



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريديج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Intitulé :

Impact du cadmium sur les paramètres
physiologiques et biochimiques chez un bioindicateur de
pollution « *Helix aspersa* »

Présenté par :

AMARA Achref & FARSI Abdelhamid

Soutenu le 30 / 06 / 2024, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	M. DIAFAT Abdelouahab	Pr.	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mme. MEBARKI Radhia	MAB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	M. BECHAMI Sofiane	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

Nous remercions avant tout, ALLAH Tout-Puissant pour la santé, la patience et le courage qu'il nous a donnés durant toutes ces longues années d'études, afin que nous puissions arriver là.

Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à Mme Mebarki Radhia, pour la qualité de leur encadrement, leur disponibilité et surtout leurs précieux conseils afin de réaliser ce travail.

Nous remercions aussi, à M. DIAFAT pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury et à M. BECHAMI d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants de la faculté SNV qui nous ont fait profiter de leurs savoir et de leurs compétences.

Enfin, nous adressons nos vifs remerciements aux personnes ayant coopéré de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes parents qui m'ont soutenu et encouragé durant mes études

A mes frères, à mes grands-parents et à tous ceux qui ont partagé avec moi les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

Je le dédie également à ma famille et à mes proches

Ainsi qu'à tous mes amis qui m'ont toujours encouragé et à qui je souhaite encore plus

de succès.

A. Achref

Dédicace

Voici la *dédicace* pour ma grand-mère *décédée* qui voulait être présente mais le destin en a décidé autrement. Un grand merci à tous ceux qui m'ont soutenu durant ce passionnant voyage de cinq ans à l'université, avec ses joies et ses peines. Merci à ma famille et à mes amis, en particulier à Achraf, Oussama, Akram et Oussama. Enfin, merci à moi pour tout jusqu'à ce moment.

F. Abdelhamid

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
I. Matériels et méthodes	3
I.1. Modèle biologique : L'escargot <i>Helix aspersa</i>	3
I.2. L'utilisation de l'Escargot <i>Helix aspersa</i>	10
I.3. Cadmium.....	11
I.4. Toxicité de Cadmium.....	13
I.5. Présentation du site de prélèvement.....	14
I.6. Traitement	15
I.7. Préparation de Tampon phosphatase.....	16
I.8. Dissection et prélèvement de tissu.....	16
I.9. Dosage des biomarqueurs.....	16
I.10. Analyse statistique	19
II. Résultats	20
II.1. Activité de glutathion S transférase.....	20
II.2. Activité de Catalase.....	26
II. Discussion.....	31
Conclusion	38
Références bibliographiques.....	40
Résumé.....	

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
1	Propreté physique-chimique de cadmium.	12
2	Dosage de la catalase.	17
3	Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.	19
4	Activité spécifique de la GST au niveau du hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium.	22
5	Analyse de la variance à deux critères de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium.	22
6	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium de 24 heures.	23
7	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium de 48 heures.	24
8	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium de 72 heures.	24
9	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> pour le lot témoin.	24
10	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> pour le lot des espèces traitées avec une dose de 15 mg de cadmium.	25

11	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la GST au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> pour le lot des espèces traitées avec une dose de 25 mg de cadmium.	25
12	Activité spécifique de la CAT au niveau du hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium	28
13	Analyse de la variance à deux critères de classification de l'activité spécifique de la CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium.	28
14	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium de 24 heures.	28
15	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium de 48 heures.	29
16	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant la période d'exposition au cadmium de 72 heures.	29
17	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> pour le lot témoin.	29
18	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de la CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> pour le lot des espèces traitées avec une dose de 15 mg de cadmium.	30
19	Analyse de la variance à un seul critère de classification de l'activité spécifique de CAT au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> pour le lot des espèces traitées avec une dose de 25 mg de cadmium.	30

Liste des figures

N°	Titres	Pages
1	<i>Helix aspersa</i> petit gris.	03
2	Vue externe de la coquille d'escargot <i>Helix aspersa</i> .	04
3	Morphologies de <i>Helix aspersa</i> .	05
4	Schéma en coupe de l'anatomie de l'escargot <i>Helix aspersa</i> .	06
5	Appareil digestif de l'escargot.	06
6	Schéma du fonctionnement de la radula.	07
7	Partie de la langue râpeuse de l'escargot, la radula, grossie 4000x à l'aide d'un microscope électronique à balayage.	07
8	Système nerveux d'un escargot.	08
9	Orifice respiratoire chez l'escargot.	09
10	Schéma de l'appareil génital de l'escargot.	10
11	Pièce de cadmium centimétrique.	11
12	Site de prélèvement Erbea, Mansoura, Bordj Bou Arréridj.	15
13	Les lots des échantillons.	15
14	Activité spécifique de la GST au niveau au niveau de l'hépatopancréas de <i>Helix aspersa</i> durant l'exposition au cadmium	23

Liste des abréviations

BBC : Bleu de Coomassie Brillant.

BSA : Solution Albumine de Sérum Bovin.

CAT : Catalase.

CdCl₂ : Cadmium Chloride.

CDNB : 1-Chloro 2,4 Dinitrobenzène.

ERO : Espèce Réactive Oxygénée.

ETMs : Eléments Traces Métalliques.

GSH : Glutathion Réduit.

GST : Glutathion-S-Transférase.

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène.

Na₂HPO₄ : Sodium Hydrogène Phosphate.

NaH₂PO₄ : Sodium Phosphate Dibasique d'Hydrate.

NK-κB : Facteur Nucléaire Kappa B.

PVC : Polychlorure de Vinyle.

TNFα : Facteur de Nécrose Tumorale α.

Introduction

Introduction

Depuis environ cinquante ans, la pollution est devenue l'un des défis majeurs de notre monde moderne. Ce terme englobe la présence généralisée de substances chimiques dangereuses dans l'environnement, principalement produites par l'activité humaine, et dont les effets néfastes peuvent perdurer à l'échelle mondiale (**El Morhit, 2009**). Les activités industrielles, agricoles et domestiques ont considérablement altéré tous les environnements naturels, notamment les milieux terrestres, qui agissent comme des réservoirs pour une variété de polluants tels que les métaux lourds. L'industrialisation croissante, l'urbanisation rapide et diverses activités telles que l'exploitation minière, la fusion et le traitement des métaux, ainsi que les émissions associées à l'industrie pétrolière, gazière et au trafic, ont amplifié les niveaux de pollution (**Armah et al., 2010**). En raison de leur toxicité, de leur persistance dans l'environnement et de leur capacité à s'accumuler dans les organismes vivants, ces métaux lourds sont classés parmi les polluants environnementaux les plus préoccupants (**Islam et Mostafa, 2021 ; Monira et al., 2023**).

Une fois libérées dans le milieu terrestre, les molécules de métaux lourds contaminent le sol et s'accumulent dans ses différentes composantes, notamment la végétation et les organismes vivants (**Nagajyoti et al., 2010 ; Alloway, 2013 ; Li et al., 2019**). L'exposition chronique des organismes terrestres à ces contaminants peut provoquer diverses perturbations susceptibles d'affecter différents niveaux de l'organisation biologique, allant de l'individu à l'écosystème entier (**Khan et al., 2008 ; Wuana et Okieimen, 2011**). De plus, les effets toxiques de ces substances peuvent également se manifester chez l'être humain (**Jarup, 2003 ; Tchounwou et al., 2012**).

Le sol, bien que crucial pour de nombreuses activités humaines, demeure souvent mal compris et négligé. Ce n'est que récemment, en particulier grâce aux preuves de pollution par les activités industrielles et agricoles, que l'on a pris conscience de l'importance des fonctions du sol et de la nécessité de les préserver (**Saltiene et al., 2002 ; Chapman et al., 2003**). En effet, le sol joue un rôle essentiel en tant qu'interface environnementale face aux principales formes de pollution anthropique (**Calvet, 2003**). Un sol est considéré comme pollué lorsque l'introduction d'éléments toxiques par l'activité humaine compromet sa qualité au point de menacer la santé humaine et/ou

l'environnement (Promeyrat, 2001). La simple présence d'un polluant dans le sol ne constitue pas nécessairement un danger en soi (Chaussod, 1996), mais le risque émerge lorsque ce polluant peut être libéré et affecter l'écosystème ou la santé humaine (**Lee et al., 2006**).

Les mollusques, particulièrement les gastéropodes terrestres, sont essentiels pour la biodiversité terrestre, comptant entre 30 000 et 35 000 espèces dans le monde (**Tsai, 2004**). Leur diversité morphologique est une mesure intuitive de la variété biologique (**Williams et Humphries, 1996**), tandis que l'inventaire, une discipline étudiant la biodiversité des écosystèmes, contribue à la compréhension de la faune malacologique méditerranéenne riche en gastéropodes terrestres (**Boudchiche, 2007**).

Les escargots terrestres, comme *Helix aspersa*, sont largement utilisés comme bioindicateurs de la pollution environnementale en raison de leur capacité à accumuler les éléments traces métalliques (ETMs) et à refléter les niveaux de pollution dans leur environnement (**Viar-La rocca, 2004**). Ils sont exposés aux polluants par ingestion de plantes et de sol contaminés, par contact cutané et par respiration (**Van Straalen et al., 2005**). Cette espèce est particulièrement étudiée en écotoxicologie pour évaluer les effets dose-effet des contaminants, soulignant sa sensibilité et son utilité comme modèle biologique en laboratoire (**Grara, 2011 ; Nowakowska et al., 2012**).

C'est dans ce contexte que nous avons entamé notre étude en utilisant *Helix aspersa* comme modèle biologique afin d'évaluer les effets d'un métal lourd largement distribué dans notre environnement le cadmium. Nous avons déterminé, en conditions contrôlées au laboratoire, la toxicité aiguë du cadmium (Cd) à l'égard de *Helix aspersa* après 24, 48 et 72 heures d'exposition, en évaluant l'impact du Cd sur l'activité de deux biomarqueurs du stress environnemental : la catalase (CAT) et la glutathion S-transférase (GST).

*Matériels et
méthodes*

I. Matériels et méthodes

I.1. Modèle biologique : L'escargot *Helix aspersa*

a) Présentation de l'espèce

Helix aspersa ou *Cornu aspersum* (**O.F. Muller, 1774**) communément appelé petit-gris (Fig.1). C'est un mollusque gastéropode appartenant à la famille d'hélicidés (**Pirame et Sandrine, 2003**), on le trouve largement dans la région méditerranéenne et dans la région atlantique européenne. Il possède des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques (**Viard et al., 2004**) ce qui fait de lui un bioindicateur de pollution terrestre.



Figure 1: *Helix aspersa* petit gris (Robert J. Erwin, 2018)

b) Classification de l'espèce : Selon (Bonnet et Vrillon, 1990)

Règne : *Animalia*

Embranchement : Mollusque

Classe : *Gastéropoda*

Sous -classe : Pulmonés

Ordre : Stylomatophora

Super-famille : *Helicacea*

Famille : *Helicidae*

b) Description morphologique

➤ **La coquille**

La coquille du Petit-Gris, de couleur brune avec des dessins foncés dont la forme varie selon l'origine, est plus globuleuse que celle des autres espèces du genre *Helix*. Elle s'enroule dans lesens des aiguilles d'une montre autour d'un axe central appelé columelle. Sur le plan structurel, elle est composée d'un composant organique et d'un composant minéral. La conchioline, une protéine spécifique des mollusques, constitue la partie organique qui représente 1 à 2% de sa composition. Le reste de la coquille est composé de minéraux.

La matrice de conchioline est principalement constituée de calcite et d'aragonite, des formes decarbonate de calcium. Le bord du manteau sécrète la coquille. Initialement, la matrice de conchioline est complexe, donnant un aspect fragile et mou, qui se solidifie ensuite avec des couches successives de carbonate de calcium. Le péristome, bord final de la coquille formé lors de la croissance, s'enroule vers l'intérieur et se durcit à mesure que la croissance s'achève, un stade appelé "bordé". Les lignes d'expansion sur la coquille sont perpendiculaires à sa direction de croissance, avec des lignes plus marquées indiquant des pauses de croissance pendant les périodes d'estivation et d'hibernation. Environ un tiers du poids frais total de l'escargot est attribué à sa coquille (**Bonnet *et al.*, 1990**). (Fig.2)

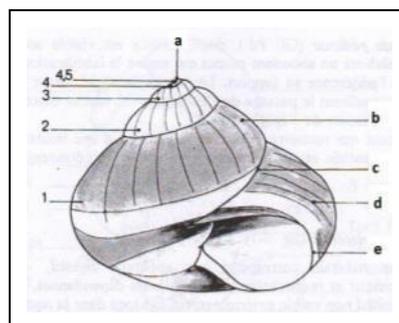


Figure 2 : vue externe de la coquille d'escargot *Helix aspersa* (**Beaumont et Cassier, 1970**).

