 5 micron thick were obtained using a rotary microtome. The tissue sections were deparaffinised hydrated and stained using the routine haematoxylin and eosin staining method (H&E). The stained sections were examined under the light microscope fitted to a digital camera and lap top. The histological sections of the gonads were made in the pathology laboratory of hospital Abdelkader Hassani in Sidi Bel abbes. Algeria

RESULTS

a. Microscopic Examination of Tissues (H&E stain):

The tissue was processed and stained with Haematoxylin and eosin (H&E).

The stained sections of cerebral cortex were examined under the light microscope.

No rats died during the experiment.

- Photomicrographs of rat brain sections stained with haematoxylin and eosin (bar=25 μ m). The normal histological structure of Cerebral Cortex in rats brain with intact neurons and glial cell were seen in control animals.(plate 1)

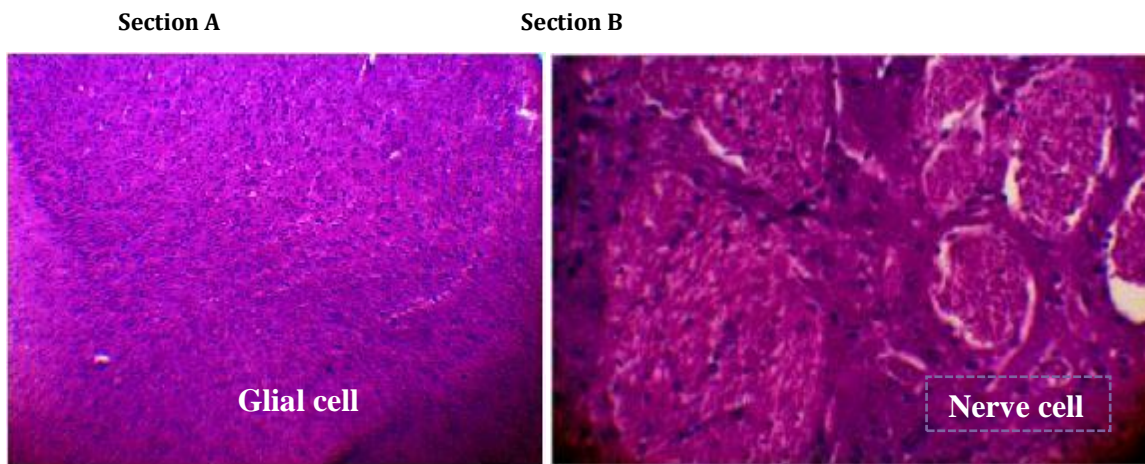


Plate 1: The histological analysis of Cerebral Cortex tissue in rats' brain stained with H&E (control group) Section A (Magnification X 10) / Section B . (Magnification X 40).

Group II treated showed slight sign of degeneration with slight cell distortion karyopyknosis of neuronal cells and vacuolation of the cerebral cortex **plate 02** and the necrosis in the brain parenchyma **plate 03**

