



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE THESE DE
DOCTORAT EN SCIENCE
SPECIALITE: *BIOLOGIE ANIMALE*

Intitulé

**Rôle des micromolécules des produits naturels
dans la détoxification du mercure chez les mammifères:
*Impact sur le métabolisme des minéraux,
le système immunitaire et reproducteur***

Présentée par
M^{me} MOUMEN Yasmina

Membre de jury

KHELLILI Kamel	Pr	Président	Université d'Annaba
ABDENNOUR Cherif	Pr	Dir. de Thèse	Université d'Annaba
NECIB Youcef	Pr	Examineur	Université de Constantine 1
LALAOUI Koraichi	Pr	Examineur	Université de Constantine 1

2016-2017

Très chers parents,

A vous, je dédie ce travail

*Pour votre soutien permanent pendant
mes loooooongues années d'études*

Remerciement

Au nom de Dieu le clément, le grand merci lui revient pour nous avoir donné le courage et la patience de mener à terme ce travail.

Il m'est agréable ici de présenter mes remerciements à tout un petit monde de personnes qui ont rendu possible la présente étude et qui ont contribué à son élaboration sous quelque forme que ce soit. D'abord,

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à tous les membres du jury pour avoir bien voulu accepter de consacrer du temps à l'évaluation de ce travail.

Monsieur KHELILI Kame1. Professeur à l'université BADJI Mokhtar d'Annaba.
*Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.
Sincères remerciements.*

Monsieur NECIB Youcef Professeur à l'université de Constantine 1.
*Qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.
Sincères remerciements.*

Monsieur LALAOUI Koraichi. Professeur à l'université de Constantine 1
*Qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.
Sincères remerciements.*

Monsieur ABDENNOUR Cherif. Professeur à l'université BADJI Mokhtar d'Annaba qui a initié ce travail et qui m'a dirigé dans sa réalisation,
Il n'a cessé de me prêter son soutien scientifique depuis le début de mon stage de DES. Il m'a permis également de poursuivre mon travail de recherche dans un esprit scientifique rigoureux, son écoute attentive, ainsi que ses vastes connaissances physiologiques et toxicologiques m'ont été d'une aide précieuse. Je lui adresse ma plus profonde gratitude.

Je remercie tous ceux qui de près et de loin, ont participé à réaliser ce travail.

Monsieur CHAKERIDA Waheb. Chef du service au laboratoire d'analyses biochimiques de l'hôpital de Tamalous. Pour son aide et son accueil au sein du laboratoire.
Sincères remerciements.

J'adresse mes remerciements à toute l'équipe de laboratoire d'Anatomie pathologie, hôpital Aïn-Mlila; Dr Tamranet, médecin anapathologiste, BAHRI Fatiha chef du service de laboratoire d'anatomie pathologique, et les techniciennes du laboratoire; Hala, Wahida, Kaoutar et les autres, pour tous les échanges techniques, scientifiques et pour leur sympathie, leur accueil chaleureux pendant 15 jours de stage.

*Merci aux étudiantes que j'ai eu la joie et le plaisir d'encadrer: BOUCHOUAREB et BENMEDDOUR.
Pour leur rigueur et leur contribution à ce travail.*

DJEMIL Randa pour son aide dans la réalisation des analyses de spermogramme et statistique.
Et pour notre amitié sincère qui a su résister au temps et à la distance.

J'adresse, enfin et surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, mon père, mes sœurs, mes frères, mon mari et mes enfants Anis et Firas, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, ainsi qu'à tous mes proches amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.

A tous un grand merci

Liste des figures

1	Le protocole expérimental	26
2	Variations de concentration de fer sérique (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.	39
3	Variations de concentration de calcium sérique (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	40
4	Variations de concentration de phosphore sérique (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.	41
5	Variations de concentration de glucose (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.	42
6	Variations de concentration de protéines totales (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.	43
7	Variations de concentration de cholestérol (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	44
8	Variations de concentration de triglycérides (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	45
9	Variations de concentration de l'urée (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	46
10	Variations de concentration de la créatinine (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	47
11	Variations de l'activité de TGO transaminases (IU/L) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	48
12	Variations de l'activité de TGP transaminases (UI/L) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	49
13	Variations de concentration de spermatozoïdes ($\times 10^6/\text{ml}$) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	83
14	Variations de la vitesse de spermatozoïdes (mm/s) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	84
15	Variations du nombre de spermatozoïdes mobiles (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	85
16	Variations de nombre de spermatozoïdes vivants (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	86

17	Variations de concentration de la testostérone (ng/ml) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	87
18	Variations de poids relatif du foie (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	111
19	Variations de poids relatif du rein (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	112
20	Variations de poids relatif du testicule (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	113
21	Variations de poids relatif de la rate (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement	114
22	Foie de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3 et 4). 1 et 3, Vue générale. x 100, 2 et 4, Hépatocytes. x 400	116
23	Foie de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Vue générale. x 100, 2, 4 et 6, Hépatocytes. x 400	118
24	Rein de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3 et 4). 1 et 3, Corpuscule rénal. x 630, 2 et 4, Tubules rénaux. x 630	120
25	Rein de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Corpuscule rénal. x 630, 2, 4 et 6, Tubules rénaux. x 630	122
26	Testicule de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3 et 4). 1 et 3, Vue générale de tubes séminifères. x 100. 2 et 4, Spermatogénèse x 630	124
27	Testicule de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Vue générale de tubes séminifères. x 100. 2, 4 et 6, Spermatogénèse x 630	126
28	Intestin de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3, 4 et 5). 1 et 3, Vue générale. x 100. 2, 4 et 5, Villosités intestinales x 630	128
29	Intestin de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Vue générale. x 100. 2, 4 et 6, Villosités intestinales x 630	130

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
ALP	Phosphatase alcaline osseuse
$C_8H_8HgO_2$	Acétate de phénylmercure
$C_8H_{14}O_2S_2$	Acide alpha lipoïque ou lipoate
CaBP	Calcium binding protein
CAT	Catalase
-CH ₃	Groupe méthyle
$(CH_3)_2Hg$	Diméthylmercure
CH_3HgCl	Chlorure de méthylmercure
ClO^-	hypochlorite
COOH	Groupe carboxyle
CT	Calcitonine
DMSA	Acide dimercaptosuccinique
DMPS	Acide 2,3-dimercapto-1-propane-sulfonique
EDTA	Acide éthylène diamine tétra acétique
EPO	Erythropoïétine
$FeCl_3$	Chlorure ferrique
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathion-S-transférase
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
H_2SO_4	Acide sulfurique
Hg^0 ou $Hg(0)$	Mercure élémentaire ou métallique
Hg^{2+}	Mercure oxydé
$HgCl_2$	Chlorure de mercure
HgI	Iodure de mercure
HgS	Sulfure de mercure ou cinabre
$HgSO_4$	Sulfate de mercure
HgO	Oxyde de mercure
LPO	Peroxydation lipidique
$MeHg^+$	Méthylmercure