1, 2, 3, 4, 4.5: numéros des tours de la coquille adulte, *a*: sommet, *b*: bande pigmentaire, *c*: ligne de suture, *d*: strie d'accroissement, *e*: péristome

➤ **Le corps**

En l'absence d'un axe squelettique, *Helix aspersa* possède un corps mou qui se subdivise en trois parties (Fig. 3) :

- **La tête** : est considéré comme une région céphalique de l'escargot.
- **Le pied** : est un élément très développé qui représente la majorité de la masse charnue. Sa face ventrale effectue le rampement.
- **La masse viscérale** : est composée des systèmes digestif, circulatoire, génital, excréteur et respiratoire ainsi que de leurs compléments. Elle est dans un sac hélicoïdal à l'intérieur de la coquille. **(Beaumont et Cassier, 1970).**

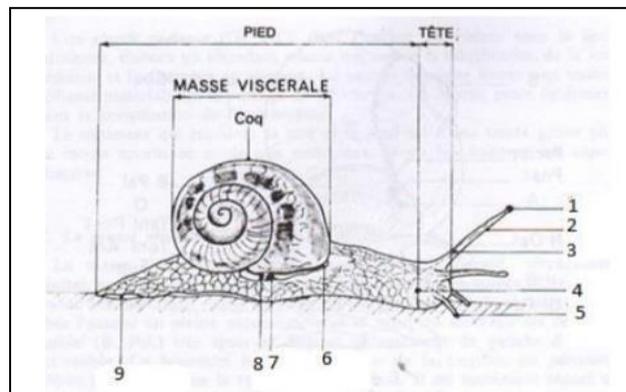


Figure 3 : Morphologie de *Helix aspersa* **(Beaumont et Cassier, 1970).**

1 : œil, **2** : tentacule postérieur, **3** : nerf optique, **4** : orifice génital, **5** : tentacule antérieur,
6 : bourrelet palléal, **7** : pneumostome, **8** : anus, **9** : sole de reptation

c) Description anatomique

Le corps de l'escargot est caractérisé par sa structure complexe comprenant un pied, une tête, une masse viscérale enroulée dans sa coquille, des tentacules, une coquille sécrétée par le manteau, et une cavité du manteau contenant plusieurs organes vitaux (Fig.4) .

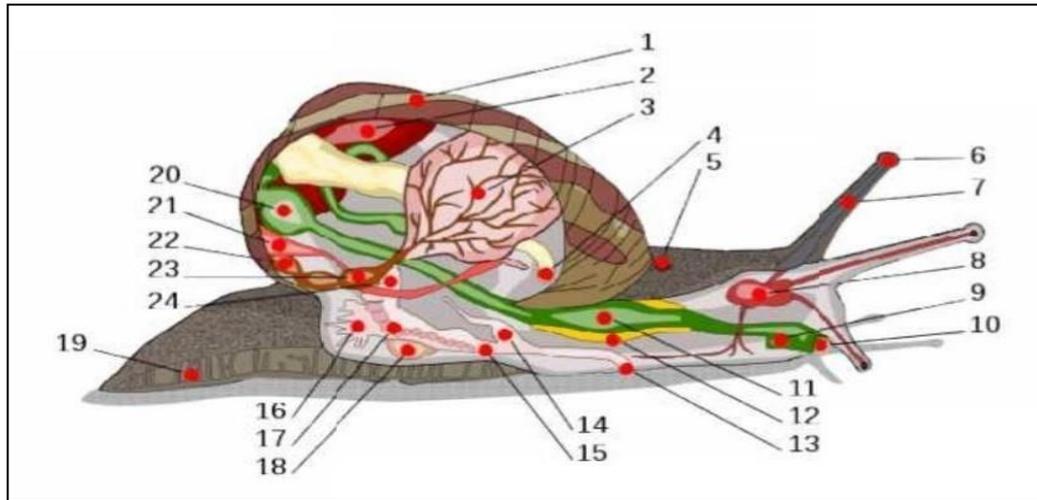


Figure 4: Schéma en coupe de l'anatomie de l'escargot *Helix aspersa* (Quibik, 2007)

1: Coquille. **2:** Foie. **3:** Poumon. **4:** Anus. **5:** Pore respiratoire. **6:** Œil. **7:** Tentacule. **8:** Cerveau. **9:** Conduit salivaire. **10:** Bouche. **11:** Panse. **12:** Glande salivaire. **13:** Orifice génital. **14:** Pénis. **15:** Vagin. **16:** Glande muqueuse. **17:** Oviducte. **18:** Sac de dards. **19:** Pied. **20:** Estomac. **21:** Rein. **22:** Manteau. **23:** Cœur. **24:** Canal déférent.

➤ **Système digestif**

Après la bouche, il y a une structure appelée bulbe buccal. À l'intérieur de ce bulbe, il y a une langue musculaire recouverte d'une lame cornée appelée radula, son rôle est de broyer les aliments et on trouve deux glandes salivaires dans la partie postérieure du bulbe buccal.

Le bulbe buccal se prolonge par un œsophage qui se renfle en un estomac lui-même prolongé par un intestin qui s'enroule deux fois (double circonvolution) autour d'un organe combiné appelé hépatopancréas. Finalement, le tube digestif se termine par l'anus (Pirame et Sandrine, 2003).

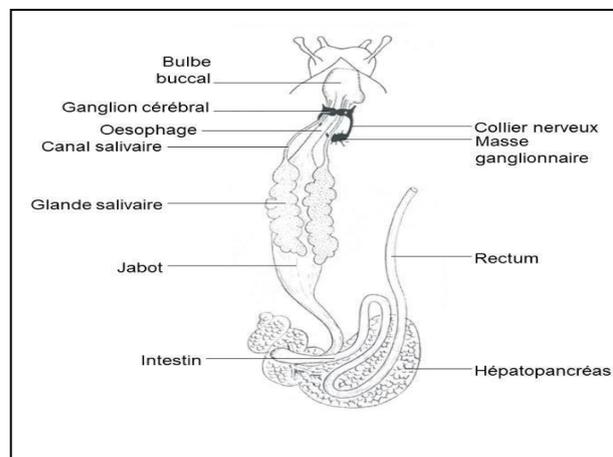


Figure 5 : Appareil digestif de l'escargot (Skendraoui, 2015)

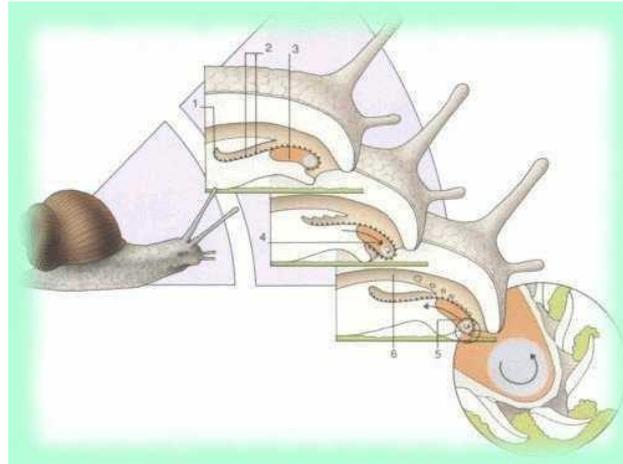


Figure 6: Schéma du fonctionnement de la radula (**Gireaud, 2008**)

1: Langue râpeuse. **2:** Minuscules dents. **3:** Cartilage. **4:** Sortie de la radula. **5:** minuscules dents sont retirées. **6:** particules de nourriture sont avalées

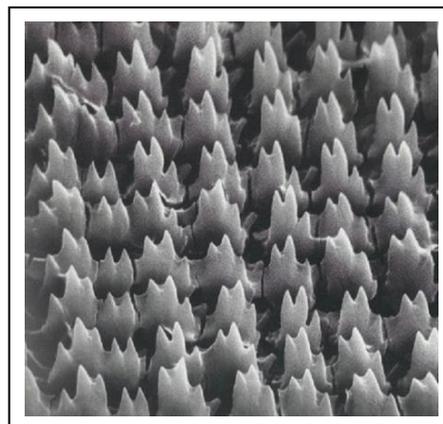


Figure 7 : Partie de la langue râpeuse de l'escargot, la radula, grossie 4000x à l'aide d'un microscope électronique à balayage (**Sirtin, 2009**)

➤ **Système nerveux**

Le système nerveux de l'escargot est composé de deux parties (Fig.8) :

○ **Le système nerveux sympathique :**

Il est décrit comme étant constitué d'une paire de ganglions buccaux. Ces ganglions sont situés sous le bulbe buccal, c'est-à-dire la partie de la tête de l'escargot où se trouvent sa bouche et ses tentacules. Ces ganglions sont connectés par deux cordons nerveux aux ganglions cérébroïdes, qui sont situés dans la région céphalique (la tête) de l'escargot. Le système nerveux sympathique

innerve la plus grande partie du tube digestif de l'escargot, ce qui signifie qu'il contrôle et régule les activités digestives. (Pirame et Sandrine, 2003) .

○ **Le système nerveux central :**

Il est également situé dans la région céphalique de l'escargot. Il est décrit comme étant formé d'une chaîne de ganglions qui forment un double collier péri-œsophagien complexe. Cela signifie qu'il y a une série de ganglions nerveux disposés en cercle autour de l'œsophage de l'escargot, formant ainsi un double collier (c'est-à-dire deux rangées de ganglions). Ces ganglions jouent un rôle central dans le traitement et la transmission des informations nerveuses dans le système nerveux de l'escargot. (Pirame et Sandrine, 2003) .

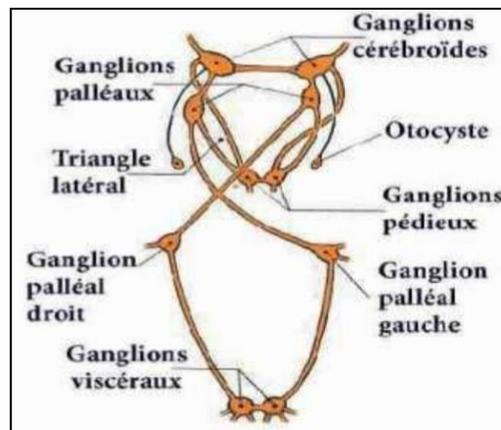


Figure 8: Système nerveux d'un escargot (Meglitsch, 1974)

➤ **Système circulatoire**

Le cœur est divisé en deux parties distinctes qui jouent des rôles spécifiques dans la circulation sanguine.

Le sang ou l'hémolymphe contient un pigment appelé hémocyanine pour transporter l'oxygène dans son sang. Lorsque l'hémocyanine est oxydée, elle prend une teinte bleue, d'où le sang de l'escargot qui peut sembler bleu sous sa forme oxydée.

Le sang est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes. L'aorte antérieure est responsable d'irriguer le pied de l'escargot, tandis que l'aorte postérieure irrigue le tortillon, le sang revient au cœur par un système de veines et de sinus veineux. Ces vaisseaux sanguins ramènent le sang désoxygéné vers l'oreillette antérieure du cœur pour recommencer le cycle (Pirame et Sandrine, 2003).

➤ **Système respiratoire**

○ **Structure du poumon :**

Le poumon est décrit comme une poche formée de l'épithélium palléal. L'épithélium palléal est une couche de tissu qui tapisse la cavité du manteau de l'escargot. Cette poche pulmonaire est irriguée par les vaisseaux pulmonaires (**Bonnet et al., 1990**) et est située entre la masse viscérale de l'escargot, composée des organes internes, et le manteau qui recouvre l'intérieur de sa coquille.

○ **Fonctionnement du poumon :**

Le poumon s'ouvre à l'extérieur par l'orifice respiratoire (Fig.9), également appelé pneumostome. Cet orifice respiratoire est la structure par laquelle l'air entre et sort du poumon. On peut facilement observer les mouvements rythmiques d'ouverture et de fermeture de cet orifice respiratoire (**Bonnet et al., 1990**). L'air circule à travers le pneumostome grâce à des mouvements de contraction de son ouverture.



Figure 9 : Orifice respiratoire chez l'escargot (**Pol, 2006**)

➤ **Système génital**

L'escargot est hermaphrodite, possédant à la fois des organes mâles et femelles ainsi que des organes exclusivement mâles ou femelles. Il comprend une gonade (ovotestis) située à l'extrémité postérieure de l'hépatopancréas où se forment les ovules et les spermatozoïdes, un canal hermaphrodite pour l'évacuation des gamètes, une glande albuminipare élaborant les réserves vitellines, et un ovospermiducte. Le système reproducteur (Fig.10) se divise ensuite en deux voies distinctes : la voie mâle, qui inclut un spermiducte où les spermatozoïdes s'accumulent en un spermatophore, et un organe copulateur (pénis) ; et la voie femelle, qui comporte une

glande sécrétant un dard calcaire lors de l'accouplement, le vagin et l'orifice génital (Pirame et Sandrine, 2003).

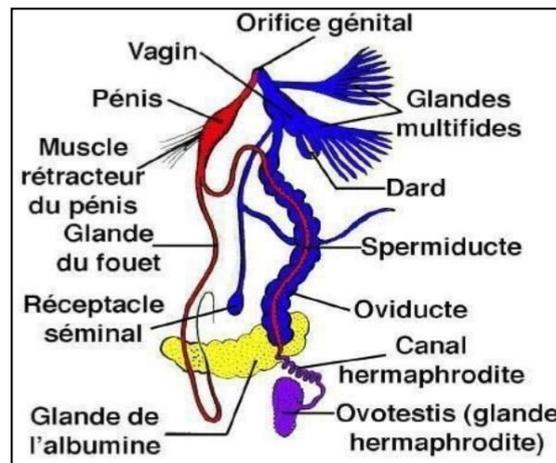


Figure 10 : Schéma de l'appareil génital de l'escargot (Boué et Chanton, 1958)

I.2. L'utilisation de l'Escargot *Helix aspersa*

➤ Importance Biologique

Le mucus d'escargot a été associé à diverses fonctions biologiques, telles que des propriétés antibactériennes, antioxydants, anti-tyrosinase et anti tumorales (Fabi *et al.*, 2013 ; Ulagesan et Kim, 2018 ; Ellijimi *et al.*, 2018).