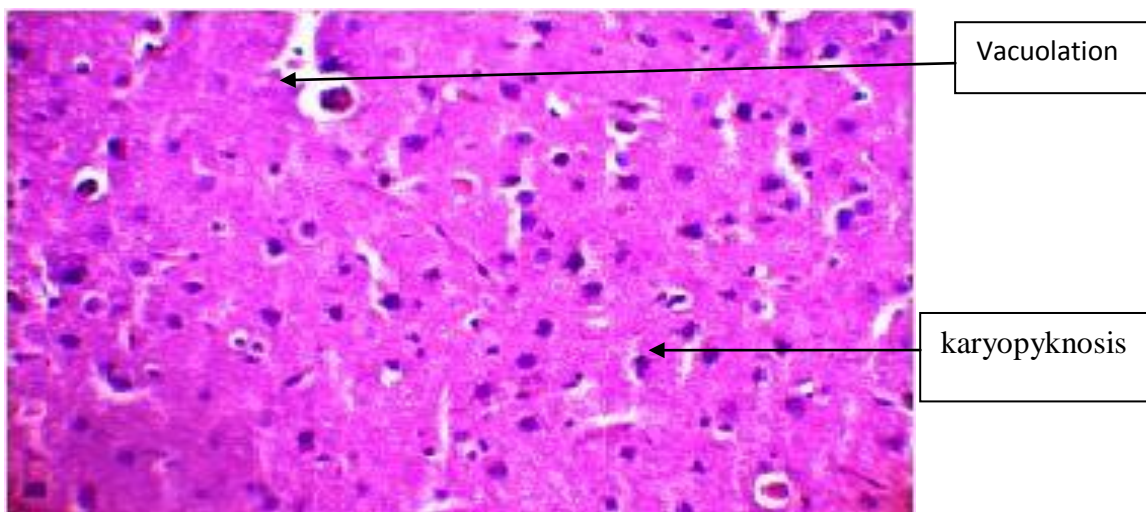


Plate2: The histological analysis indicated slight neuronal vacuolation of the Cerebral Cortex of Wistar rats of experimental animals group II, stained with H&E. (Magnification X 40).

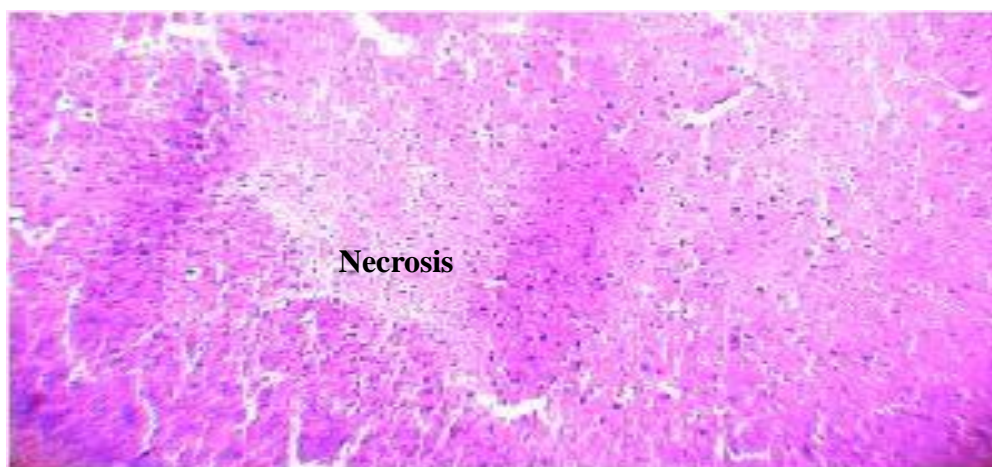


Plate 3: The histological analysis indicated showing necrosis of the Cerebral Cortex in rats' brain of AI-treated rats. Group II stained with H&E. (Magnification X 10).

The histological study showed alterations in the cerebral cortex marked by a Cellular degeneration.

b. Evolution of body weight and relative brain weight

Weight monitoring is performed in aluminum intoxicated rats as well as in controls.

1. Evolution of body weight:

Aluminum chloride administered to female rats (10 mg/kg BW) intraperitoneale at **10 mg/kg** to rats twice a week resulted in a significant reduction in body weight in the intoxicated group compared to control group. (**Table 1**).

Intoxication with aluminum chloride at 10 mg/kg throughout the two weeks of experimentation administered intraperitoneale to different batches of rats resulted in a significant decrease in body weight in group II (prepubescent group) compared to the control group ($p < 0.0001$).

This is due to the fact that aluminum has an anorectic effect and influences the nerve pathways responsible for controlling satiety.

Table 1: shows mean body by the groups of rats during the two weeks experiment.

| Group Statistics | | | | | | |
|------------------|-----------------------|----|--------|---------------|----------------------|---------|
| | rats wistar | N | Mean | Standard type | Mean erreur standard | P* |
| Body Weight | Control group | 10 | 163,27 | 4,818 | 1,244 | <0.0001 |
| | Group II AlCl3 | 10 | 142,40 | 16,526 | 4,267 | |

Results are presented as means \pm SE (n = 10)

S: Significant change at $P < 0.05$, a: Compared to control untreated

2. Evolution brain weight

No significant reduction was observed in the relative brain weight of the brain of the intoxicated group compared to the control group in the primary analysis. (**Table 2**).

In the present study, aluminum chloride intoxication at 10 mg/kg administered by injection to the peritoneum of rats resulted in a significant decrease in body weight of pups exposed to aluminum.

The present investigation demonstrates that the aluminum exposure, in the present dose and duration, does not affect the brain weight.

No significant impact of aluminum exposure has been observed with respect to brain weight (table.2) of the treated animals.