MSM	Méthylsulfonylméthane
MT	métallothionine
NAC	N-acetylcysteine
NaHCO ₃	Bicarbonate de sodium
O ₂ ^{•-} ou O ₂ ⁻	Anion superoxyde
¹ O ₂	Oxygène singulet
OH*	Radical hydroxyle
PTH	Parathormone
ROO*	Radical peroxyde
ROS	Reactive oxygen species
Se	Sélénium
-SH	Groupe thiol ou sulfhydryl
SO ₂	Oxyde de soufre
SOD	Superoxyde desmutase
TGO ou AST	Glutamyl-oxaloacétate transférase
TGP ou ALT	Glutamyl-pyruvate transférase
TMB	Tétraméthyl benzidine
TRAP	Phosphatase acide tartrate résistante
Zn	Zinc
ZnCl ₂	Chlorure de zinc

Sommaire

Chapitre I: Introduction générale

I-1- Introduction générale	01
I-2- Références bibliographiques	18

Chapitre II: Variations des paramètres biochimiques

II-1- Introduction	22
II-2- Matériels et méthodes	24
II-2-1- Matériels biologiques	24
II-2-2- Conditions d'élevage	24
II-2-3- Control du poids corporel	24
II-2-4- Traitement	25
II-2-4-1- Le mercure	25
II-2-4-2- La vitamine C	25
II-2-4-3- La datte	25
II-2-5- Protocol expérimental	26
II-2-6- Prélèvement du sang	26
II-2-7- Dosage des paramètres biochimique	27
II-2-7-1- Dosage du fer	27
II-2-7-2- Dosage du calcium	28
II-2-7-3- Dosage du phosphore	29
II-2-7-4- Dosage du glucose	30
II-2-7-5- Dosage des protéines totales	31
II-2-7-6- Dosage du cholestérol	32
II-2-7-7- Dosage des triglycérides	33
II-2-7-8- Dosage de l'urée	34
II-2-7-9- Dosage de la créatinine	35
II-2-7-10- Dosage des transaminases	36
II-2-8- Etude statistique	38
II-3- Résultats	39
II-3-1- Fer	39
II-3-2- Calcium	40

II-3-3- Phosphore	41
II-3-4- Glucose	42
II-3-5- protéines totales	43
II-3-6- Cholestérol	44
II-3-7- Triglycérides	45
II-3-8- Urée	46
II-3-9- Créatinine	47
II-3-10- TGO	48
II-3-11- TGP	49
II-4- Discussion	50
II-5- Références bibliographiques	65

Chapitre III : Système reproducteur

III-1- Introduction	75
III-2- Protocol expérimental	77
III-2-1- Prélèvement du sperme	77
III-2-2- Etude microscopique des spermatozoïdes	77
III-2-2-1- Concentration de spermatozoïdes	77
III-2-2-2- Vitesse de spermatozoïdes	78
III-2-2-3- Mobilité de spermatozoïdes	79
III-2-2-4- Vitalité de spermatozoïdes	79
III-2-3- Dosage hormonal; testostérone plasmatique par ELISA	80
III-2-3-1- Principe du test	80
III-2-3-2- Recueil et conservation des échantillons	81
III-2-3-3- Composition du kit de la testostérone	81
III-2-3-4- Equipement et matériel	81
III-2-3-5- Protocole opératoire	82
III-2-3-6- Calcul des résultats	82
III-2-4- Etude statistique	82
III-3- Résultats	83
III-3-1- Concentration	83
III-3-2- Vitesse.....	84
III-3-3- Mobilité	85

III-3-4- Vitalité.....	86
III-3-5- Testostérone.....	87
III-4- Discussion	88
III-5- Références bibliographiques	95

Chapitre IV: Variations pondérales et histologiques

IV-1- Introduction	101
IV-2- Protocol expérimental	103
IV-2-1- Prélèvement des organes	103
IV-2-2- Détermination du poids relatif des organes	103
IV-2-3- Etude histologique	104
IV-2-3-1- Le but	104
IV-2-3-2- Le prélèvement et la fixation des échantillons	104
IV-2-3-3- La déshydratation	105
IV-2-3-4- L'inclusion à la paraffine	106
IV-2-3-5- La réalisation des coupes	108
IV-2-3-6- Coloration des échantillons	108
IV-2-3-7- Montage et lecture des lames	110
IV-2-4- Etude statistique	110
IV-3- Résultats	111
IV-3-1- Poids relatif du foie	111
IV-3-2- Poids relatif du rein	112
IV-3-3- Poids relatif du testicule	113
IV-3-4- Poids relatif de la rate	114
IV-3-5- Coupes histologiques du foie	115
IV-3-6- Coupes histologiques du rein	119
IV-3-7- Coupes histologiques du testicule	123
IV-3-8- Coupes histologiques de l'intestin	127
IV-4- Discussion	131
IV-5- Références bibliographiques	143
Conclusion générale et perspective	151

Résumé

Des lapins domestiques mâles *Oryctolagus cuniculus* ont été exposés à l'HgCl₂ seul (Hg), combiné à la vitamine C (Hg-VC), au palmier dattier (Hg-DN), à la vitamine C et palmier dattier (Hg-VC-DN) pendant une période de six semaines, afin d'estimer le rôle protecteur de ces composants contre l'intoxication mercurielle.

Les paramètres suivants ont été mesurés ; poids relatifs et l'histologie des organes cibles à l'intoxication mercurielle (foie, rein, testicule et intestin), TGO, TGP, les protéines totales, les triglycérides, le cholestérol, l'urée, la créatinine, le glucose, le fer, le calcium, le phosphore et la testostérone. Ainsi, un spermogramme épидидymaire (concentration, vitesse, mobilité, vitalité) a été effectué.

Les résultats obtenus ont montré :

La fonction hépatique : Concernant la fonction hépatique, le poids relatif du foie a été diminué modérément chez tous les groupes traités en comparaison avec le témoin, ainsi que, les taux des protéines totales, cholestérol et triglycérides ont été augmenté chez les groupes Hg, Hg-VC et Hg-DN par rapport au témoin, alors que, le groupe Hg-VC-DN a montré une légère modification.

En revanche, une réduction notable de l'activité hépatique traduisant par une diminution de l'activité des transaminases TGO et TGP chez le groupe Hg par rapport au témoin, tandis que, une activité intense de TGO et TGP s'est manifesté chez le groupe Hg-VC-DN par rapport aux autres groupes traités. Le traitement par la vitamine C et la datte chez les groupes Hg-DN et Hg-VC a amélioré modérément l'activité de ces enzymes.

La fonction rénale : La fonction rénale a été perturbée par le mercure, une augmentation significative du poids relatif du rein chez le groupe Hg, alors que, le groupe traité Hg-VC a montré une diminution modérée par rapport au témoin, des taux d'urée et de créatinine sérique élevés chez le groupe Hg en comparaison avec le témoin, les autres groupes traités ont montré une augmentation modérée par rapport au témoin.

La fonction pancréatique : Il est évident que l'exposition au mercure peut avoir une incidence sur le pancréas, la détérioration et le mauvais fonctionnement pancréatique a entraîné une hypoglycémie chez le groupe Hg par rapport au témoin, cependant, la légère amélioration chez les autres groupes traité a prouvé l'effet préventif de la vitamine C et de la datte.

Les taux des minéraux ont perturbé par le mercure, le taux de fer a augmenté, le taux de calcium a diminué modérément, alors que, une augmentation notable de taux de phosphore a été enregistré chez le groupe Hg par rapport au témoin. En revanche, la diminution du taux de phosphore est notable chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN par rapport au témoin.