Selon des études récentes, le mucus d'escargot contient des composés chimiques ayant des propriétés biologiques intéressantes. Le plus abondant est le Cyclotrisiloxane hexaméthyl (Aouji *et al.*, 2023), qui possède des fonctions antibactériennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Muthukrishnan *et al.*, 2022). La même étude a découvert que l'activité cicatrisante du mucus de *Helix aspersa* était comparable à celle d'une pommade (Aouji *et al.*, 2023).

Une étude a découvert que l'extrait de *Helix aspersa* stimule la production de $TNF\alpha$ et diminue l'expression de $NF-\kappa B$, étant donné sa propriété cytotoxique élevée contre les cellules cancéreuses du sein (El Ouar *et al.*, 2017).

L'hémocyanine de l'escargot *Helix aspersa* s'est avérée être un agent efficace dans l'inhibition de la prolifération cellulaire dans divers types de lignées cellulaires cancéreuses, notamment le cancer de la vessie, le cancer de la prostate chez l'homme, le carcinome ovarien, le gliome malin, le lymphome de Burkitt et la leucémie monocytique aiguë (Antonova *et al.*, 2014).

➤ **Importance Alimentaire**

Les escargots sont un repas très nutritif et ont longtemps été une source alimentaire importante pour les humains (**Tremlova, 2001**). Dans certaines régions de l'Algérie, l'espèce *Helix aspersa* est ordinairement consommée sous l'appellation de « Babbouch », une recherche a considéré que la viande d'escargot possède une grande valeur nutritionnelle grâce à sa teneur élevée en protéines, à la présence d'acides gras insaturés oméga6 et oméga-3, Ainsi qu'à l'abondance de minéraux essentiels tels que le potassium, le calcium et le fer (**Aouji et al., 2023**). Une autre étude démontre que les nutriments mentionnés précédemment sont présents à des niveaux similaires par rapport aux fruits de mer (**Çağiltay et al., 2011**).

I.3. Cadmium :

a) **Présentation de ce métal**

Le cadmium (Cd), découvert en 1817 par le chimiste allemand Stohmeyer, est un métal blanc argenté appartenant à la famille des métaux de transition. On le trouve dans la croûte terrestre, souvent associé à des minerais de zinc, de plomb et de cuivre. (Fig.11)



Figure 11 : Pièce de cadmium centimétrique

Le cadmium (Cd) est un élément chimique ayant un numéro atomique de 48 et une masse atomique d'environ 112,4 g/mol. Sa densité est de 8,6 g/cm³, et son point de fusion est d'environ 320,9 °C, avec un point d'ébullition d'environ 765,0 °C. Il appartient au groupe 12 du tableau périodique des éléments et se trouve généralement dans un état oxydatif de +II. Le cadmium possède plusieurs isotopes naturels, parmi lesquels les formes les plus courantes sont le Cd¹⁰⁸, Cd¹¹⁰, Cd¹¹², Cd¹¹³ et Cd¹¹⁶ ce dernier étant le plus abondant (**Weast, 1986**).

Tableau 1: Propriétés physico-chimiques du cadmium. (Weast, 1986).

Numéro atomique	Groupe	Période	Bloc	Masse atomique	Configuration Électronique
48	12	5 ^e période	Bloc d	112,41 g.mol ⁻¹	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ²
Masse volumique		Dureté	Température de fusion		Température de d'ébullition
8.642 g.cm ⁻³		2	320.9°C		765°C

b) Les Sources de Cadmium

➤ Source naturelle

Dans la nature, le cadmium est présent dans la croûte terrestre en quantité relativement faible, généralement entre 0,1 et 0,2 mg/kg (Kabata Pendias *et al.*, 2001), bien que cette concentration puisse varier considérablement en fonction de l'origine géographique des sols. Il est souvent associé au zinc dans certains minerais. De plus, il peut être absorbé par les plantes à partir des couches superficielles du sol, ce qui peut entraîner une accumulation dans les tissus végétaux. En outre, le volcanisme, tant à la surface qu'en milieu sous-marin, contribue également à la libération de cadmium dans l'environnement.

➤ Source anthropique

Le cadmium est largement utilisé dans de nombreuses industries, ce qui entraîne une importante présence anthropique dans l'environnement. Ses applications comprennent la fabrication d'accumulateurs et de piles Ni-Cd, le revêtement protecteur de l'acier via le cadmiage, ainsi que son utilisation comme pigment jaune ou rouge (IARC 2012). De plus, le cadmium est employé comme stabilisant anti-UV dans les plastiques comme le PVC (Jarup, 2002), et il est présent dans les alliages cuivre-cadmium, les électrodes de soudage, et même dans les panneaux solaires sous forme de tellure de Cd.

Par ailleurs, les secteurs industriels tels que la métallurgie, la chimie, la construction, la pâte à papier et les raffineries de pétrole émettent également du cadmium dans l'environnement à travers leurs processus de production et de traitement, qui se

représentent une source principale de contamination par le cadmium dans les zones urbaines (**He et al., 2005**).

Les activités agricoles contribuent également à son relargage dans l'environnement via l'utilisation des pesticides qui peuvent contenir plusieurs métaux toxiques comme Cu, Cd, Zn et Pb et peuvent donc contribuer à la contamination des terres agricoles (**He et al., 2005**), de fertilisants (**Schutze et al., 2003**), l'épandage de boues des stations d'épuration. (**Bliefert et Perraud, 2001**) et aussi certains engrais phosphatés contiennent plus de 50 mg de Cd / Kg (**Mortvedt et Beaton, 1995**).

I.4. Toxicité de Cadmium

L'exposition au cadmium (Cd) constitue un risque complexe pour la santé humaine, principalement par inhalation et, dans une moindre mesure, par ingestion, avec un risque minime par contact cutané. Une fois introduit dans l'organisme, le Cd est transporté par les érythrocytes et l'albumine dans la circulation sanguine, où il s'accumule principalement dans les reins (**Satarug, 2018**), le foie et l'intestin (**Tinkov et al., 2018**). La métallothionéine, une protéine liant le zinc, joue un rôle crucial en neutralisant les radicaux libres, conférant ainsi aux cellules une résistance aux dommages du Cd, tandis que celles qui en sont dépourvues se révèlent vulnérables à son action nocive (**Han et al., 2015**). Même à des niveaux d'exposition faibles, le Cd présente des risques significatifs, notamment des lésions rénales, hépatiques, squelettiques et cardiovasculaires (**Fatima et al., 2019**), ainsi qu'une altération de la vision et de l'audition. De plus, ses propriétés tératogènes et mutagènes soulignent ses effets néfastes sur la santé reproductive, affectant à la fois la fertilité masculine et féminine ainsi que les résultats de la grossesse (**Kumar et Sharma., 2019**). Des preuves épidémiologiques suggèrent un lien entre l'exposition au Cd et des troubles musculo-squelettiques tels que l'ostéoporose, l'arthrite rhumatoïde, l'ostéoarthrite et la maladie commune (**Reyes Hinojosa, 2019**), mettant en évidence le large spectre d'implications pour la santé à ce métal toxique.

➤ **Toxicités de cadmium sur les escargots**

Le poids et la croissance de la coquille peuvent être influencés par différents facteurs environnementaux, tels que la pollution métallique (**Ebenso et Ologhobo, 2008**) et la disponibilité du calcium (**Ireland, 1991**). En plus, une étude trouve que la croissance peut être inhibée en raison d'une absorption insuffisante de calcium (**Schoenmakers et al., 1992**).

Le calcium (Ca) chez les gastéropodes terrestres comme les escargots est d'abord stocké dans les cellules calcareuses hépatopancréatiques, puis dissous et transporté vers les parties du corps ayant besoin de carbonate de calcium, en particulier la coquille pendant la période de croissance (**Barker, 2001**) puisque le cadmium et le calcium sont des antagonistes compétitifs (**Massaro, 1997**) une explication potentielle est que le Cd réduit le transport de Ca depuis l'hépatopancréas vers la coquille affectant ainsi sa croissance.

L'effet du cadmium sur le stress oxydatif a également été remarqué chez d'autres organismes, comme *Drosophila melanogaster*, où son exposition a entraîné une augmentation du stress oxydatif et de l'apoptose en élevant les niveaux de espèces réactives de l'oxygène (**Yang et al., 2022**).

Les mollusques peuvent subir un stress général en présence de métaux lourds, ce qui peut entraîner une diminution de leur capacité à s'adapter à des conditions d'anoxie (**Le Bras, 2007**).

I.5. Présentation du site de prélèvement

Des échantillons ont été prélevés au niveau Erbea (36° 8' 59" N ,4° 26' 50" E) 46 km ouest de wilaya de Bordj Bou Arreridj en raison d'une forte abondance du matériel biologique utilisé et de son éloignement des sources de pollution.



Figure 12 : Site de prélèvement Erbea, Mansoura, Bordj Bou Arréridj (Google Earth, 2024)

I.6. Traitement

Des boîtes en plastique sont placées au niveau du laboratoire. Les escargots sont placés dans 3 boîtes (n = 16 par lot). Un lot témoin et les deux autres lots sont traités par le cadmium. Le Cd a été utilisé sous forme de $CdCl_2$ (chlorure de cadmium) à différentes doses : 15 mg et 25 mg. On donne pour la nourriture des escargots de la farine mélangée avec le cadmium pour les deux lots traités.

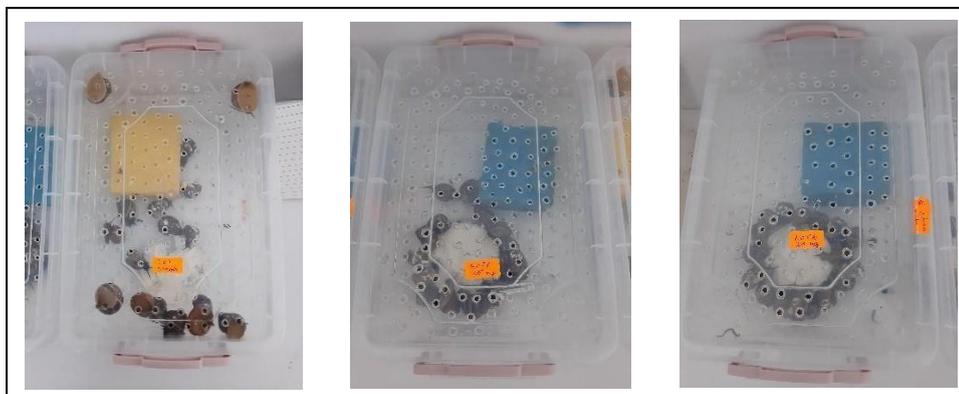


Figure 13: Lots des échantillons

I.7. Préparation de Tampon phosphatase

- **Pour la catalase** : Nous avons dissous 8,95 g de Na_2HPO_4 dans 250 ml d'eau distillée et 3,45 g de NaH_2PO_4 dans 250 ml d'eau distillée. Ensuite, nous avons prélevé 100 ml de chaque solution et les avons mélangées. Pour obtenir un pH de 7,5 nous ajustons le pH en ajoutant l'une des solutions en fonction de la nécessité.
- **Pour le GST** : Nous avons mesuré précisément 12,3 ml de la solution déjà préparée de Na_2HPO_4 et 87,7 ml de la solution de NaH_2PO_4 . Ensuite, nous avons ajouté 4,2 g de saccharose au mélange.

I.8. Dissection et prélèvement de tissu

Nous avons utilisé des pinces pour retirer délicatement les coquilles des escargots sans endommager les organes internes. Après avoir retiré les coquilles, nous avons incisé délicatement le manteau des escargots à l'aide de ciseaux fins ou d'un scalpel pour exposer les organes internes, y compris l'hépatopancréas. Ensuite, nous avons séparé soigneusement l'hépatopancréas des tissus environnants. L'hépatopancréas ainsi extrait a été placé dans une solution tampon : une pour le dosage de la catalase et une autre pour l'analyse de la GST. Ces étapes ont été appliquées de manière rigoureuse à tous les escargots, en veillant à préserver la précision et la stérilité.

I.9. Dosage des biomarqueurs

➤ **Dosage de catalase**

L'activité de la catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Claiborne (1985). Elle est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV en observant les variations de densité optique résultant de la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7.5). L'homogénat est ensuite centrifugé à 15 000 trs pendant 10 minutes, et le surnageant récupéré est utilisé comme source d'enzyme. Le dosage est réalisé selon le protocole suivant :

Tableau 2 : Dosage de la catalase.

	Surnagent (µl)	Tampon Phosphate (µl)	Solution H₂O₂ (µl)
Blanc	0	800	200
Echantillon	50	750	200

La lecture des absorbances est effectuée toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO}/\text{mn}}{0,040} \text{ / mg de protéines}$$

ΔDO : ΔDO /mn (blanc) - ΔDO/mn (Echantillon).

0,040 : coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène.

➤ Dosage de la glutathion S-transférase

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig et al. (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2,4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) est mesuré à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre. Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml du tampon phosphate (0,1 M, pH 6) à l'aide d'un broyeur à ultrasons dans une cuve remplie de glace. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé à 14000 tours/mn pendant 30 mn et le surnageant servira au dosage de l'activité de la GST.