Table 2: Effect of aluminium chloride (10 mg/kg) on the change in brain weight that results from AlCl3 treatment alone

| Group statistics | | | | | | |
|------------------|-----------------|----|-------|---------------|----------------------|-------------|
| | Wistar Rats | N | Mean | Standard type | Mean erreur standard | P |
| brain Weight | Control group I | 10 | 1,603 | 0,1588 | 0,14314 | $\pm 0,912$ |
| | Group II AlCl3 | 10 | 1,586 | 0,1903 | 0,14314 | |

Results are presented as means \pm SE (n = 10)

S: Significant change at $P < 0.05$, a: Compared to control untreated

Data are presented as mean \pm S.E.M. (n = 10) ns non-significant in comparison to control.

* $p < 0.05$ in comparison to Group I (untreated control rats).

_ $p < 0.05$ in comparison to Group II (AlCl3 treated rats).

⊥ Non-significant in comparison to Group II (AlCl3 treated rats).

Exposure to AlCl3 resulted in a significant < 0.0001 decrease in body weight in the pre pubertal group compared to the control group.

3. Evolution relative brain weight

Relative brain weight in experimental and control animals during the course of aluminium exposure is presented in Fig. 1.

No significant Effect of aluminium chloride (10 mg/kg) has been observed on the change in relative brain weight that results from AlCl₃ treatment alone

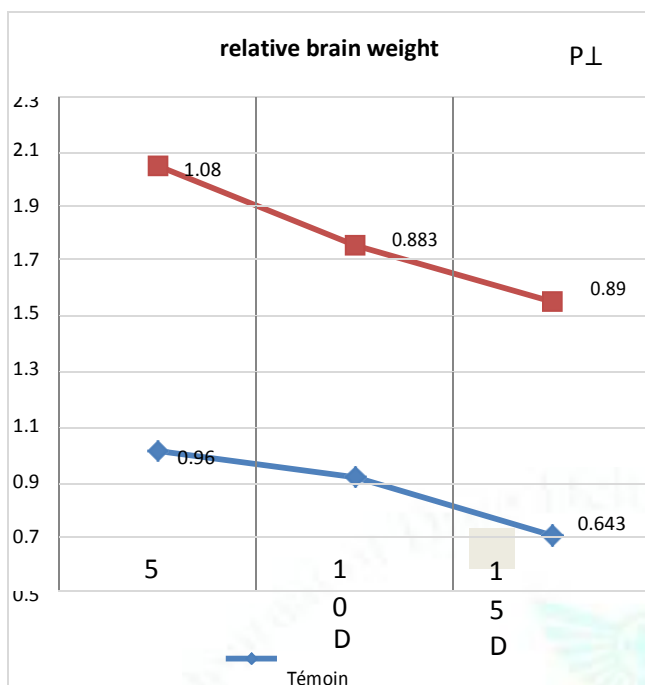


Figure 1: Variation of the relative's weight of the brain according to the treatment.

Data are presented as mean±S.E.M. ($n = 10$) non-significant in comparison to control.

* $p < 0.05$ in comparison to Group I (untreated control rats).

⊥ $P < 0.05$ in comparison to Group II (AlCl₃ treated rats).

⊥ Non-significant in comparison to Group II (AlCl₃ treated rats).

DISCUSSION:

Weight is the amount or quantity of heaviness or mass; it is system of units for expressing heaviness or mass: measure of the heaviness of an object; the amount anything weighs¹⁷.

The present study revealed that the administration of aluminium chloride to rats decrease in weight of body during the experiment in rats intoxicated by aluminum chloride

This weight loss may be due to disruption of intestinal absorption; aluminum compounds are known to inhibit gastrointestinal mobility¹⁸ and slow gastric emptying in humans and rats¹⁹.

On the other hand, Duterte-Boucher et al. (1988) found a decrease in weight during the experiment in rats intoxicated by aluminum chloride; this decrease is probably due to the anorectic effect of aluminum, since aluminum acts on the decrease in the synthesis pathways of serotonin and dopamine levels, these two neurotransmitters being directly involved in the regulation

of digestive and dietary behaviour and the control of satiety²⁰.

The cerebral cortex is the key structures of memory formation. It also integrates higher mental functions, general movement, visceral functions, and behavioral reactions^{21, 22}.