La fonction testiculaire : La concentration, la vitesse, la mobilité et la viabilité des spermatozoïdes épидидymaire, le poids relatif de testicules et le taux de testostérone plasmatique ont été estimés. Les résultats ont montré une légère augmentation du poids relatif de testicule chez le groupe Hg-VC-DN par rapport au témoin. La concentration de testostérone a diminué de façon significative chez le groupe traité par mercure seul Hg et le groupe traité à la combinaison Hg-VC. Le taux d'hormone chez le groupe Hg-VC-DN a été proche de celui du témoin, une diminution de la vitesse, la mobilité et la vitalité a été observée chez le groupe Hg, alors que, les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN ont montré une amélioration par rapport au groupe Hg.

L'étude histologique: L'aspect histologique du foie, rein, testicule et intestin traduit les changements et les dommages provoqués par le mercure; dégénérescence membranaire, nécrose des hépatocytes, noyaux pycnotiques et caryolyse au niveau du foie, des altérations tubulaires et glomérulaires au niveau rénales, dilatation tubulaire, dégénérescence membranaire et exfoliation de bordure en brosse de l'épithélium tubulaire rénal. Au niveau de testicule le traitement par mercure a entraîné un rétrécissement des parois des tubes séminifères, une absence de spermatozoïdes matures et dégénérescence de cellules de Leydig, les altérations intestinales se sont manifestées au niveau de la muqueuse intestinale, la nécrose, des cellules caliciformes abondantes et une desquamation de la muqueuse. Cependant, les changements sont moins importants chez les autres groupes traités.

Mots clés: Chlorure de mercure, Stress oxydatif, Deglet Nour, Vitamine C, Antioxydant, Santé.

Summary

Male domestic rabbits *Oryctolagus cuniculus* were exposed to HgCl_2 alone (Hg), combined with vitamin C (Hg-VC), the date palm (Hg-DN), vitamin C and date palm (Hg-VC-DN) for a period of six weeks, to estimate the protective role of these components against mercury poisoning.

The following parameters were measured, relative weights and histology target organs for mercury poisoning (liver, kidney, intestine and testis), GOT, GPT, total protein, triglycerides, cholesterol, urea, creatinine, glucose, iron, calcium, phosphorus and testosterone. Also, an epididymal sperm (concentration, speed, motility, vitality) was performed.

The obtained results showed the following:

Liver function: On hepatic function, the relative liver weight was moderately decreased in all treated groups compared with the control, and the rate of total protein, cholesterol and triglyceride were increased in groups Hg, Hg-VC and Hg-DN compared with the control, whereas the group Hg-VC-DN showed a slight modification.

However, a remarkable reduction of liver activity resulted in a decreased activity of transaminases GOT and GPT in the group Hg compared with the control, while an intense activity of GOT and GPT occurred in Hg-VC-DN group compared to other treatment groups. Treatment with vitamin C and dates in groups Hg-DN and Hg-VC has moderately improved the activity of these enzymes.

Renal function: Renal function was disrupted by mercury, a significant increase in the relative weight of the kidney in the group Hg, while the Hg-VC treated group showed a moderate decrease compared with the control, rates urea and serum creatinine levels elevated the Hg group compared with the control, the other treatment groups showed a moderate increase compared to the control.

Pancreatic function: It is clear that exposure to mercury can affect the pancreas, damage and dysfunction caused pancreatic hypoglycemia in the group Hg compared to the control, however, the slight improvement in the treated groups showed the effect prevention of vitamin C and dates.

Rates appeared to disrupt minerals by mercury, iron levels increased, calcium levels decreased moderately, while a significant increased in phosphorus levels in the Hg group

compared to control. However, the decrease in phosphorus levels is significant in Hg-VC, Hg-DN and Hg-VC-DN groups compared to control.

Testicular function: Epididymal sperm concentration, speed, motility and viability, the relative weight of testes and plasma testosterone levels were estimated. The results showed a slight increase in the relative weight of testis in the group Hg-VC-DN compared to control. Testosterone levels decreased significantly in the group treated with mercury alone (Hg) and the group treated with the combination Hg-VC. The hormone levels in group Hg-VC-DN was close to that of the control, a decrease in speed, motility and vitality was observed in the Hg group compared with the control, Whereas, the Hg-VC, Hg-DN and Hg-VC-DN treated groups showed an improvement compared with the Hg treated group.

Histological study: The histology of the liver, kidney, intestine and testis reflects the changes and damage caused by mercury; membrane degeneration, hepatocyte necrosis, pycnotic nuclei and caryolysis in the liver, renal tubular and glomerular changes, tubular dilation, membrane degeneration and brush border exfoliation of the renal tubular epithelium. In the testis, mercury treatment resulted in narrowing of the seminiferous tubules, absence of mature spermatozoa and degeneration of Leydig cells. Intestinal alterations occurred in the intestinal mucosa, necrosis, abundance of goblet cells and desquamation of the mucosa.

However, changes are less important in other treatment groups indicating that antioxidants are essential to prevent cells and tissues from oxidative damage caused by mercury.

Key words: Mercury chloride, Oxidative stress, Deglet Nour, Vitamin C, Antioxidant, Health.

الملخص

تم تعريض ذكور أرانب من سلالة *Oryctolagus cuniculus* إلى كلوريد الزئبق وحده Hg، مضاف إليه الفيتامين ج Hg-VC، الثمور Hg-DN، أو الفيتامين ج مع الثمور Hg-VC-DN لمدة ستة أسابيع و ذلك بهدف تقدير الدور الوقائي لهذه المركبات ضد التسمم بالزئبق.

العايير المدروسة كانت كالتالي: الأوزان النسبية والدراسة النسيجية للأعضاء المستهدفة من طرف الزئبق (الكبد، الكلية، الخصية والأمعاء)، TGO، TGP، البروتينات الكلية، ثلاثي الغليسريد، الكولسترول، اليوريا، الكرياتينين، الغليكوز، الحديد، الكالسيوم، الفوسفور والثستسترون، بالإضافة إلى تقدير الخصائص البيولوجية للحيوانات المنوية (تركيز، سرعة، حركة وحيوية الحيوانات المنوية). النتائج المتحصل عليها تظهر:

الوظيفة الكبدية: أظهرت النتائج المتعلقة بالوظيفة الكبدية أن الوزن النسبي للكبد قد ارتفع قليلا عند كل الأفواج المعاملة مقارنة بالشاهد، كذلك ارتفع تركيز البروتينات الكلية، الكولسترول وثلاثي الغليسريد عند الأفواج Hg، Hg-VC و Hg-DN مقارنة بالشاهد، في حين سجلت تغيرات طفيفة عند الفوج Hg-VC-DN.

من جهة أخرى، سجل انخفاض كبير في النشاط الكبدي انعكس في انخفاض تركيز TGO و TGP عند الفوج Hg مقارنة بالشاهد، في حين ظهر نشاط مكثف لكل من TGO و TGP عند الفوج Hg-VC-DN بالمقارنة مع بقية الأفواج المعاملة، كما سجل تحسن في نشاط هذه الأنزيمات عند الأفواج المعاملة بالفيتامين ج Hg-VC والثمور Hg-DN.