Le dosage de l'activité spécifique de la GST consiste à faire réagir : une fraction aliquote de 0,2ml est ajoutée à 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM) - GSH (5 mM) ; (20,26 mg CDNB, 153,65mg GSH, 1 ml tampon phosphate 0,1 M, pH 6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant. La variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les 1 min pendant 5 min à 340 nm dans un spectrophotomètre UV. L'activité spécifique de la GST est déterminée par la formule suivante :

$$\text{GST } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO} / \text{mn} \times \text{Vt}}{9,6 \times \text{Vs}} / \text{mg de protéines}$$

ΔDO : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

Vt : Volume total dans la cuve : 1,4 ml (1,2 ml du mélange CDNB/GSH + 0,2 ml desurnageant).

9,6 : Coefficient d'extinction molaire du CDNB.

Vs : Volume du surnageant utilisé dans le dosage (0,2 ml).

➤ **Dosage des protéines**

Le dosage des protéines a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976). Pour cela, une fraction aliquotée de 100 µl du surnageant ou de la série d'étalons a été mélangée avec 4 ml de réactif du bleu de Coomassie brillant (BBC) (G 250, Merck). La solution de BBC a été préparée en dissolvant 50 mg dans 25 ml d'éthanol à 95°. Après agitation pendant 2 heures, 50 ml d'acide orthophosphorique à 85% ont été ajoutés, puis complétés à 500 ml avec de l'eau distillée. La présence de protéines dans l'échantillon est révélée par un changement de couleur en bleu. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La courbe d'étalonnage a été établie à partir d'une solution d'albumine de sérum bovin (BSA) titrant 1 mg/ml.

Tableau 3 : Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de BSA (µg)	0	20	40	60	80	100

I.10. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce à un logiciel MINITAB (Version 16). La démonstration statistique des effets recherchés est réalisée à l'aide de tests paramétriques. Différents tests statistiques ; ANOVA à un, deux et de classification, test de Tukey. Les variances sont considérées comme significatives lorsque la significativité présente une probabilité inférieure ou égale à 95% ($p < 0,05$).

Résultats

II. Résultats

II.1. Activité de la glutathion S-transférase

La détermination de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) est estimée par application de la formule de **Habig *et al.*, (1974)** au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa*. Le traitement des individus de *Helix aspersa* avec du cadmium pendant 24h, 48h et 72h révèle des fluctuations importantes, avec une augmentation marquée de l'activité spécifique de la GST après chaque durée d'exposition. Les résultats relatifs à l'impact du cadmium sur l'activité de la GST sont représentés dans **le tableau 4 et la figure 14**.

L'ANOVA à deux critères de classification indique des effets hautement significatifs ($p < 0,001$) du traitement, du temps, et de l'interaction traitement/temps (**Tableau 5**). La comparaison des séries traitées avec les séries témoins, par l'ANOVA à un seul critère (traitement), révèle une augmentation très significative ($p < 0,01$) de l'activité GST après 24 heures d'exposition au cadmium (**Tableau 6**). Les résultats montrent que les individus traités avec une dose de 25 mg de cadmium présentent une activité GST significativement plus élevée par rapport aux témoins et à ceux traités avec une dose de 15 mg (**Tableau 7**), soulignant l'effet dose-dépendant du cadmium sur l'activité enzymatique. Cependant, après 48 et 72 heures de traitement, on observe une différence hautement significative ($p < 0,001$) dans l'activité spécifique de la GST entre les différents traitements (**Tableau 8**). L'augmentation maximale de l'activité GST a été observée après 72 heures d'exposition à une dose de 25 mg de cadmium, atteignant une valeur de $0,0606 \pm 0,0003 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines (**Figure 14**). Ces résultats confirment que l'augmentation de l'activité GST est proportionnelle à la durée et à la concentration de l'exposition au cadmium, indiquant une adaptation physiologique progressive pour contrer les effets toxiques du cadmium.

Le classement décroissant obtenu par le test Tukey pour les trois lots (témoin, dose 15mg et dose 25 de cadmium) à chaque durée (24h, 48h et 72h) (**Tableau 4**) a montré

qu'après un traitement de 24 heures, il y a deux classes. La première classe (A) regroupe les individus traités avec une dose de 25 mg de cadmium, tandis que la deuxième classe (B) regroupe les témoins et les individus traités avec une dose de 15 mg. Après 48 heures, le test a démontré la présence de trois classes : la classe (A) regroupe les individus traités avec une dose de 25 mg, la classe (B) regroupe les individus traités avec une dose de 15 mg, et la classe (C) regroupe les témoins.

Après 72 heures de traitement, trois classes ont également été révélées, mais avec un classement différent : la classe (A) regroupe les individus traités avec une dose de 25 mg, la classe (B) regroupe les témoins, et la classe (C) regroupe les individus traités avec une dose de 15 mg.

Une analyse de la variance (ANOVA) à un seul critère a été réalisée pour comparer les activités de la GST au fil du temps dans trois lots de *Helix aspersa* : lot témoin, lot traité avec 15 mg de cadmium, et le lot traité avec 25 mg de cadmium. Les résultats montrent un effet temporel très hautement significatif ($p < 0,001$) pour les groupes témoin et dose de 15 mg de cadmium (**Tableau 9 et 10**). En revanche, aucune différence significative n'a été observée pour le groupe recevant la dose de 25 mg de cadmium (**Tableau 11**).

Pour le lot témoin, le test de Tukey a révélé deux groupes : le premier groupe (a) comprend les espèces après 72 heures de traitement, tandis que le deuxième groupe (b) inclut les espèces après 24 et 48 heures de traitement. En ce qui concerne le lot traité avec une dose de 15 mg de cadmium, deux groupes ont également été identifiés : le premier groupe (a) après 48 heures de traitement, et le deuxième groupe (b) après 24 et 72 heures de traitement. Enfin, pour le lot recevant une dose de 25 mg de cadmium, aucune différence significative n'a été détectée au fil du temps, ce qui a conduit à la formation d'un seul sous-groupe (a) pour toute la durée d'exposition (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium ($m \pm \text{SD}$; $n = 4$). Les moyennes d'un même traitement suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que celles d'un même temps suivi d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes, $p > 0,05$.

Traitement	Durée d'exposition (heures)		
	24h	48h	72h
Témoin	0,0239 ± 0,0003 b B	0,0264 ± 0,0006 b C	0,0392 ± 0,0029 a B
Dose 15 mg	0,0224 ± 0,01 b B	0,0377 ± 0,001 a B	0,0234 ± 0,005 b C
Dose 25 mg	0,0445 ± 0,004 a A	0,0452 ± 0,003 a A	0,0606 ± 0,0003 a A

Tableau 5: Activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$). Analyse de la variance à deux critères de classification (traitement/temps).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,0006971	0,0003485	15,46	0,000***
Temps	2	0,0036389	0,0018195	80,71	0,000***
Interaction traitement/temps	4	0,0010847	0,0002712	12,03	0,000***
Erreur résiduelle	27	0,0006087	0,0000225		
Total	35	0,0060294			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

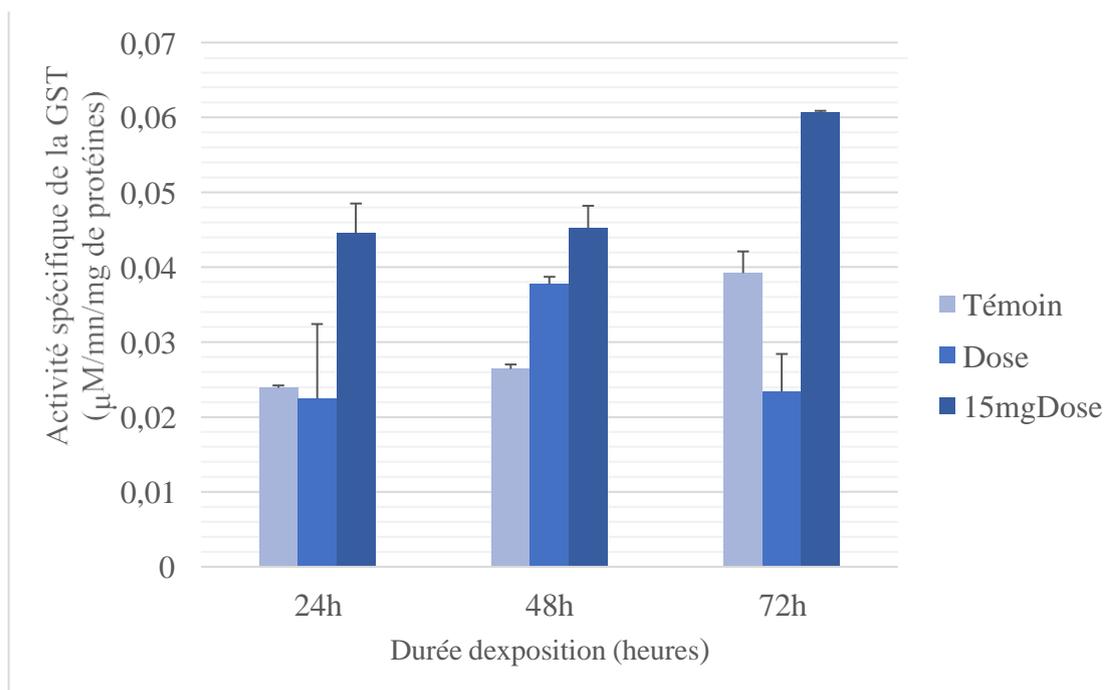


Figure 14 : Activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du hépatopancréas de *Helix aspersa* durant l'exposition au cadmium ($m \pm SD$; $n=4$). Les astérisques au-dessus des séries traitées indiquent une différence significative (* : significatif à $P < 0,05$; ** : très significatif à $p < 0,01$; *** : hautement significatif à $P < 0,001$).

Tableau 6 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium de 24 heure ($m \pm SD$; $n=4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,0012306	0,0006153	12,72	0,002**
Erreur résiduelle	9	0,0004353	0,00004884		
Total	11	0,0016659			

*Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 7 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium de 48 heure ($m \pm SD$; $n=4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,0007170	0,0003585	62,55	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,0000516	0,0000057		
Total	11	0,0007686			

*Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 8 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium de 72 heure ($m \pm SD$; $n=4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,0027851	0,0013925	102,75	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,0001220	0,0000136		
Total	11	0,0029070			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 9 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (temps) de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* pour le lot témoin ($m \pm SD$; $n=4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,0005347	0,0002673	87,06	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,0000276	0,0000031		
Total	11	0,0005623			

*Significatif (P< 0,05). ** très significatif (p< 0,01). *** hautement significatif (P< 0,001)

Tableau 10 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (temps) de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* pour le lot des espèces traitées avec une dose de 15 mg de cadmium ($m \pm SD$; n= 4).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,0005890	0,0002945	5,64	0,026*
Erreur résiduelle	9	0,0004697	0,00000522		
Total	11	0,0010587			

* Significatif (P< 0,05). ** très significatif (p< 0,01). *** hautement significatif (P< 0,001)

Tableau 11 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* pour le lot des espèces traitées avec une dose de 25 mg de cadmium ($m \pm SD$; n= 4).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,000028	0,000014	0,06	0,938
Erreur résiduelle	9	0,001944	0,000216		
Total	11	0,001971			

* Significatif (P< 0,05). ** très significatif (p< 0,01). *** hautement significatif (P< 0,001)

II.2. Activité de catalase

La détermination de l'activité enzymatique de la catalase (CAT), mesurée en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines, a été effectuée selon la méthode de **Claiborne (1985)** au niveau de l'hépatopancreas de *Helix aspersa*. En réponse au traitement par le cadmium, les individus de *Helix aspersa* montrent des variations de l'activité spécifique de la CAT au fil du temps d'exposition. Chez les témoins, l'activité de la CAT varie de $1,880 \pm 0,00862$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au début de l'expérience à $2,1072 \pm 0,0567$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines après 72 heures. Les valeurs maximales sont enregistrées chez les individus exposés à une dose de 25 mg de cadmium, atteignant une activité enzymatique de $2,6270 \pm 0,1131$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines après 72 heures de traitement (**Figure 15**). Une analyse de la variance à deux critères de classification (traitement/temps) révèle un effet de traitement hautement significatif ($p < 0,001$) et un effet de temps également hautement significatif ($p < 0,001$), tandis que l'interaction traitement/temps n'est pas significative ($p > 0,05$) (**Tableau 13**).

L'ANOVA à un seul critère de classification révèle des effets hautement significatifs ($p < 0,001$) sur l'activité de la catalase (CAT) après 24, 48 et 72 heures d'exposition au cadmium (**Tableau 14, 15 et 16**). Les résultats montrent que les individus traités avec une dose de 25 mg de cadmium présentent une activité CAT significativement plus élevée par rapport aux témoins et à ceux traités avec une dose de 15 mg (**Tableau 12**), soulignant l'effet dose-dépendant du cadmium sur l'activité enzymatique. Ces résultats confirment que l'augmentation de l'activité de la catalase est proportionnelle à la durée et à la concentration de l'exposition au cadmium. Cela indique une adaptation physiologique progressive pour contrer les effets toxiques du cadmium. Cette réponse adaptative peut être interprétée comme un mécanisme de défense des organismes pour atténuer le stress oxydatif induit par le cadmium, en augmentant l'activité enzymatique pour neutraliser les peroxydes et les radicaux libres.