For cerebral histological structure We observed that the treatment of rattles with aluminum chloride affects the arterial structure of the cerebral cortex with the appearance of cell degeneration, vacuolation and a necrosis characterized by fibrosis (**plate 02-03**) compared to control lot who present a large number of normal neurons accompanied by glial cells (**plate 01**)

Aluminium is a toxic heavy metal and a ubiquitous environmental pollutant. It can alter the permeability of the blood-brain barrier and enter the brain severely affecting the functioning of the nervous system

These results are similar to the data reported by³who indicated that exposure of rats to AlCl₃ for eight weeks would induce severe neurodegeneration at the level of the hippocampus demonstrated by histological studies.

According to Crapper et al. (1980), aluminium concentration was elevated in neurons containing neurofibrillary tangles and perhaps within senile plaques, however, aluminium might accumulate in neurons²³.

Aluminium is a highly neurotoxic element and has been reported to play a role in degeneration of nerve cells in the brain of human and experimental animals²⁴.

Secondarily to intracellular degenerating changes and the neuropathological and behavioural changes following the aluminium exposure were similar to those observed in Alzheimer's disease, this is in line with Muller et al. (1990), who suggested that aluminium might have a role in the pathogenesis of Alzheimer's disease although based on circumstantial evidence²⁵.

We therefore concluded that administration of aluminium chloride has a neurodegenerating effects (damage) on the hippocampus of Wistar rats as shown in **Plate 3-5**.

CONCLUSION:

Aluminum is a toxic heavy metal and a ubiquitous environmental pollutant.

Aluminum toxicity results due to an exposure to large amounts of Al containing compounds or direct inoculation of Al Al₃⁺ exposures have been associated with the development of the most common neurodegenerative disorders, the molecular mechanisms behind the Al₃⁺ transport in neurons and subsequent neuron damage has remained elusive²⁶and It can alter the permeability of the blood-brain barrier and enter the brain²⁷ severely affecting the functioning of the nervous system²⁸.

In the brain aluminium accumulates in the sensitive area such as hippocampus and frontal cortex and is considered as a contributing factor in the pathogenesis of neurodegenerative diseases²⁹ and is also involved in skeletal, haematological diseases. The results of the present study indicated that aluminium is a highly neurotoxic and that was capable Of causing pronounced alterations in some could cause neurodegeneration histopathological changes associated with cell degeneration, vacuolation and a necrosis in the cortex and parenchyma cerebral. Consequently, the study recommended that attention should be paid to reduce the sources of exposures to aluminium.

POTENTIAL CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest.

All authors are in agreement with the content of the manuscript.

The authors confirm that our work does not violate the policies established by the journal.

The Author(s) warrants and affirms that:

The Manuscript is an original work and sole property of the Author(s) and that the manuscript has not been published elsewhere nor it is currently under consideration for publication by another journal.

REFERENCES:

- Jiang, H., Teng, R., Wang, Q., Zhang, X., Wang, H., Wang, Z., Cao, J., and Teng, L. (2008). Transcriptional analysis of estrogen receptor alpha variant mRNAs in colorectal cancers and their matched normal colorectal tissues. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 112, 20–24.
- Bressler JP, Olivi L, Cheong JH, Kim Y, Maerten A, Bannon D. Metal transporters in intestine and brain: their involvement in metal-associated neurotoxicities. *Hum Exp Toxicol* 2007; 26: 221 – 9.
- Buraimoh AA and Ojo SA. Effects of Aluminium Chloride Exposure on the Histology of the Stomach of Wistar Rats. *Int J Pharm. Bio Sci*; Oct-Dec.2012b; vol2, Issue4, 266-276.
- Buraimoh. A.A, S.A. Ojo, J.O. Hambolu and S.S. Adebisi, *Asian J. Biol. Sci*, 2012c, 3 (2): 435-438.
- Buraimoh A.A. S.A. Ojo, J.O. Hambolu and S.S. Adebisi, *American Medical Journal*, 2012d, 3(2): 210-219.
- M. Kawahara. Effects of aluminum on the nervous system and its possible link with neurodegenerative diseases *J. Alzheimers Dis.*, 8 (2005), pp. 171-182.
- A.C. Miu, C.E. Andreescu, R. Vasii, A.I. Olteanu A behavioral and histological study of the effects of long-term exposure of adult rats to aluminum. *J. Neurosci.*, 113 (2003), pp. 1197-1211.
- Walton, J.R.; Brain lesions comprised of aluminum-rich cells that lack microtubules may be associated with the cognitive deficit of Alzheimer's disease *Neurotoxicology*, 30 (2009), pp. 1059-1069.
- Graczyk A., Radomska K., Długaszek M. Synergizm i antagonizm między biopierwiastkami i metalami toksycznymi. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* nr 18. Instytut Ochrony Środowiska. Warszawa, pp39-45, 1999
- Plieth C., Sattelmacher B., Hansen U.P., Knight M.R. Low-pH-mediated in cytosolic calcium are inhibited by aluminium: a potential mechanism for aluminium toxicity. *Plant J.* 18 (6), 643, 1999.
- Afifi A. Renal osteodystrophy in developing countries. *Artif. Organs.* 26 (9), 767, 2002.
- Chen J., Wang M., Run D., She J. Early chronic aluminium exposure impairs long-term potentiation and depression to the rat dentate gyrus in vivo. *Neuroscience*, 112 (4), 879, 2002.
- Campbell A. The potential role of aluminium in Alzheimers disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 17, suppl 2, 17, 2002.
- Y.L. Chan, A.C. Alfrey, S. Posen, D. Lissner, E. Hills, C.R. Dunstan and R.A. Evans, *Calcif Tissue Int.*, 1983; 35: 344-351.
- Bräunlich H. C. Fleck, L. Kersten, G. Stein, V. Laske, A. Müller and E. Keil, *J Appl Toxicol*, 1986; 6: 55-59.
- Terry R. D. and Pena C. Experimental production of neurofibrillary degeneration. *Neuropath. Exp. Neurol.* 24: (1965) 200–21
- A. Christine, the American Heritage Dictionary of Idioms. Published by Houghton Mifflin. 1997.
- Hava M. AND Hurwitz A. (IW3). The relaxing effect of aluminum and lanthanum on rat and human gastric smooth muscle in vitro. *Eur. J. Plnrnncol.* 22 : 156-161; 1973.
- Hurwitz A. Robinson R. G, Vats T-S, Whittier F. C. AND Herin W.F. (1976). Effects of antacids on gastric emptying. *Gastroenterology* 71: 268-273.
- Duterte-Boucher D, Leclère J-F, Panissaud C, Costentin J. Acute effects of direct dopamine agonists in the mouse behavioral despair test. *European Journal of Pharmacology.* September 1988. Volume 154, Issue 2, 13, Pages 185-190.
- Brodal, S., 1992. *The Central Nervous System: Structure and Function.* Oxford University Press, Oxford. Cowling, S.J., A.M. Gunn and D.A. Winnard, 1991. Aluminium Speciation in drinking water. Report no. FRO192.
- Cauler, L. (1995). Layer I of primary sensory neocortex: where top-down converges upon bottom-up. *Behav Brain Res.*, 71(1-2):163-70. PMID 874718.
- Crapper, D.R., S.S. Quittkat, Krishman, A.J. Dalton and U. De Boni, 1980. Intranuclear aluminum content in Alzheimer's disease, dialysis encephalopathy and experimental aluminum encephalopathy *Acta Neuropathology*, 50: 19-24.
- Linton RW, Bryan SR, Grif fis DP, Shelburne JD, Fiori CE, Gar ruto RM. Digital imaging studies of aluminum and calcium in neurofibrillary tangle-bearing neurons using secondary ion mass spectrometry. *Trace Elem. Med.*, 1987; 4: 99-104.
- Muller, G., V. Bernuzzi, D. Desor, M.F. Hutin, D. Burnel and P.R. Lher, 1990. Developmental alteration in offspring of female rats orally intoxicated by aluminum lactate at different gestation periods. *Teratol.*, 42: 253-261.
- N. Van Duyn, R. Settivari, J. LeVora, S. Zhou, J. Unrine, R. Nass, The metal transporter SMF-3/DMT-1 mediates aluminum-induced dopamine neuron degeneration, *J. Neurochem.* 124 (2013) 147–157
- Shukla, A., Shukla, G.S., Srimal, R.C., 1996. Cadmium-induced alterations in blood-brain barrier permeability and its possible correlation with decreased microvessel antioxidant potential in rat. *Hum. Exp. Toxicol.* 15, 400–405
- Wang, B., Du, Y., 2013. Cadmium and its neurotoxic effects. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013 898034.
- M. Nampoothiri, J. John, N. Kumar, J. Mudgal, G.K. Nampurath, M.R. Chamallamudi, Modulatory role of simvastatin against aluminium chloride-induced behavioural and biochemical changes in rats, *Behav. Neurol.* 2015 (2015) 1–9.