الوظيفة الكلوية: بسبب تأثير الزئبق حدثت اضطرابات في وظائف الكلى، حيث سجلت زيادة معنوية في الوزن النسبي للكلى عند الفوج المعامل بالزئبق Hg، بينما أظهر الفوج Hg-VC انخفاض طفيف مقارنة بالفوج الشاهد، بينما تراكيز اليوريا والكرياتينين فقد كانت مرتفعة عند الفوج Hg مقارنة بالشاهد، كما أظهرت بقية الأفواج المعاملة زيادة طفيفة مقارنة بالشاهد.

الوظيفة البنكرياسية: ومن الواضح أن التعرض للزئبق يمكن أن تؤثر على البنكرياس، حيث أدى اختلال الوظيفة البنكرياسية إلى نقص الغليكوز في الدم عند الفوج Hg مقارنة بالفوج الشاهد، ومع ذلك فإن التحسن الطفيف عند بقية الأفواج قد أثبت التأثير الوقائي للفيتامين ج والتمر.

بينما اختلت تراكيز المعادن بسبب تأثير الزئبق، فقد انخفض تركيز الحديد، وزاد تركيز الكالسيوم بشكل طفيف، في حين تم تسجيل زيادة كبيرة في مستوى الفسفور عند الفوج المعامل بالزئبق مقارنة بالشاهد. بالمقابل، فإن انخفاض مستوى الفوسفور كان ملحوظا عند الأفواج Hg-VC، Hg-DN و Hg-VC-DN بالمقارنة مع الشاهد.

وظيفة الخصية: تم تقدير تركيز، سرعة، حركة وحيوية الحيوانات المنوية على مستوى البربخ، بالإضافة إلى الوزن النسبي للخصيتين وتركيز هرمون تستوستيرون البلازمي، حيث أظهرت النتائج زيادة طفيفة في الوزن النسبي للخصية عند الفوج Hg-VC-DN مقارنة بالفوج الشاهد، في حين انخفض تركيز هرمون التستوستيرون بشكل ملحوظ عند الفوج المعامل بالزئبق Hg والفوج المعامل بالزئبق والفيتامين ج Hg-VC، كما كان تركيز هرمون التستوستيرون عند الفوج Hg-VC-DN متقارب مع تركيزه عند الفوج الشاهد. لوحظ كذلك انخفاض في سرعة، حركة وحيوية الحيوانات المنوية عند الفوج Hg، في حين سجل تحسن عند الأفواج Hg-VC، Hg-DN و Hg-VC-DN بالمقارنة بالفوج Hg.

الدراسة النسيجية: يعبر المظهر النسيجي للكبد، الكلى، الخصيتين والأمعاء عن التغيرات والأضرار الناجمة عن المعاملة بالزئبق؛ فقد لوحظ تحلل غشائي، موت خلايا الكبد، انكماش أنوية كبدية وانحلال أخرى، تغيرات كبيبية وأنبوبية على المستوى الكلوي، تمدد الأنابيب الكلوية، انحلال الأغشية وانفصال الجزء القمي للخلايا الطلائية الكلوية، بينما على مستوى الخصية، فقد أدت المعاملة بالزئبق إلى ترقق جدران الأنابيب المنوية، غياب الحيوانات المنوية الناضجة وانحلال أغشية خلايا لايديج. في حين تتجلى التغيرات في الأمعاء في الطبقة المخاطية المعوية، موت خلوي، زيادة عدد الخلايا الكأسية وانفصال الطبقة المخاطية، بالمقابل، هذه التغيرات كانت أقل أهمية عند الأفواج المعاملة الأخرى.

الكلمات الدالة: كلوريد الزئبق، الإجهاد التأكسدي، دقلة نور، فيتامين ج، مضاد أكسدة، صحة.

Chapitre I

Introduction générale

I- Introduction générale:

Le mercure est une source de contamination mondiale, étant donné qu'il est toxique, qu'il ne se décompose pas dans l'environnement et qu'il peut s'accumuler dans les organismes vivants (ISBN, 2008).

I-1- Définition du mercure:

Le mercure est le seul métal qui demeure sous forme liquide à la température ambiante. Les gouttelettes de mercure liquide sont brillantes et blanc argentées et ont une tension superficielle élevée, ce qui leur donne une apparence arrondie lorsqu'elles reposent sur une surface aplatie. Le liquide est très mobile et les gouttelettes se rassemblent facilement en raison de la faible viscosité du mercure. En outre, ce métal se combine avec d'autres métaux comme l'étain, le cuivre, l'or et l'argent pour former des alliages de mercure connus sous le nom d'amalgames (Carriere, 2007).

Son symbole est Hg, il provient du latin, lui-même emprunté au grec, *hydrargyrum* qui signifie « argent liquide », il est connu depuis l'Antiquité, les alchimistes puis le corps médical du XVI^e au XIX^e siècles le désignaient par le nom « vif-argent » et le représentaient grâce au symbole de la planète Mercure, d'où son nom actuel.

La toxicité du mercure est déjà évoquée par Pline l'Ancien au 1^{er} siècle de notre ère. A cette époque, les Romains exploitaient les mines de Cinabre (minerai dont on tire le Mercure) d'Almaden en Espagne. Ils utilisaient ce métal pour la confection de pigments et de produits cosmétiques. Des intoxications liées à l'exploitation de ce gisement furent décrites dès l'époque de la conquête de l'Espagne par les Maures (Grosman et Melet, 2011).

I-2- Formes du mercure:

Le mercure, naturellement présent dans l'environnement, existe sous de nombreuses formes. Comme le plomb ou le cadmium, c'est un métal lourd et un constituant de la

croûte terrestre. Sous sa forme pure, on l'appelle soit « mercure élémentaire », soit « mercure métallique » symbolisé par $\text{Hg}(0)$ ou Hg^0 . Le mercure se trouve rarement dans la nature sous forme de métal liquide pur; il y est plutôt présent sous forme de composés ou de sels inorganiques. On trouve des composés du mercure monovalent et divalent (symbolisés par $\text{Hg}(\text{I})$ et $\text{Hg}(\text{II})$ respectivement). L' $\text{Hg}(\text{II})$ forme de nombreux composés organiques et inorganiques. Les composés inorganiques du mercure comprennent le sulfure de mercure (HgS), l'oxyde de mercure (HgO) et le chlorure de mercure (HgCl_2). Ces composés sont également appelés sels de mercure.

La plupart des composés inorganiques du mercure se présentent sous forme de poudre ou de cristaux blancs, sauf le sulfure de mercure, qui est rouge et qui vire au noir après exposition à la lumière. Certains sels de mercure comme l' HgCl_2 sont suffisamment volatils pour être présents à l'état gazeux dans l'atmosphère. Cependant, la solubilité de ces composés gazeux inorganiques (ou divalents) du mercure dans l'eau et leur réactivité chimique font qu'ils se déposent beaucoup plus rapidement, à partir de l'atmosphère, que le mercure élémentaire; leur durée de vie dans l'atmosphère est donc beaucoup plus courte que celle du mercure élémentaire à l'état gazeux.

Le mercure, combiné au carbone, donne des composés dits « composés organiques du mercure » ou « composés organomercuriels ». Il peut former un grand nombre de composés organiques comme le diméthylmercure ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$), le phénylmercure, l'éthylmercure et le méthylmercure, cependant, le composé le plus courant dans l'environnement est le méthylmercure. Comme les composés inorganiques du mercure, le méthylmercure et le phénylmercure existent tous deux sous forme de sels; le chlorure de méthylmercure (CH_3ClHg) ou l'acétate de phénylmercure ($\text{C}_6\text{H}_5\text{HgO}_2$). À l'état pur, la plupart des formes de méthylmercure et de phénylmercure sont solides cristallins. Le diméthylmercure, cependant, est un liquide incolore (PNUE, 2005).