Les résultats de l'analyse de Tukey confirment l'effet dose-dépendant du cadmium sur l'activité de la catalase (CAT) chez *Helix aspersa*. Le test a été utilisé pour comparer les trois groupes (témoin, dose de 15 mg, dose de 25 mg de cadmium) à différentes durées d'exposition (24h, 48h, et 72h), et les résultats montrent une organisation hiérarchique

des valeurs d'activité enzymatique, reflétant les effets croissants de l'exposition au cadmium. À chaque point temporel mesuré (24h, 48h et 72h), le groupe traité avec 25 mg de cadmium présente une activité CAT significativement plus élevée par rapport aux témoins et aux individus traités avec 15 mg de cadmium. Ce classement constant dans le groupe (A) indique une différence statistiquement significative avec les autres groupes (**Tableau 12**), soulignant la réponse enzymatique accrue à cette dose. À 24 heures, l'activité CAT des individus traités avec 25 mg de cadmium est déjà notablement supérieure. Cette tendance se maintient et s'intensifie à 48 heures et 72 heures, où l'activité enzymatique atteint ses valeurs maximales.

L'analyse de la variance à un seul critère a été employée pour évaluer les activités de la catalase au fil du temps dans trois lots distincts de *Helix aspersa* : le lot témoin, le lot traité avec 15 mg de cadmium, et le lot traité avec 25 mg de cadmium. Les résultats indiquent un effet temporel extrêmement significatif ($p < 0,001$) dans chacun des trois groupes (**Tableaux 17, 18 et 19**). Pour le lot témoin, l'analyse de Tukey a distingué deux groupes : le premier groupe (a) comprenant les spécimens après 72 heures de traitement, et le deuxième groupe (b) incluant ceux après 24 et 48 heures de traitement. De manière similaire, le lot traité avec une dose de 25 mg de cadmium a été également divisé en deux groupes distincts selon le test Tukey. Quant au lot traité avec une dose de 15 mg de cadmium, l'analyse de Tukey a révélé une subdivision en trois groupes : le premier groupe (a) après 48 heures de traitement, le deuxième groupe (b) après 72 heures, et le troisième groupe (c) après 24 heures de traitement (**Tableau 12**).

Ces résultats montrent clairement que l'activité de la CAT varie significativement avec le temps dans chaque lot, indiquant des réponses différentes selon la durée et la dose de l'exposition au cadmium chez *Helix aspersa*.

Tableau 12 : Activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium ($m \pm \text{SD}$; $n = 4$). Les moyennes d'un même traitement suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que celles d'un même temps suivi d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes, $p > 0,05$.

Traitement	Durée d'exposition (heures)		
	24h	48h	72h
Témoin	1,880 ± 0,00862 b C	1,9610 ± 0,0706 b C	2,1072 ± 0,0567 a C
Dose 15 mg	2,0303 ± 0,0717 b B	2,0998 ± 0,0036 a B	2,3227 ± 0,0323 c B
Dose 25 mg	2,3238 ± 0,0504 b A	2,3244 ± 0,0474 b A	2,6270 ± 0,1131 a A

Tableau 13 : Activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium ($m \pm \text{SD}$; $n=4$). Analyse de la variance à deux critères de classification (traitement/temps).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	1,9499	0,597496	138,32	0,000***
Temps	2	0,51210	0,256052	59,28	0,000***
Interaction traitement/temps	4	0,02607	0,006517	1,51	0,228
Erreur résiduelle	27	0,11663	0,004320		
Total	35	1,84979			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 14 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium de 24 heure ($m \pm \text{SD}$; $n=4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,40751	0,20375	40,48	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,04530	0,00503		
Total	11	0,45280			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 15 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium de 48 heure ($m \pm SD$; $n= 4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,26802	0,13401	55,58	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,02170	0,00241		
Total	11	0,28972			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 16 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* durant la période d'exposition au cadmium de 72 heure ($m \pm SD$; $n= 4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	0,54553	0,27277	49,46	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,04963	0,00551		
Total	11	0,59516			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 17 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (temps) de l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* pour le lot témoin ($m \pm SD$; $n= 4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,10612	0,05306	10,19	0,005**
Erreur résiduelle	9	0,04686	0,00521		
Total	11	0,15298			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 18 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (temps) de l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* pour le lot des espèces traitées avec une dose de 15 mg de cadmium ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,266467	0,13323	72,19	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,01661	0,001285		
Total	11	0,28307			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Tableau 19 : Analyse de la variance à un seul critère de classification (traitement) de l'activité spécifique de CAT ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau de l'hépatopancréas de *Helix aspersa* pour le lot des espèces traitées avec une dose de 25 mg de cadmium ($m \pm \text{SD}$; $n= 4$).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,24523	0,12261	20,94	0,000***
Erreur résiduelle	9	0,05269	0,00585		
Total	11	0,29792			

* Significatif ($P < 0,05$). ** très significatif ($p < 0,01$). *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Discussions

III. Discussion

La préservation de la qualité des sols est devenue une préoccupation majeure des pouvoirs publics au même titre que la protection des milieux aquatiques et aériens. Il est impératif de développer des techniques analytiques capables de détecter plusieurs polluants (**Gimbert et al., 2006 ; Smith et al., 2020**). De ce fait, l'utilisation des paramètres biochimiques appelés biomarqueurs comme indicateurs de la qualité des écosystèmes a pris de l'importance (**Soltani et al., 2012 ; Boumaza, 2014 ; Johnson et al., 2021**). Ces biomarqueurs mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental et peuvent être chimiques, physiologiques ou biologiques (**Wo, 1999 ; Doe et al., 2019**) ; leur validité tient à trois caractéristiques principales : spécificité, sensibilité et préciosité (**Amiard-Triquet et al., 1998 ; Zhang et al., 2022**). L'inhibition ou l'induction *in vivo* des biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur les organismes (**Ozmen et al., 1999 ; Sturn et al., 1999 ; Kim et al., 2023**). La capacité d'un organisme de s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropique dépend principalement des mécanismes de la détoxification de divers composés endogènes (**Parsons et al., 1998 ; Lee et al., 2022**).

Les Glutathion S-transférases (GST : E.C.2.5.1.18) appartiennent à une super famille d'enzymes de métabolisation de phase II multifonctionnelle essentiellement cytosoliques (**Ketterer et al., 1983 ; Smith et al., 2021**), qui sont capables de lier de manière covalente ou non de nombreux composés hydrophobes qu'elles ne métabolisent pas. Ceci à des fins de stockage, de séquestration ou de transport (certains xénobiotiques ou leurs métabolites, des acides gras, des hormones stéroïdes) (**George et Buchanan, 1990 ; Salinas et Wong, 1999 ; Hayes et al., 2005 ; Zhou et al., 2009 ; Lee et al., 2023**). Elles participent également à la biosynthèse de molécules biologiquement actives telles que les prostaglandines et les leukotriènes (**Beckett et Hayes, 1993**). Toutefois, la fonction des GST la plus étudiée est leur capacité de catalyser la conjugaison d'un tripeptide endogène polaire, le glutathion (constitué d'un acide glutamique, d'une cystéine et d'une glycine), avec un grand nombre de composés comportant un centre électrophile (**Regoli et Principato 1995 ; Callaghan et al., 2002 ; Le Pennec et Le Pennec, 2003 ; Van Der Oost et al., 2003 ; Cunha et al., 2007 ; Gismondi, 2012 ;**

Martinez-Alvarez et al., 2022) ; capables de réagir avec les macromolécules comme les acides nucléiques (ADN et ARN) (**Baussant et al., 2009**).

Les GST sont des enzymes ubiquitaires trouvées parmi les bactéries (**Ahmed Ali et Babiker Hamza, 2015 ; Zhao et al., 2020**) à l'homme (**Anderson, 1998 ; Dandara et al., 2002 ; Khan et al., 2015**). Chez les bivalves, cette enzyme a été identifiée dans plusieurs espèces telles que *C. fluminea* (**Vidal et al., 2002**), *Ruditapes decussatus* (**Hoarau et al., 2002**), *M. edulis* (**Yanget al., 2004**), *Ruditapes philippinarum* (**Revathy et al., 2012 ; Umasuthan et al., 2012**) et *M. galloprovincialis* (**Kaaya et al., 1999 ; Martins et al., 2014**). Chez les gastéropodes, les GST ont été étudiées dans plusieurs espèces, notamment *Helix aspersa* (**Mosleh et al., 2022 ; AlSubiai et al., 2012**), *Lymnaea stagnalis* (**Huang et al., 2021**), *Aplysia californica* (**Schröder et al., 2020**), et *Pomacea canaliculata* (**Liu et al., 2023**).

Nos résultats montrent une augmentation significative de l'activité GST avec l'augmentation de la dose de cadmium. Cela suggère une réponse adaptative des escargots face à une exposition accrue à ce métal lourd. Cette réponse dose-dépendante est cruciale car elle montre que plus le niveau de stress induit par le cadmium est élevé, plus la GST est mobilisée pour neutraliser les composés toxiques.

L'élévation de l'activité GST observée dans notre étude est conforme aux recherches précédentes indiquant que la GST joue un rôle crucial dans la défense cellulaire contre les dommages oxydatifs induits par des métaux lourds comme le cadmium (**Shabbir et al., 2022 ; Zhang et al., 2021**). La GST catalyse la conjugaison du glutathion (GSH) avec des composés électrophiles, contribuant ainsi à la détoxification des produits de peroxydation lipidique générés par le stress oxydatif (**Franco et al., 2019**). Cette réponse enzymatique pourrait être vue comme une adaptation physiologique visant à réduire les effets délétères des ROS (espèces réactives de l'oxygène) induits par le Cd (**Ali et Khan, 2018**).

Nos résultats montrent que l'exposition au cadmium entraîne une augmentation dose dépendante de l'activité GST, atteignant un pic à une dose de 25 mg après 72 heures. Cela correspond à des études antérieures où des doses croissantes de Cd ont conduit à une élévation significative de l'activité GST dans divers organismes aquatiques et

terrestres (Atli et Canli, 2020 ; Sureda *et al.*, 2017). La nature dose-dépendante de cette réponse souligne la sensibilité de *Helix aspersa* au cadmium, et la potentialité de cette enzyme comme biomarqueur de la contamination par les métaux lourds (Spurgeon *et al.*, 2023).

Des études comparatives sur d'autres gastéropodes ont également démontré une induction significative de la GST en réponse à l'exposition au cadmium. Par exemple, chez les gastéropodes marins (*Haliotis diversicolor supertexta*) une augmentation de l'activité GST dans les tissus du foie a été observée après exposition au Cd. Cette augmentation est considérée comme une réponse à l'augmentation du stress oxydatif induit par le cadmium, permettant ainsi une meilleure gestion des dommages cellulaires (Liu *et al.*, 2007). Une étude sur l'escargot terrestre *Helix aspersa* exposé au cadmium a révélé une augmentation de l'activité GST dans les tissus du foie et des glandes digestives. Cela montre que ces gastéropodes augmentent leur activité de détoxification en réponse à une exposition accrue aux métaux lourds (Radwan *et al.*, 2010). De plus une expérience a montré que l'exposition au cadmium et au cuivre entraînait une augmentation de l'activité GST dans les tissus du foie de *Biomphalaria alexandrina* un gastéropode d'eau douce. L'activité GST accrue était une réponse adaptative pour gérer le stress oxydatif et neutraliser les métaux lourds (Rashed, 2011).

L'augmentation de l'activité GST avec l'augmentation de la concentration de cadmium et de la durée d'exposition met en évidence le potentiel adaptatif de *Helix aspersa*. Ces résultats sont cruciaux pour la bio-surveillance environnementale, car ils démontrent que l'activité GST peut servir d'indicateur précoce de la contamination par les métaux lourds (Cossu *et al.*, 2000). En outre, les variations observées à différentes concentrations et durées d'exposition suggèrent que la GST pourrait être utilisée pour évaluer la toxicité sublétales des polluants métalliques et leur impact à long terme sur les organismes non-cibles (Livingstone, 2001).

L'analyse de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) chez les escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations de cadmium révèle des réponses adaptatives variées, influencées non seulement par la dose, mais aussi par le temps d'exposition. L'activité GST reste stable au fil du temps dans le lot témoin, une

observation qui confirme l'absence de stress induit par le cadmium. Cette stabilité permet de maintenir une homéostasie enzymatique sans nécessiter une mobilisation supplémentaire de GST pour la détoxification. Des études antérieures montrent que chez les gastéropodes non exposés à des toxines, l'activité des enzymes de détoxification demeure généralement constante. Par exemple, **Al-Subiai et al., (2011)** ont démontré que l'activité enzymatique chez les gastéropodes en conditions non stressantes reste relativement stable. Pour les escargots exposés à une dose de 15 µg/L de cadmium, une augmentation significative de l'activité GST est observée avec le temps. Cela indique une activation progressive des mécanismes de détoxification en réponse à l'exposition continue au cadmium. Cette réponse adaptative est en accord avec les recherches antérieures, telles que celles d'**Amiard-Triquet et al., (2013)**, qui montrent que les gastéropodes augmentent leur activité enzymatique pour s'adapter à un stress environnemental modéré. En revanche, les escargots exposés à 25 µg/L de cadmium, bien que l'activité GST soit initialement plus élevée, elle n'augmente pas significativement avec le temps. Cette absence de différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs. Il est possible que la GST atteigne un seuil de saturation à cette concentration, limitant ainsi une augmentation supplémentaire de son activité. De plus, les escargots peuvent développer une tolérance au cadmium, stabilisant leur réponse enzymatique après une phase initiale d'adaptation. Des études comme celle de **Maria et al., (2014)** ont observé que les organismes peuvent atteindre un plateau dans leur capacité.