I-3- Sources du mercure:

Quelque soit la forme chimique du mercure qui se trouve dans la nature, il est émis à partir d'un éventail de sources naturelles comme les volcans, les sols, les conduits volcaniques sous-marins, les zones géologiques riches en mercure ainsi que les eaux douces et les océans, les plantes, les feux de forêt, les cristaux de sel marin et la poussière météorique.

Bien que les émissions naturelles se produisent principalement sous forme de vapeurs de mercure élémentaire (Hg^0), des particules et des vapeurs d'oxydes, de sulfures, d'halogénures ainsi que des vapeurs de méthylmercure peuvent également être émises.

Les activités humaines dégagent aussi du mercure dans l'environnement. Les sources seraient, par ordre décroissant d'importance: le raffinage et la combustion des combustibles fossiles (Wilhelm et Bloom, 2000; Wilhelm, 2001), les activités minières, les incinérateurs, certains processus industriels notamment liés à l'industrie du chlore et de la soude caustique et le recyclage des thermomètres, des lampes au mercure ...etc. qui sont plutôt source de pollutions locales, mais parfois très graves.

Par ailleurs, 85 % de la pollution mercurielle des lacs et des cours d'eau (Fitzgerald et Watras, 1989), provient aujourd'hui directement des activités humaines (Schickling et Broekaert, 1995) ou pétrole (Liang *et al.*, 2000; Olsen *et al.*, 1997; Shafawi *et al.*, 1999).

Par conséquent, le mercure persiste dans l'environnement où il circule, sous diverses formes, entre l'air, l'eau, les sédiments, le sol et le biote. Les émissions actuelles s'ajoutent au réservoir mondial de mercure, continuellement mobilisé, déposé sur terre et dans l'eau et mobilisé à nouveau. Et selon sa forme physique et chimique le mercure peut être déposé à proximité de la source d'émission ou être soumis au transport atmosphérique à grande distance par des masses atmosphériques.

I-4- Cheminements du mercure dans l'environnement:

Les cheminements dans l'environnement et les transformations naturelles du mercure sont très complexes et dépendent fortement des conditions locales. Pour évaluer l'évolution du mercure dans l'environnement et les répercussions des émissions anthropiques, les chercheurs doivent examiner une série d'interactions biogéochimiques qui ont une incidence sur les différents états physiques du mercure et sur ses formes chimiques. Pour prévoir les modifications sur le plan de la concentration et de la forme, il est primordial de comprendre la relation entre les conditions locales et les niveaux de mercure dans divers environnements et dans les organismes vivants.

I-5- Biotransformation naturelle du mercure:

La conversion du mercure en ses formes diverses s'effectue selon deux types principaux de réactions: l'oxydation-réduction et la méthylation-déméthylation. Dans les réactions d'oxydation-réduction, le mercure est oxydé dans son état de valence le plus élevé (p. ex., de sa forme élémentaire Hg^0 à une forme plus réactive Hg^{2+}) par la perte d'électrons, ou est réduit, réaction inverse à la précédente, à un état de valence moins élevé.

Le mercure se transforme en méthylmercure par l'ajout d'un groupement méthyl (CH_3) à des éléments du mercure réactif ou oxydé (Hg^{2+}). La méthylation de Hg^{2+} est principalement un processus biologique naturel qui entraîne la production de composés de méthylmercure (MeHg^+) fortement toxiques. Le méthylmercure possède la capacité de s'accumuler dans les tissus des organismes vivants (bioaccumulation) et de se concentrer le long des différents maillons de la chaîne alimentaire (bioamplification). Les concentrations en méthylmercure sont les plus importantes chez les espèces de plus grande taille et les prédateurs, dont se nourrissent l'homme et d'autres animaux. La consommation de poissons est la principale source d'exposition au mercure dans la population générale (OMS, 2004; Lauwerys *et al.*, 2007).

I-6- Métabolisme du mercure:

Le mercure est un métal très réactif au milieu dans lequel il se trouve. Dans l'organisme, il peut se lier aux molécules constituant la cellule vivante (acides nucléiques, protéines...) en modifiant leur structure ou en inhibant leurs activités biologiques (Gérard Miquel, 2001). Il pénètre dans l'organisme par plusieurs voies, dont la principale est l'inhalation des vapeurs de mercure métallique, près de 80 % des vapeurs de mercure inhalées sont absorbées par les poumons (alvéoles). L'absorption par voie digestive du mercure métallique est négligeable (inférieure à 0,01 % de la dose administrée). La pénétration par voie sous-cutanée du mercure métallique est également possible de manière accidentelle (lorsqu'on casse un thermomètre, p. ex.,).

Les principales voies de pénétration des composés inorganiques du mercure (sels de mercure) sont les poumons (atomisation des sels de mercure) et le tractus gastro-intestinal. Dans ce dernier cas, l'absorption résulte souvent d'une ingestion accidentelle ou volontaire.

On estime que 2 à 10 % des sels de mercure ingérés sont absorbés par le tractus gastro-intestinal. L'absorption par la peau de mercure métallique et de certains de ses composés est possible, mais la vitesse d'absorption est faible.

Chez les animaux, ainsi que chez les humains, le méthylmercure et ses sels sont facilement absorbés par le tractus gastro-intestinal (>80%). Le méthylmercure absorbé se répartit largement dans tous les tissus, bien que le dépôt le plus important se localise dans le rein et le foie qui est le premier organe recevant le mercure après l'absorption intestinale, et comme celui-ci contient la plupart des enzymes du métabolisme, il réagit intensément pour faire face au risque du mercure en induisant la synthèse du glutathion et de métallothionéine ... (Fowler, 1972). L'accumulation cérébrale des composés organiques n'est pas négligeable, car le passage de la barrière hématoencéphalique est relativement

facile (Givica-Perez *et al.*, 2001), ce qui entraîne une toxicité nerveuse importante (Boislève, 2009).

Après pénétration dans l'organisme, le mercure métallique persiste pendant une courte période sous forme métallique, ce qui explique son passage facile de la barrière hémato-encéphalique grâce à sa liposolubilité. Il se retrouve alors dans le cerveau, où il est ensuite piégé, car, une fois transformé en Hg^{2+} , il passe plus difficilement la barrière hématoencéphalique (Givica-Perez *et al.*, 2001).

La plus grande partie du mercure métallique est oxydé dans le sang et les tissus en ion mercure Hg^{2+} , qui va se fixer sur les protéines, tandis que, le mercure inorganique se répartit dans le plasma et les hématies (Encyclopédie de sécurité et de santé au travail, 2011), où il se combine aux enzymes et protéines plasmatiques telles que l'albumine et la globuline.

Une accumulation du mercure inorganique survient essentiellement dans les reins selon la voie d'absorption et, dans une moindre mesure, dans le foie. Beaucoup d'études sur l'exposition professionnelle au mercure indiquent qu'une forte exposition peut avoir des effets nocifs et critiques sur les reins, ces effets consistent en lésions rénales au niveau du tube contourné proximal et de l'anse de Henlé (Bismuth *et al.*, 2000). Il peut également provoquer des atteintes et hypertrophie de tube proximal, fibrose corticale, atrophie et fibrose des glomérules. Le mercure inhibe des enzymes thiol-dépendantes et perturbe le système de transport des tubes rénaux.