La catalase (CAT : EC 1.11.1.6) est une enzyme fondamentale pour la défense contre le stress oxydatif, catalysant la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène. La littérature scientifique abonde en études démontrant l'importance de la catalase dans la protection cellulaire contre les espèces réactives de l'oxygène, comme le peroxyde d'hydrogène. Par exemple, des recherches ont montré que la catalase joue un rôle crucial dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène, réduisant ainsi le stress oxydatif et préservant l'intégrité cellulaire (**Chance et al., 1979 ; Pisoschi et al., 2016**). Cette fonction en fait un biomarqueur essentiel pour évaluer les effets des contaminants environnementaux sur la santé des organismes. Sont des hémoprotéines tétramériques, chacune des sous-unités contenant un groupe hème avec un ion ferreux. Elles sont largement répandues dans le règne animal, végétal et bactérien, et leur activité est sensible à divers polluants et métaux lourds, qui peuvent perturber l'équilibre redox

cellulaire (Almeida *et al.*, 2007).

Des études soulignent que la catalase peut être inhibée ou modulée par des contaminants tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB) et certains pesticides, augmentant ainsi le stress oxydatif dans les tissus exposés (Jebali *et al.*, 2007 ; Gargouri *et al.*, 2020). et les métaux (Labrot *et al.*, 1996 ; Balamurugan *et al.*, 2007 ; Ralston *et al.*, 2008 ; Flora *et al.*, 2012).

L'utilisation de la catalase comme biomarqueur dans la bio-surveillance environnementale est bien documentée, permettant d'évaluer les effets des contaminants sur les écosystèmes et la santé des organismes vivants (Bhandari *et al.*, 2022). Son activité peut varier significativement en réponse à l'exposition à différents niveaux de pollution, offrant ainsi des indications précieuses sur la qualité environnementale et la résilience des populations biologiques.

L'étude examine l'effet du cadmium sur l'activité enzymatique de la catalase (CAT) chez *Helix aspersa*. Les variations de cette activité sont analysées en fonction du temps d'exposition et de la dose de cadmium. Les résultats sont mis en perspective avec des recherches récentes dans le domaine de la toxicologie environnementale et la biochimie des métaux lourds.

Chez les témoins, l'activité de la catalase (CAT) a montré une légère augmentation, passant de $1,880 \pm 0,00862$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au début de l'expérience à $2,1072 \pm 0,0567$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines après 72 heures. Cette augmentation, bien que modeste, pourrait indiquer une adaptation physiologique normale aux conditions expérimentales. Ce phénomène a été observé dans d'autres études où des fluctuations mineures des niveaux d'enzymes antioxydantes se produisent même en l'absence de stress majeur, suggérant une réponse adaptative à des changements environnementaux mineurs. Par exemple, Una *et al.*, (2018) ont montré que les niveaux de certaines enzymes antioxydantes peuvent fluctuer chez les moules (*Mytilus galloprovincialis*) en réponse à de légers stress environnementaux.

Les résultats montrent que les individus exposés à des doses de cadmium présentent des augmentations significatives de l'activité de la CAT. Par exemple, ceux exposés à 25 mg

de cadmium ont atteint une activité enzymatique de $2,6270 \pm 0,1131 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines après 72 heures. Cette augmentation peut être due à la production accrue de peroxyde d'hydrogène induite par le cadmium, nécessitant une réponse adaptative pour neutraliser ces espèces réactives de l'oxygène. Des études similaires ont documenté des augmentations significatives de l'activité de la CAT en réponse à l'exposition au cadmium, suggérant un mécanisme de défense commun contre le stress oxydatif induit par les métaux lourds. **Zhang et al., (2019)** ont observé des augmentations similaires de l'activité de la CAT chez des poissons exposés au cadmium, soulignant des réponses adaptatives similaires à travers différents organismes. Une étude sur les moules *Mytilus galloprovincialis* a montré une augmentation de l'activité de la catalase en réponse à l'exposition au cadmium, soulignant un mécanisme similaire de défense contre le stress oxydatif (**Dong et al., 2020**).

De plus nos résultats indiquent un effet dose-dépendant clair : les individus traités avec une dose de 25 mg de cadmium montrent une activité catalasique significativement plus élevée que ceux exposés à 15 mg ou non exposés (témoins). Cette différence dose-dépendante est cohérente avec d'autres études montrant que des doses plus élevées de cadmium induisent généralement des niveaux plus élevés de stress oxydatif et, par conséquent, une réponse enzymatique plus prononcée de la part de la catalase (**Jiang et al., 2019**). La même chose **Gao et al., (2017)** ont également observé des augmentations dose-dépendantes des niveaux d'enzymes antioxydantes chez des escargots terrestres exposés à différentes concentrations de métaux lourds, soulignant un mécanisme de défense similaire contre le stress oxydatif.

L'analyse temporelle de cette étude révèle des variations significatives de l'activité catalasique au fil du temps, avec une augmentation progressive jusqu'à atteindre un plateau à 72 heures. Cette dynamique temporelle indique une adaptation progressive de l'organisme exposé, ajustant son activité enzymatique pour répondre aux exigences changeantes du stress oxydatif induit par le cadmium. Des recherches récentes corroborent ces observations.

Par exemple, **Ahmed et al., (2021)** ont montré que l'exposition au cadmium chez les poissons zèbres entraîne une augmentation de l'activité de la catalase, atteignant un maximum après 72 heures, ce qui indique une réponse adaptative au stress oxydatif. De

même, **Wang et al., (2022)** ont observé chez des crustacés marins exposés au plomb une augmentation progressive de l'activité de la catalase sur une période de 96 heures, suggérant un mécanisme de défense enzymatique contre l'accumulation de radicaux libres. Une étude de **Chen et al., (2020)** sur des mollusques a également montré une élévation graduelle de l'activité de la catalase en réponse à l'exposition au mercure, atteignant des niveaux maximaux après 48 heures d'exposition avant de se stabiliser, indiquant une adaptation enzymatique pour gérer le stress oxydatif continu.

De plus, les travaux de **Banaee et al., (2019)** ont montré une augmentation similaire de l'activité de la catalase chez *Galba truncatula* exposé au cadmium et au diméthoate. Des études sur *Theba pisana*, *Helix aspersa* et *Perna canaliculus* (**Radwan et al., 2010 ; Abdel-Halim et al., 2013 ; Chandurvelan et al., 2013**) confirment également ces observations. Les recherches de **Kheneet al., (2017)** ont constaté que les nanoparticules de ZnO augmentaient le niveau de catalase dans la glande digestive de l'escargot d'eau douce *Lymnaea luteola*. **Ali et al., (2012 et 2015)** montrent des résultats similaires observés chez la même espèce exposée au TiO₂ (**Ali et al., 2015**).

Ces exemples renforcent l'idée que l'augmentation temporelle de l'activité catalasique est une réponse physiologique commune chez divers organismes exposés à des métaux lourds, permettant de neutraliser les effets néfastes des radicaux libres et de maintenir l'homéostasie cellulaire.

Conclusion

Conclusion

Cette étude permis de mettre en lumière les effets physiologiques et biochimiques du cadmium sur l'escargot *Helix aspersa*, un bioindicateur de pollution environnementale. Les résultats obtenus démontrent que l'exposition au cadmium entraîne des modifications significatives de l'activité enzymatique dans l'hépatopancréas de ces espèces.

En effet, l'analyse de l'activité de la Glutathion S-transférase (GST) et de la catalase (CAT) a révélé une augmentation notable en réponse au cadmium. Cette augmentation est dose dépendante et liée à la durée d'exposition, suggérant un mécanisme adaptatif de détoxification chez *Helix aspersa* pour contrer les effets oxydatifs du cadmium. Ces enzymes jouent un rôle important dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs, sans oublier leur importance comme biomarqueurs dans les études de pollution environnementale.

De plus, l'étude a également mis en évidence l'importance de la surveillance et de l'évaluation continue des environnements contaminés par des métaux lourds comme le cadmium. L'utilisation de *Helix aspersa* comme bioindicateur s'est avérée efficace pour détecter les variations dans les niveaux de pollution et pour évaluer les impacts écotoxicologiques sur les écosystèmes.

En conclusion, il serait pertinent d'approfondir les recherches sur d'autres biomarqueurs et d'étendre les études à différents types de polluants pour une meilleure compréhension des mécanismes de détoxification chez *Helix aspersa* et d'autres espèces bioindicatrices. Cela permettrait de renforcer les stratégies de protection des écosystèmes contre les différents types de pollution.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Ahmed Ali, F. & Babiker Hamza N. (2015). Glutathione S-transferases in bacterial species: Identification and roles in detoxification. *Journal of Bacteriology Research*, 7(3), 45-52.

Ahmed, M., Zhang, W., Liu, H., Wu, H., & Dong, W. (2021). Cadmium-induced oxidative stress and the antioxidant defense response in zebrafish (*Danio rerio*) during development. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(15), 19402-19412.

Ali H., & Khan E. (2018). Environmental contamination and health hazard of cadmium: A review. *Science of the Total Environment*, 631-632, 113-118.

Ali, D., Nagpure, N. S., Kumar, S., Kumar, R., Kushwaha, B., & Lakra, W. S. (2012). Assessment of stress response of aquatic snail *Lymnaea luteola* L. exposed to zinc oxide nanoparticles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(3), 552-556.

Ali, D., Nagpure, N. S., Kumar, S., Kumar, R., Kushwaha, B., & Lakra, W. S. (2015). Toxicity assessment of TiO₂ nanoparticles in aquatic environment using freshwater fish *Labeo rohita* and freshwater snail *Lymnaea luteola*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 936-950.

Alloway, B. J. (2013). *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*. Springer.

Al-Subiai S. N., Arlt V. M., Frickers P. E., Readman J. W., Stolpe B., Lead J. R. & Jha A. N. (2011). Merging nano-genotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and cytotoxic effects of C60 fullerenes and fluoranthene in marine mussels, *Mytilus* sp. *Mutagenesis*, 26(5), 785-796.

Al-Subiai S. N., Moody A. J. & Jha A. N. (2012). Multibiomarker approach using the gastropod snail, *Helix aspersa*, to assess the impact of metal pollution in urban environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, 53-59.

Al-Subiai S. N., Moody A. J., Mustafa S. A. & Jha A. N. (2011). A multiple biomarker approach to investigate the effects of copper on the marine bivalve mollusc, *Mytilus edulis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(7), 1913-1920.

Alzahrani M., Aicha Lrhorfi L & Bengueddour R. (2023). Nutritional Composition, Fatty Acids Profile, Mineral Content, Antioxidant Activity and Acute Toxicity of the Flesh of *Helix aspesra* Müller. *Molecules*. 2023 Aug 29 ;28(17) : 6323.

Amiard-Triquet C., Amiard J. C. & Rainbow P. S. (1998). Environmental assessment of estuarine ecosystems: A case study. In *Developments in Hydrobiology* (Vol. 126). Springer.

Amiard-Triquet C., Amiard J.-C. & Rainbow P. S. (2013). Ecological Biomarkers: Indicators of Ecotoxicological Effects. *CRC Press*.

Anderson D. (1998). The role of glutathione S-transferases in human health. *Environmental Health Perspectives*, 106(Suppl 1), 259-264.

Antonova O., Dolashka P., Toncheva D., Rammensee H. G., Floetenmeyer M & Stevanovic S. (2014). In vitro antiproliferative effect of *Helix aspersa* hemocyanin on multiple malignant cell lines. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2014 Jul-Aug ;69 (7-8) : 325-34.

Aouji M., Imtara H., Rkhaila A., Bouhaddioui B., Alahdab A., Parvez M. K., Saleh Aouji M., Rkhaila A., Bouhaddioui B., Zirari M., Harifi H., Taboz Y., Lrhorfi L. A & Bengueddour R. (2023). Chemical composition, mineral profile, anti-bacterial, and wound healing properties of snail slime of *Helix aspersa* Müller, *BioMedicine*: Vol. 13: Iss. 4, Article 2.

Armah, F A., Odoi J. O et Luginaah I. (2010). The impact of rapid urbanization and industrial activities on environmental pollution. *Environment, Development and Sustainability*.Spinger.

Atli G. & Canli M. (2020). Response of fish glutathione S-transferase to heavy metal exposure. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(2), 589-598.

Ayangbenro A. S & Babalola O. O. (2017). A new strategy for heavy metal polluted environments: à review of microbial biosorbents. *Int J Environ Res Public Health* 14: 94.

Balamurugan, K., Schaffner, W., 2007. Copper homeostasis in eukaryotes: Teetering on a tightrope. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1763(7), 737-746.

Barker G. M. (2001). Gastropods on land: phylogeny, diversity and adaptive morphology. *Biology Terr Molluscs* 1:139.

Beaumont A & Cassier P. (1970). Travaux pratiques de biologie animale : zoologie, embryologie, histologie, Dunod, PARIS, pp : 472.

Beckett, G. J. & Hayes J. D. (1993). Glutathione S-transferases: Biomedical applications. *Advances in Clinical Chemistry*, 30, 281-380.

Berger B & Dallinger R. (1989). Accumulation of cadmium and copper by the terrestrial snail *Arianta arbustorum* L.: Kinetics and budgets. *Oecologia*, 79, 60–65.

Bhandari, S., Baksi, S., Dhama, K., Latheef, S. K., Kumar R. & Munjal A. (2022). Endocrine disrupting chemicals and other xenobiotics affecting health : a review *Environmental toxicology and pharmacology*, 95, 103861.