L'ingestion accidentelle de sels mercuriques entraîne immédiatement une inflammation de l'ensemble du tractus gastro-intestinal, une insuffisance rénale aiguë, anurique par néphrite tubulaire interstitielle apparaît dans les premières 24 heures (INRS, 1997). De plus, l'ion mercurique se fixe sur une protéine dite la métallothionéine, dont la synthèse est induite par la fixation du mercure métallique au niveau rénal lui-même. C'est la forme de

stockage. Elle semble d'ailleurs jouer un rôle important dans la chélation et la protection cellulaire contre les dommages oxydatifs des lipides, des protéines et des acides nucléiques (Gerard-Monnier et Chaudier, 1996), ce qui diminue la toxicité mercurielle. Toutefois, lorsque sa capacité de fixation du mercure est dépassée par le mercure, l'action toxique directe sur les reins pourrait exercer (Carriere, 2007).

- **Cytotoxicité:** Les dysfonctionnements liés à l'intoxication mercurielle s'étendent à l'intérieur de la cellule; c'est la cytotoxicité. La grande affinité du mercure pour le soufre, entraîne le blocage des fonctions thiol (-SH) des protéines modifiant ainsi leur structure tertiaire et quaternaire, des peptides comme le glutathion ou des acides aminés soufrés comme la cystéine. Les protéines ainsi inactivées peuvent être des enzymes, des protéines des membranes cellulaires notamment des récepteurs d'hormones et de neuromédiateurs, des protéines membranaires des organites cellulaires comme les mitochondries, lysosomes..., des protéines membranaires impliquées dans les transports ioniques comme ATPase Na-K, canaux calciques ou encore la tubuline et la myéline, ce qui provoque de graves perturbations dans la conduction de l'influx nerveux.

D'autre part, le mercure inhibe les systèmes de protection cellulaire contre les radicaux libres et inhibe également les enzymes à zinc du fait d'une compétition entre ces deux métaux (même colonne dans le tableau de classification des éléments). Il provoque la lyse des membranes cellulaires, sans doute en catalysant l'oxydation des phospholipides membranaires. En outre, les effets clastogènes du mercure ont été observés dans des lymphocytes de sujets ayant ingéré des poissons contaminés par du méthylmercure: cassure de chromosomes, présence de fragments ou de chromosomes surnuméraires et absence de centromère (Grosman et Melet, 2011).

L'importance des effets toxiques du mercure dépend non seulement de la forme chimique et de la voie de pénétration dans l'organisme, mais également d'un certain nombre de

facteurs dont la quantité absorbée ou la dose et la durée de l'exposition. La toxicité mercurielle peut être aiguë (à court terme), subchronique ou chronique (à long terme). L'intoxication aiguë est le plus souvent la conséquence d'une ingestion accidentelle ou volontaire de mercure dans un délai de quelques minutes à quatorze jours. Il peut en résulter une altération irréversible des fonctions vitales après l'administration de la substance, une grave inflammation du tractus gastro-intestinal, suivie rapidement par une insuffisance rénale due à la nécrose du tube contourné proximal.

Intoxication subchronique est l'administration périodique et répétée de la substance sur une période qui va de quatorze jours jusqu'au dixième de la durée de vie, les altérations au niveau des fonctions vitales sont irréversibles.

L'intoxication chronique par le mercure débute généralement de façon insidieuse, ce qui rend difficile sa détection précoce. Il peut en résulter une altération irréversible des fonctions vitales après administration périodique et répétée de la substance sur une période de plusieurs mois et peut durer la vie entière.

La voie de l'excrétion du mercure dépend de sa forme chimique, le mercure inorganique est excrété sous forme ionisée libre ou fixée sur les protéines par le côlon et les reins et une faible pourcentage par la peau et la salive (Joselow *et al.*, 1969). en cas de transpiration abondante, la quantité de mercure éliminée par la sueur peut être importante (Lovejoy *et al.*, 1973). les phanères constituent également une voie mineure d'élimination chez les mammifères (Hollins *et al.*, 1975).

Le méthylmercure est partiellement excrété par voie biliaire (Havrdova *et al.*, 1974) mais est en majeure partie réabsorbé dans l'intestin suite à l'existence d'un cycle entérohépatique, cette réabsorption peut être limitée par l'ingestion de résines thiolées qui fixent le mercure et stimulent ainsi son excrétion fécale (Clarkson *et al.*, 1973).

Dans la bile, le méthylmercure est excrété principalement conjugué au glutathion (Refsvik et Norseth, 1975) ou à la cystéineglycine, une fraction du mercure biliaire est convertie par la flore microbienne en mercure inorganique. Le méthylmercure s'élimine également en partie dans les phanères. Chez le rat les macrosomes du foie sont capables de dégrader le méthylmercure en mercure inorganique qui libère ainsi des radicaux hydroxylés. Mais lorsque la quantité de mercure présente dans l'organisme est supérieure à la capacité de détoxification du foie, la surcharge entraîne la fatigue, maux de tête, douleurs et troubles digestifs, puis: pâleur, vertiges, anémie et troubles de la coordination. Enfin : dépression, confusion mentale, et troubles moteurs.

I-7- Détoxification du mercure:

Notre organisme est mené d'un système de défense endogène composé d'acides aminés, d'enzymes, de substances antioxydantes..., capable d'éliminer les composés mercuriels quelques soit leur forme chimique. Par ailleurs, les défenses endogènes de l'organisme sont renforcées par des antioxydants naturels pour prévenir l'apparition de lésions dues à l'oxydation, les chercheurs se sont interrogés sur l'utilité de différentes molécules antioxydantes en supplémentation dans l'alimentation, telles quelques minéraux et oligo-éléments (sélénium, zinc, manganèse...), les vitamines E et C et les caroténoïdes. (Pastre, 2005).

Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi être destructrices : les plantes et les animaux utilisent et produisent de nombreux antioxydants pour se protéger, tels le glutathion, ou des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase (SOD) et certaines peroxydases.... Une déficience ou une absence de production d'enzymes antioxydantes entraîne un stress oxydatif pouvant endommager ou détruire les cellules. De même, notre organisme est capable de produire, à partir de l'acide aminé cystéine, un antioxydant puissant, l'acide alpha-lipoïque ($C_8H_{14}O_2S_2$), encore appelé

lipoate qui est un des rares éléments à pouvoir traverser la barrière hémato-encéphalique, il se lie aux métaux lourds présents dans les tissus du cerveau et contribue à les éliminer. Ces métaux lourds s'ils ne sont pas éliminés, entraînent la dégénérescence du cerveau. Il peut également piéger les radicaux libres au niveau intracellulaire et extracellulaire, du fait qu'il est aussi bien liposoluble qu'hydrosoluble, il peut accéder à toutes les parties de la cellule (Packer *et al.*, 1995).

Les oligo-éléments comme le zinc, le sélénium et le manganèse ont une action définie. Ils interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Les possibles actions antioxydantes du zinc sont protection contre la diminution de concentration de la vitamine E, la stabilisation de la structure membranaire, la limitation de la production endogène de radicaux libres et la participation à la structure et à la fonction de l'enzyme extracellulaire à activité antioxydante.

Le sélénium est un oligo-élément jouant un grand rôle dans la détoxification des métaux et dans l'utilisation de la vitamine E et la vitamine C. Son rôle a d'abord été reconnu dans la protection contre le cancer. On lui attribue maintenant des propriétés dans l'élimination des métaux lourds présents dans l'organisme (Demet, 2011).

Le sélénium est connu pour ses propriétés antioxydantes. Il entre dans la constitution de la glutathion peroxydase (GPx). Cette enzyme sélénio-dépendante participe au recyclage du glutathion et réduit la peroxydation lipidique en catalysant la réduction des peroxydes dont le peroxyde d'hydrogène.

Le manganèse appartient à la superoxyde dismutase mitochondriale. Cette enzyme fait partie du système de défense antioxydant endogène de l'organisme. Elle permet la conversion de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Pastre, 2005). Il participe également au maintien de la concentration tissulaire en métallothionéines (Di Silvestro, 2000). Ces dernières sont des protéines spéciales produites par la plupart des

organismes vivants, elles sont riches en cystéine (acide aminé soufré) et jouent un rôle physiologique dans la défense antioxydante. Elles ont la propriété de fixer, par leur soufre, les métaux lourds tels que le cuivre, le zinc, le cadmium et le mercure. Lorsqu'elles fixent un métal physiologique, elles sont activées et exercent une fonction. Lorsqu'elles fixent un métal toxique, elles sont alors inactivées et éliminées. Elles constituent en cela une part majeure de la détoxification naturelle de l'organisme vis-à-vis des métaux.

Il existe aussi de nombreux antioxydants naturels ou synthétiques utilisés dans la lutte contre l'effet délétère du mercure, le mécanisme d'action de ces composants repose essentiellement sur la chélation, qui est un phénomène naturel fondamental en biologie: au cours duquel est formé un complexe, le chélate, entre un ligand, dit chélateur, et un cation (ou atome) métallique, alors complexé, dit chélaté. Parmi ces chélateurs utilisés: MSM (méthylsulfonylméthane), DMSA (acide dimercaptosuccinique), DMPS (acide 2,3-dimercapto-1-propane-sulfonique), EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique), NAC (N-acetylcystéine)...

La chlorella, un genre d'algue, contient de la sporopolléine dans sa membrane et beaucoup de chlorophylle qui fixent bien les métaux et la dioxine -in vitro- et dans le tube digestif, mais qui ne sont pas absorbées, et donc, restent dans l'intestin. Elles ont un effet préventif en piégeant les métaux toxiques avant qu'ils ne passent dans le sang. Elles protègent ainsi, au moins en partie, lors de la dépose d'amalgames et de l'ingestion d'une alimentation contaminée. Mais rien ne permet de dire qu'elles détoxiquent l'organisme (Boislève, 2009). Ainsi, Les œstrogènes protègent les reins des animaux contre le méthoxyéthylmercure (Lehotzky, 1972).

Les aliments contiennent d'autres antioxydants comme les vitamines les caroténoïdes (provitamines A), l'acide ascorbique (vitamine C), les tocophérols (vitamine E) ... Ces antioxydants nous aident à lutter contre l'effet nocif des radicaux libres. L'intérêt

d'augmenter notre consommation d'antioxydants a fait ses preuves et que ces molécules prennent une part active dans la prévention de certaines maladies.

Les caroténoïdes sont des molécules lipophiles. Ils sont localisés dans la membrane plasmique et participent donc à la protection et au maintien de l'intégrité cellulaire. Ils sont des antioxydants importants qui protègent les cellules contre les dommages associées aux radicaux libres et par conséquent, prolongent la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement (Maydani, 2000). Ils empêchent l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$). Néanmoins, tous les caroténoïdes n'ont pas la même efficacité pour inactiver l'oxygène singulet (Milane, 2004).

Les tocophérols sont lipophiles et fonctionnent comme des antioxydants puissants, aussi bien dans les membranes cellulaires qu'au niveau des lipoprotéines plasmatiques. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ROS, soit en régulant les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la GPx, la CAT du foie, la GST et la NAD(P)H réductase (Vertuani *et al.*, 2004).

La vitamine E est considérée comme le seul antioxydant du système nerveux central (Pastre, 2005).

Les composés phénoliques, également dénommés polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés (Bahorun, 1997). Il existe plusieurs classifications des composés phénoliques. Selon Dacosta, (2003), on répartit généralement les composés phénoliques en plusieurs classes: Les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique. Les dérivés de l'acide benzoïque sont: l'acide hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide dihydroxybenzoïque, l'acide gallique et l'acide ellagique obtenu par oxydation de l'acide

gallique, les dérivés de l'acide cinnamique sont: l'acide coumarique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide caféique qui a très largement démontré son activité antioxydante (Gülçin, 2006). Les acides phénoliques comportent un groupement carboxyle (COOH). Ils se trouvent souvent sous la forme de glycosides ou d'esters (Dacosta, 2003).

Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Pastre, 2005).

Les antioxydants polyphénoliques combattent la maladie en protégeant l'organisme contre les radicaux libres ou les molécules instables qui endommagent les cellules et ouvrent la porte à des maladies chroniques et dégénératives (Hoelzl *et al.*, 2005).

I-8- La vitamine C comme un antioxydant:

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant hydrosoluble: son rôle est essentiel dans les compartiments intra et extracellulaires. Elle intervient dans l'assimilation des glucides et joue un rôle anti-infectieux, antioxydant et antihémorragique, mais son mécanisme d'action est mal connu. Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de la vitamine C (l'acide ascorbique) et sa forme oxydée (dehydroascorbate). La vitamine C est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques (hydroxylation). Elle est requise dans la synthèse du collagène et des globules rouges et contribue au système immunitaire. Elle joue également un rôle dans le métabolisme du fer en tant que promoteur de son absorption; son utilisation est donc déconseillée chez les patients porteurs d'une surcharge en fer et particulièrement d'une hémochromatose. Sous forme oxydée (acide

déshydroascorbique), elle traverse la barrière hémato-encéphalique pour accéder au cerveau et à plusieurs organes à forte concentrations de vitamine C. Il s'agit d'un antioxydant, molécule capable de stopper l'action néfaste d'oxydants comme les radicaux libres.

La protection antioxydante de la vitamine C contre la toxicité par les métaux lourds est particulièrement importante pour la santé, parce que la vitamine C interfère avec l'absorption intestinale des métaux lourds en augmentant l'excrétion urinaire ou en créant un effet synergique sur l'élément chélateur (Pace et Iannucci, 1994). L'ascorbate capte les anions ($O_2^{\bullet-}$), hypochlorite (ClO^-), hydroxyl ($OH^{\bullet}$) et l'oxygène singulet (1O_2). Il inhibe - *in vitro*- la peroxydation lipidique avant la vitamine E et protège les membranes vis à vis de l'attaque peroxydative, en piégeant efficacement les radicaux peroxydes $ROO^{\bullet}$, il participe à la régénération de la vitamine E et est capable de neutraliser l'oxygène singulet (Pastre, 2005). Cependant, un manque en vitamine C provoque une toxicité par le mercure chez les cobayes (Yamini et Sleight, 1984).