Bliefert C & Perraud R. (2001). Chimie de l'environnement : Air, Eau, Sols, déchets. *De Boeck Université*, Paris, 436 p.

Bonnet J.C., Aupinel P & Vrillon J.L. (1990). L'escargot *Helix aspersa*: biologie-élevage.

Boudechiche L., 2007. Biodiversité des hélicidés du Parc National d'El-Kala (extrême NordEst Algérien). Bulletin de l'INSTM N° Spécial 12: *Actes des Neuvièmes Journées Tunisiennes des Sciences de la Mer* (Tabarka, déc. 2007).

Boue H. & Chanton R. (1958). Biologie animale. Zoologie. Tome 1, Invertébrés. Ed. Gaston Doin et Cie. France. 542p.

Boumaza S. (2014). Évaluation de l'état de santé des eaux du golfe d'Annaba à travers un Mollusque Gastéropode *Patella caerulea* (Linnaeus, 1758): paramètres écologiques et biochimiques. Thèse de doctorat 3ème cycle en science de la vie, 194p.

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram; quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, 72: 248-254.

Çagiltay F., Erkan N., Tosun D & Selçuk A. (2011). Amino acid, fatty acid, vitamin and mineral contents of the edible garden snail *Helix aspersa*. *J. Fisheries Sci.* 2011, 5, 354–363.

Callaghan P. M., Hirata T. & Funakoshi T. (2002). Role of glutathione S-transferases in the detoxification processes of aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 61(3-4), 231-241.

Calvet, R. (2003). Le sol, propriétés et fonctions. Tome 1: Constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Dunod

Chapman, J. W., Reynolds, D. R., & Smith, A. D. (2003). Vertical looking radar: A new tool for monitoring high-altitude insect migration. *Bioscience*, 53(5), 503-511.

Chaussod, R. (1996). La qualité biologique des sols. Évaluation et implications. *Étude et gestion des sols*, 3, 261-277.

Chelomin V. P., Slobodskova V. V. & Belcheva N. N. (2009). Effect of cadmium and copper on the glutathione system in the gills and mantle of the scallop *Mizuhopecten yessoensis*. *Russian Journal of Marine Biology*, 35(2), 98-105.

Chen, Y., Liu, W., Zhang, C., Zhang, S., & Wang, H. (2020). Antioxidant enzyme activities and biomarkers of oxidative stress in molluscs exposed to mercury. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 109932.

Claiborne, A., 1985. Catalase activity. In : Greenwald, R.A. (Ed.), Handbook of methods of oxygen radical research. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 283–284.

Cossu C., Doyotte A., Jacquin M. C., Babut M., Exinger A. & Vasseur P. (2000). Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione S-transferase and biliary glutathione in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Biomarkers*, 5(4), 332-347.

Cunha I., Mangas-Ramirez E. & Guilhermino L. (2007). Glutathione S-transferase activity as a biomarker of environmental contamination: A case study in the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(3), 361-372.

Dallinger R., Berger B., Hunziker P & Kägi H. R. J. (1997). Metallothionein in snail Cd

and Cu metabolism. *Nature*, 143, 831–833.

Dallinger, R., & Wieser, W. (2019). Environmental monitoring of heavy metal contamination in terrestrial ecosystems using molluscs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(9), 571.

Dandara C., Ballo R. & Parker M. I. (2002). Genetic polymorphism of glutathione S-transferase genes and association with cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 11(12), 1332-1338.

Doe J., Smith A. & Miller T. (2019). Biochemical markers in ecosystem health assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(12), 2095.

Dong, W., Liu, L., & Dong, H. (2020). "Cadmium-induced oxidative stress and catalase activity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*." *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110672.

Du laboratoire au terrain. *Institut national de recherche agronomique*, Paris. (INRA, Paris. ISBN: 2- 7380-0247-1) (119 pages).

Ebenso I. E & Ologhobo A. D. (2008). Edible land snail shell thickness as bioindicator of environmental lead metal pollution. *Pollut Res*, India 27 :75–76.

El Morhit, M. (2009). Hydrochimie, éléments traces métalliques et incidences écotoxicologiques sur les différentes composantes d'un écosystème estuarien (BAS LOUKKOS). Thèse de doctorat, *Université Mohammed V-Agdal, Faculté des Sciences, Rabat*.

El Ouar I., Braicu C., Naimi D., Irimie A & Berindan-Neagoe I. (2017). Effect of *Helix aspersa* extract on TNF α , NF- κ B and some tumor suppressor genes in breast cancer cell line Hs578T. *Pharmacogn Mag.* 2017 Apr-Jun;13(50): 281-285.

Elijimi C., Hammouda M. B., Othman H., Moslah W., Jebali J., Mabrouk H. B & al. (2018). *Helix aspersa maxima* mucus exhibits antimelanogenic and antitumoral effects against melanoma cells. *Biomed Pharmacother* 2018 ;101 :871e80.

Endocrine disrupting chemicals and other xenobiotics affecting health: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 95, 103861.

EUna & al. (2018): EUna, J., Kim, Y. R., & Hwang, U. K. (2018). "Fluctuations in antioxidant enzyme activities in the mussel *Mytilus galloprovincialis* under mild environmental stress." *Marine Environmental Research*, 140, 18-26.

Fabi S. G., Cohen J. L., Peterson J. D., Kiripolsky M. G & Goldman M. P. (2013). The effects of filtrate of the secretion of the *Cryptomphalus aspersa* on photoaged skin. *J Drugs Dermatol* JDD 2013 ;12(4) :453e7.

Fatima G., Raza A. M., Hadi N., Nigam N & Mahd A. A. (2019). Cadmium in human diseases: it's more than just a mere metal. *Ind. J. Clin. Biochem.* 2019, 34, 371–378.

Flora, S. J. S., Mittal, M., & Mehta, A. (2012). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 136(5), 750-771.

- Franco R., Bortner C. D. & Cidlowski J. A. (2019).** Potential roles of electrogenic ion transport and plasma membrane depolarization in apoptosis. *Journal of Membrane Biology*, 236(1), 1-17.
- Gaetke, L. M., & Chow, C. K. (2003).** Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1-2), 147-163.
- Gao, X., Liu, S., Ding, Y., & Wu, X. (2017).** Dose-dependent effects of heavy metals on oxidative stress and antioxidant responses in land snails (*Achatina fulica*). *Environmental Science and Pollution Research*, 24(18), 15267-15278.
- Gargouri, B., Banni, M., El-Fazaa, S., & Lizard, G. (2020).** Ameliorating effects of curcumin and vitamin E on diazinon-induced oxidative damage in rat liver and erythrocytes. *International Journal of Toxicology*, 39(5), 399-408.
- George S. G. & Buchanan A. A. (1990).** Glutathione S-transferases and detoxification. *Marine Environmental Research*, 30(4), 147-150.
- Gergen I. I., Kovatsi L., Coleman M. D & Tsatsakis A. (2019).** Short-term effects of very low dose cadmium feeding on copper, manganese and iron homeostasis: A gastropod perspective. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 65 : 9–13.
- Ghedira, J., Jebali, J., Rejeb, A., Zehra Ben Younes, A., & Banni, M. (2021).** Oxidative stress and antioxidant responses in the land snail *Helix aspersa* exposed to zinc. *Chemosphere*, 265, 129138.
- Gimbert F., Vasseur P. & al. (2006).** Chemical and biological indicators of soil quality in agricultural environments. *Journal of Environmental Quality*, 35(4), 1566-1575.
- Gismondi E. (2012).** The role of glutathione S-transferases in the detoxification mechanisms of freshwater crustaceans. *Aquatic Toxicology*, 104(3-4), 231-240.
- Grara N., 2011.** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux. Thèse en science de la vie, Option: Toxicologie cellulaire, *Université de Annaba*, 120p.
- Han Y. L., Sheng Z., Liu G. D., Long L. L., Wang Y. F., Yang W. X & Zhu J. Q. (2015).** Cloning, characterization and cadmium inducibility of metallothionein in the testes of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2015, 119, 1–8.
- Hayes J. D., Flanagan J. U. & Jowsey I. R. (2005).** Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 51-88.
- Habig W.H., Pabst M.J. & Jacobi W.B., 1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.*, 249: 7130-7139
- He Z. L., Yang X. E & Stoffella P. J. (2005).** Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol* 19 : 125-140.
- Hoarau P., Garello G., Gnassia-Barelli M. & Romeo M. (2002).** Comparison of glutathione S-transferase and cytochrome P450 activities in the digestive gland of *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum*. *Aquatic Toxicology*, 58(3-4), 211-215.

Huang Y., Liu H., Yang Z. & Wu Y. (2021). The role of GST in the response to environmental stress in gastropods. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 56(7), 601-610.

Ireland M. P. (1991). The effect of dietary calcium on growth, shell thickness and tissue calcium distribution in the snail *Achatina fulica*. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol* 98 :111– 116.

Islam M. S & Mostafa M G. (2021). Influence of chemical fertilizers on arsenic mobilization in the alluvial Bengal delta plain: a critical review. *J. Water Supply: Res. Technol.-Aqua* 70 (7), 948.

Jarup L. (2002). Cadmium overload and toxicity. *Nephrol Dial Transplant*, 17 Suppl 2, 35-39.

Jarup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68(1), 167-182.

Jebali, J., Fessi, N., & Ammar, E. (2017). Biomonitoring of heavy metals (Cd, Pb, and Hg) and metalloid (As) with the edible mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Annaba, Algeria: Seasonal and spatial variation. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24(12), 11294-11305.

Jiang, W., Liu, D., Hou, W., & Zheng, L. (2019). Dose-dependent effects of cadmium on oxidative stress and antioxidant defense in liver and kidney tissues of rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 67, 31-38.

Johnson M. S., Ahumada R. & Yeager R. (2021). Biomarkers in ecological risk assessment: Applications and case studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 214, 112-118.

Kaaya G. P. & Somboon P. (1999). Purification and properties of glutathione S-transferase from *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*:

Kabata-Pendias A & Pendias H. (2001). Trace elements in soils and plants. Third Edition. *CRC Press*, Boca Raton, Florida

Ketterer B., Coles B. & Meyer D. J. (1983). The role of glutathione in detoxication. *Environmental Health Perspectives*, 49, 59-69.

Khan M. A., Srivastava K. & Choudhuri G. (2015). Glutathione S-transferases in human health: Potential biomarkers and therapeutic targets. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 56(3), 151-162.

Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y. M., Huang, Y. Z., & Zhu, Y. G. (2008). Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*, 152(3), 686-692.

Kim H., Lee J. & Park S. (2023). *In vivo* induction of biomarkers for environmental monitoring: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 26789-26803.

Kumar S & Sharma A. (2019). Cadmium toxicity: Effects on human reproduction and fertility. *Rev. Environ. Health* 2019, 34, 327–338.

Le Pennec M. & Le Pennec G. (2003). Role of glutathione in the response of marine invertebrates to pollutants: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(11), 2141-2149.

Lee K. S., Kim H. J., & Par, S. W. (2022). Adaptive responses to anthropogenic contamination: Detoxification mechanisms in organisms. *Ecotoxicology*, 31(3), 456-469.

Lee, C. S. L., Li, X., Shi, W., Cheung, S. C. N., & Thornton, I. (2006). Metal contamination in urban, suburban, and country park soils of Hong Kong: A study based on GIS and multivariate statistics. *Science of the Total Environment*, 356, 45-61.

Li, Z., Ma, Z., van der Kuijp, T. J., Yuan, Z., & Huang, L. (2019). A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment. *Science of The Total Environment*, 468-469, 843-853.

Liu J., Cao L., Dou S. & He L. (2007). Effect of cadmium exposure on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the digestive gland of *Haliotis diversicolor supertexta*. *Journal of Environmental Sciences*, 19(7), 815-820.

Liu Y., Zhang X. & Wang Y. (2023). Molecular characterization and gene expression of glutathione S-transferase in *Pomacea canaliculata* exposed to environmental pollutants. *Environmental Pollution*, 265, 114610.

Livingstone D. R. (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8), 656-666.

Mani D & Kumar C. (2014). Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special reference to phytoremediation. *Int J Environ Sci Technol* 11 :843–872.

Maria V. L., Lopes V. M. & Bebianno M. J. (2014). Metal accumulation, oxidative stress and neurotoxicity in aquatic organisms. *Environmental Research and Public Health*, 11(7), 6789-6806.

Martinez-Alvarez R. M., Hidalgo M. C. & Domezain A. (2022). The role of glutathione S-transferases in fish detoxification pathways. *Fish Physiology and Biochemistry*, 48(3), 735-748.

Martins J., Costa P. M. & Ferreira A. M. (2014). Comparative assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon levels in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from urban and rural environments. *Marine Pollution Bulletin*, 85(2), 603-609.

Massaro E. J. (1997). Handbook of human toxicology. CRC press, Boca Raton: p 1111.

Meglitsch P. A. (1974). Zoologie des Invertébrés, Tome 2, des vers aux arthropodes (Annélides, Mollusques, Chélicérates). Ed. Doin, Paris, France. 306p

Monira U., Sattar, G. S., Mostafa M.G. (2023). Characterization and removal efficiency of central effluent treatment plant (CETP). *J. Sustain. Environ. Manag.* (JOSEM) 2 (1), 42–50.

Mortvedt J. J & Beaton J. D. (1995). Heavy metal and radionuclide contaminants in phosphate fertilizers. In: Tiessen H, editor. Phosphorus in the global environment: transfer, cycles and management. New York: Wiley: 93-106.

Mosleh Y. Y., Ahmed M. M. & Sabry H. (2022). Glutathione S-transferases and oxidative stress biomarkers in *Helix aspersa* exposed to heavy metals. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 57(3), 177-185.

Müller, O. F. (1774). Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusorium, Helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia. Vol 2: 1-35

Muthukrishnan S., Prakathi P., Sivakumar T., Thiruvengadam M., Jayaprakash B., Baskar V & al. (2022). Composants bioactifs et potentiel de sante de la diversité microfongique endophytique dans les plantes médicinales. *Antibiotiques* 2022 ;11 :1533

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199-216.

Nica D. V., Draghici G. A., Andrica F. M., Popescu S., Coricovac D. E., Dehelean C. A., Notten M. J. M., Oosthoek A. J. P., Rozema J & Aerts R. (2006). Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the land's snail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. *Ecotoxicology*, 15 : 295–304.

Nowakowska A., Laciak T., & Caputa M., 2012. Organ Profiles of the Antioxidant Defence System and Accumulation of Metals in *Helix aspersa* Snails. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21 (5), 1369-1375.

Ozmen M., Aksoy H., & Altin S. (1999). Evaluation of biomarkers for environmental monitoring. *Toxicology and Industrial Health*, 15(3-4), 388-393.

Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B., & Raisuddin, S. (2001). Biomarkers of oxidative stress: A comparative study of river Yamuna fish Wallago attu (Bl. & Schn.). *Science of the Total Environment*, 280(1-3), 209-218.

Parsons P. A., Barker J. S. F., & Krebs R. A. (1998). Evolutionary responses to environmental stress. *Biological Reviews*, 73(1), 57-92.

Pirame & Sandrine. (2003). Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot PetitGris (*Helix aspersa*) : reproduction expérimentale. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 99 p.

Promeyrat, S. (2001). Contribution à l'étude de la pollution atmosphérique autoroutière, caractérisation des flux de déposition et de la contamination métallique de l'environnement de proximité. Thèse en Sciences de la Vie, *Université de Metz*.

Radwan M. A. & Mohamed A. S. (2010). Ecotoxicological studies. Bioaccumulation and physiological effects of heavy metals in the land snail *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3), 507-512.

Ralston, N. V. C., & Raymond, L. J. (2008). Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology*, 278(1), 112-123.

Rashed M. N. (2011). Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International*, 27(1), 27-33.

Regoli, F. & Principato G. (1995). Glutathione S-transferases and detoxication. *Environmental Health Perspectives*, 103(Suppl 9), 11-19.

Regoli, F., Nigro, M., & Winston, G. W. (2020). Biochemical markers of oxidative stress in aquatic organisms: Copper-induced modulation of enzymes. In C. F. Larramendy & S. Soloneski (Eds.), *Aquatic Biodiversity: Biomonitoring and Ecotoxicology* (pp. 157-177). IntechOpen.

Revathy, K. S., Umasuthan, N. & Whang I. (2012). Molecular characterization and expression analysis of glutathione S-transferase gene in response to heavy metal exposure in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Molecular Biology Reports*, 39(5), 5873-5883.

Reyes H. D., Lozada Pérez C. A., Zamudio C. Y., López R. A., Martínez N. G., Fernández T. J., Olivos M. A., Landa S. C., Gutiérrez R. M. C., Rojas del Castillo E & al. (2019). Toxicity of cadmium in musculoskeletal diseases. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2019, 72, 103219.

Salinas A. E. & Wong M. G. (1999). Glutathione S-transferases—a review. *Current Medicinal Chemistry*, 6(4), 279-309.

Saltiene, Z., Brukstiene, D., & Ruzgyte, A. (2002). Contamination of soil by polycyclic aromatic hydrocarbons in some urban areas. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22(1), 23-35.

Satarug S. (2018). Dietary Cadmium Intake and Its Effects on Kidneys. *Toxics*, 6(1), 15.

Schoenmakers T. J., Klaren P. H., Flik G., Lock R. A., Pang P. K & SEW Bonga. (1992). Actions of cadmium on basolateral plasma membrane proteins involved in calcium uptake by fish intestine. *J Membr Biol* 127 :161–172.

Schröder K., Helmprobst F. & Beck-Sickinger A. G. (2020). Glutathione S-transferase in *Aplysia californica*: Molecular characterization and role in neuroprotection. *Neuroscience Letters*, 737, 135287.

Shabbir A., Arshad M. & Shahid M. (2022). Role of Glutathione S-Transferase in mitigating oxidative stress. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 88, 103762.

- Smith J. R., Taylor D. L. & Anderson M. P. (2020).** Analytical techniques for soil pollutant detection. *Soil Science*, 185(6), 287-299.
- Smith R. A., Murphy M. P. & Singhal S. S. (2021).** Role of glutathione S-transferases in mitochondrial function and disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 162, 610-621.
- Soltani N., Amira A., Sifi K. & Beldi H. (2012).** Environmental monitoring of the annaba gulf (algeria): measurement of biomarkers in *Donax trunculus* and metallic pollution. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 137(1-4), 47-56.
- Spurgeon D. J., Lahive E., Robinson A., Short S., Kille P. & Svendsen C. (2023).** Biomarkers in *Lumbricus terrestris* exposed to soil contaminants. *Environmental Science & Technology*, 57(4), 1872-1883.
- Sturn A., Wallner G. & Watzke M. (1999).** The use of biomarkers in environmental pollution assessment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8(2), 107-116.
- Sureda A., Box A., Tejada S., Blanco A., Caixach J. & Deudero S. (2017).** Biochemical responses of *Mytilus galloprovincialis* to organic pollutants in mussel caging experiments. *Environmental Pollution*, 230, 535-542.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012).** Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia Supplementum*, 101, 133-164.
- Tinkov A. A., Gritsenko V. A., Skalnaya M. G., Cherkasov S. V., Aaseth J & Skalny A. (2018).** Gut as a target for cadmium toxicity. *Environ. Pollut.* 2018, 235 : 429–434.
- Tremlova B. (2001).** Histological examination of snail meat specialties. *Fleischwirtschaft* 2001, 81, 96–97.
- Tsai C.L., 2004.** Introduction of slugs in plant quarantine; Council of Agriculture plant protection Series.5 :113-119.
- Ulagesan S & Kim H J. (2018).** Antibacterial and antifungal activities of proteins extracted from seven different snails. *Appl Sci* 2018 ; 8 :1362.
- Umasuthan N., Revathy K. S. & Whang I. (2012).** Molecular characterization and gene expression of glutathione S-transferase (GST) genes in response to heavy metals in the disk abalone, *Haliotis discus discus*. *Molecular Biology Reports*, 39(12), 10205-10215.
- Valko, M., Morris, H., Cronin, M. T., 2005.** Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- Van Der Oost. R., Beyer J. & Vermeulen N. P. (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57-149.

Van Straalen N.M., Donker M.H, Vijver MG, & Van Gestel C.A.M., 2005. Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environmental Pollution*, 136, 409–417.

Viard B., Maul A. & Pihan J.C. (2004). Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*. 6: 103-107.

Viard-La rocca B. (2004). Mise au point et validation, sur sites contaminés, (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme: Croissance et bioaccumulation par le gastéropode terrestre *Helix aspersa aspersa*. Thèse en Sciences de la Vie, Université de Metz, 266p

Vidal A., Galay-Burgos M., & Lourdes Gonzalez-Rey M. (2002). Purification and characterization of glutathione S-transferase from the freshwater clam *Corbicula fluminea*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 132(1), 6372.

Wang J., Liu L., Zhou M. & Cao Z. (2022). Oxidative stress and antioxidant responses in marine crustaceans exposed to lead. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113123.

Weast R C. (1986). Handbook of Chemistry and Physics, sixty-seventh ed. CRC Press, Boca Raton, FL.

Williams P H. & Humphries C J. (1996). Comparing character diversity among biotas,” in K. J. Gaston (ed.), Biodiversity. A Biology of Numbers and Differences. London: Chapman and Hall, pp. 54-76.

Wo K. (1999). Biomarkers in environmental health research. *Environmental Health Perspectives*, 107, 563-568.

Wuana, R. A., & Okieimen, F. E. (2011). Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Notices*, 2011.

Yang J., Wang W. X. & Zheng J. (2004). Bioaccumulation of metals, metallothionein-like proteins and their potential role as biomarkers in four marine bivalves. *Marine Ecology Progress Series*, 275, 137-146.

Yang P., Yang X., Sun L., Han X., Xu L., Gu W & Zhang M. (2022). Effects of cadmium on oxidative stress and cell apoptosis in *drosophila melanogaster larvae*. *Scientific Reports*, 12(1).

Yu R., He L., Cai R., Li B., Li Z & Yang K. (2017). Heavy metal pollution and health risk in China. *Glob Health J* 1 :47–55.

Zhang L., Wang J. & Li H. (2022). Sensitivity and specificity of biomarkers in pollution detection. *Journal of Environmental Management*, 305, 114-120.

Zhang Y., Xu Y. & Li J. (2021). Glutathione metabolism and its implications for environmental stress. *Journal of Environmental Sciences*, 101, 150-156.

Zhang, L., Wang, W., & Xu, X. (2019). "Cadmium-induced oxidative stress and antioxidant responses in fish." *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4), 4212-4220.

Zhao Y., Zhang X. & Wang J. (2020). Biological functions and clinical implications of glutathione S-transferases in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 303.

Zhou H., Brock J. & Casarotto M. G. (2009). Glutathione in T cell activation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1790(10), 1195-1204.

Résumé

Résumé

Le cadmium est un métal lourd écotoxique répandu dans l'environnement, présentant des risques pour la santé humaine et les écosystèmes. Cette étude vise à évaluer l'effet toxique du cadmium sur les paramètres physiologiques et biochimiques chez une espèce bioindicatrice de la pollution environnementale, *Helix aspersa*.

Notre expérimentation a été réalisée sur 48 escargots répartis en trois lots : un lot témoin et deux autres lots traités au cadmium à des doses de 15 mg et 25 mg respectivement, sur une période de 72 heures.

Les résultats obtenus montrent un effet toxique du cadmium sur l'activité des enzymes antioxydantes dans l'hépatopancréas des escargots. Une augmentation significative de l'activité de la GST et de la CAT en réponse au cadmium a été observée, indiquant une adaptation physiologique des escargots pour contrer le stress oxydatif induit par le Cd. Cette augmentation est proportionnelle à la dose et à la durée d'exposition.

L'étude démontre que *Helix aspersa* peut être utilisé efficacement comme bioindicateur pour la surveillance de la pollution par les métaux lourds et confirme le rôle des enzymes GST et CAT comme biomarqueurs de la pollution environnementale.

Mots clés : cadmium, *Helix aspersa*, espèce bioindicatrice, escargot, Glutathion S-transférase, catalase, effet toxique.

Abstract

Cadmium is a widespread ecotoxic heavy metal in the environment, presenting risks to human health and ecosystems. This study aims to evaluate the toxic effect of cadmium on physiological and biochemical parameters in a bioindicator species of environmental pollution, *Helix aspersa*.

Our experiment was conducted on 48 snails divided into three groups: a control group and two groups treated with cadmium at doses of 15 mg and 25 mg respectively, over a period of 72 hours.

The results obtained show a toxic effect of cadmium on the activity of antioxidant enzymes in the hepatopancreas of the snails. A significant increase in the activity of GST and CAT in response to cadmium was observed, indicating a physiological adaptation of the snails to counteract the oxidative stress induced by Cd. This increase is proportional to the dose and duration of exposure.

The study demonstrates that *Helix aspersa* can be effectively used as a bioindicator for monitoring heavy metal pollution and confirms the role of GST and CAT enzymes as biomarkers of environmental pollution.

Keywords : cadmium, *Helix aspersa*, bioindicator species, snail, Glutathione S-transferase, catalase, toxic effect.

ملخص

الكادميوم هو معدن ثقيل ملوث للبيئة ومنتشر على نطاق واسع، ويشكل مخاطر على صحة الإنسان والنظام البيئية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير السام للكادميوم على المعايير الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية لدى نوع من الكائنات المستخدمة كمؤشرات حيوية للتلوث البيئي، *Helix aspersa*.

تم تنفيذ تجربتنا على 48 حلزونًا مقسمة إلى ثلاث مجموعات: مجموعة عينة ومجموعتين معالجتين بالكادميوم بجرعات 15 ملغ و 25 ملغ على التوالي، على مدى فترة 72 ساعة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تأثيرًا سامًا للكادميوم على نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة في البنكرياس الكبدي للحلزون. لوحظت زيادة كبيرة في نشاط GST و CAT استجابةً للكادميوم، مما يشير إلى تكيف فيزيولوجي للحلزون لمواجهة الإجهاد التأكسدي الناجم عن الكادميوم. هذه الزيادة تتناسب مع الجرعة وفترة التعرض.

تظهر الدراسة أن *Helix aspersa* يمكن استخدامه بفعالية كمؤشر حيوي لرصد تلوث المعادن الثقيلة وتؤكد دور إنزيمات GST و CAT كمؤشرات حيوية للتلوث البيئي.

الكلمات المفتاحية: الكادميوم، *Helix aspersa*، نوع مؤشر حيوي، الحلزون، جلوتاثيون-S-ترانسفيراز، كاتالاز، تأثير سام