I-9- La datte comme antioxydant:

Les antioxydants naturels peuvent également se trouver dans les plantes médicinales, les légumes et les fruits y compris les fruits de palmier dattier; la datte. Elle est produite dans les régions arides et semi-arides du monde et considéré comme un aliment de grande importance et joue un rôle important dans la vie économique et sociale de la population habitant ces régions. La variété Deglet Nour pour sa haute qualité nutritionnelle et son appréciation à travers le monde est la plus commercialisée à l'échelle nationale et internationale.

Elle est constituée d'une partie charnue, la chair ou la pulpe et d'un noyau. C'est un fruit de grande valeur alimentaire et très énergétique, car elle fournit des calories 4 à 5 fois supérieure à celles fournies par d'autres fruits (Munier, 1973).

Divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en: sucres, protéines, lipides, fibres, vitamines et minéraux. Cependant, l'intérêt porte, ces dernières années, aux antioxydants naturels en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires comme les dattes (Sanchez-Moreno, 2002; Marc *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2005).

Toutefois, les études sur les composants phénoliques de la datte restent peu nombreuses et ne concernent que quelques variétés étrangères dans leur majorité. Ces composés acquièrent un intérêt croissant qui prend de l'ampleur vu leurs propriétés biologiques importantes et nécessitent donc d'être étudiés davantage (Daas Amiour, 2009).

Selon Lambiote (1982), les dattes sont une excellente source de sucres simples, minéraux et vitamines. En effet, les sucres sont les composés les plus répandus dans la datte et ont été largement étudiés (Cook et Furr, 1952; Ashmawi *et al.*, 1956; Dowson et Aten, 1973; Munier, 1973; Hussein *et al.*, 1974; Vandercook *et al.*, 1979; Peyron et Gay, 1988). La teneur en sucres varie généralement en fonction de la variété, de la consistance et des stades de maturation, elle est comprise entre 50 à 80% de la pulpe fraîche pour les sucres totaux avec des proportions qui peuvent atteindre jusqu'à 60% du poids de la pulpe fraîche en saccharose et 17 à 80 % pour les sucres réducteurs (glucose, fructose) (Siboukeur, 1997).

Selon Al-Shahib et Marshall (2003) le contenu en sucres totaux de la datte varie entre : 70 et 85% du poids de la pulpe fraîche. De façon générale, les dattes sèches sont caractérisées par une teneur élevée en sucres réducteurs et les dattes molles par une teneur élevée en

saccharose. Toutefois, les dattes demi-molle comme Deglet Nour contient 22% de saccharose et 46% de sucres réducteurs (Belguedj, 2001).

D'autre part, Il y a au moins 15 minéraux et sels dans la datte qui se trouvent dans des proportions diverses comprennent le calcium, le cobalt, le cuivre, fluor, fer, magnésium, manganèse, potassium, phosphore, sodium et le zinc. Sa richesse en éléments minéraux la classe parmi les aliments les plus intéressants. Elle constitue également une source importante de sélénium, sa teneur varie entre 0.36-0.53 mg/100 g (Al-Farsi *et al.*, 2007).

En outre, les dattes contiennent au moins six vitamines, y compris une petite quantité de vitamine C dont la concentration est faible (2 mg/100g) (Amellal, 2008), la thiamine B1, riboflavine B2, acide nicotinique (niacine B3) et vitamine A sont également présents (Vayalil, 2002).

Les dattes ont également été identifiées comme ayant des propriétés antioxydantes et antimutagènes, c'est une bonne source d'antioxydants, principalement des caroténoïdes et des composés phénoliques dont la teneur moyenne est de 6,73 mg/100g de la variété Deglet Nour. Les vitamines du complexe B et C sont les principales vitamines dans les dattes (Al-Farsi et Lee, 2008). En effet, la plupart de ces antioxydants possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées, en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) (Rice-Evans *et al.*, 1995; Burda et Oleszek, 2001; Antolovich *et al.*, 2002; Bartosz, 2003).

D'ailleurs, la diversité des composants antioxydants présents dans la datte lui permet de réunir plusieurs propriétés antioxydantes. On lui attribue maintenant des fonctions antiradicalaire et antioxydant. En effet, les dattes protègent les cellules contre les dommages associées aux radicaux libres et empêchent l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet, elles inhibent également la peroxydation lipidique en

réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car elles ont des propriétés chélatrices. Donc, elles contribuent à la prévention contre l'effet toxique du mercure et l'élimination des métaux lourds présents dans l'organisme.

Ces résultats indiquent que l'activité antioxydante et antimutagène de dattes est très puissante et implique la présence de composés avec de puissantes activités antiradicalaires (Vayalil, 2002).

- **L'objectif de ce travail de thèse:**

L'objectif principal de ce travail de thèse est d'estimer le risque de l'exposition à l'HgCl₂, administré seul, combiné avec la vitamine C, combiné avec la datte Deglet Nour ou combiné avec la vitamine C et la datte Deglet Nour, sur la santé de lapin.

Les principaux axes de cette étude sont les suivant:

- Tout d'abord, le travail est consacré à déterminer l'effet de l'HgCl₂ sur l'aspect histologique (quelques organes cibles; foie, rein, testicule et intestin), physiologique (quelques paramètres biochimiques et hormonaux plasmatiques; fer, calcium, TGO, TGP, protéines totales, triglycérides, cholestérol, urée, créatinine, glucose, phosphore et testostérone) et reproducteur (concentration, vitesse, mobilité et vitalité des spermatozoïdes). Ainsi, les variations pondérales de quelques organes ont été estimées.
- Deuxièmement, étude –in vivo- de l'activité biologique d'un antioxydant naturel qui est la vitamine C, dans l'amélioration de la santé de lapin,
- Troisièmement, une étude générale sur la composition chimique d'une variété de dattes -Deglet Nour- en précisant sa richesse en composants antioxydants.

- Et enfin, évaluation de rôle de différents antioxydants étudiés dans la détoxification du mercure, par l'estimation des paramètres biologiques mentionnés ci-dessus.

I-2- Références bibliographiques:

Al-Farsi M, Morris A, Barron M. (2007). Functional properties of Omani Dates (Phoenix dactylifera L.). *Acta Hort.* 736: 479- 487.

Al-Farsi MA, Lee CY. (2008). Nutritional and functional properties of dates: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 48 (10): 877-87.

Al-Shahib W, Marshall RJ. (2003). The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future?. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 54: 247-59.

Amellal H. (2008). Thèse de doctorat. Aptitudes technologique de quelque variété de dattes: formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé université- Bomerdes

Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst.* 127: 183-98.

Ashmawi H, Aref H, Hussein AEA. (1956). Compositional changes in Zaghloul dates throughout the different stages of maturity. *J Sci Food Agric.* 7: 625-8.

Bahorun T. (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food Agric Res.* N° special: 83-95.

Bartosz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology.* 9: 5-21.

Belguedj M. (2001). Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est Algérien, N° 11, INRAA. El-Harrach , Alger. 289.

Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Fréjaville JP, Garnier R, Jaeger A. (2000). Toxicologie clinique. 5^{ème} Ed. Paris. Edition Médecine-Sciences. Flammarion.

Boislève JB. (2009). Santé vivante. Approche globale et systémique de la santé et des relations humaines.

Burda S, OleszekW. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 49: 2774-2779.

Carriere J. (2007). Intoxication au mercure par injection intraveineuse volontaire. Thèse. Université de Montpellier I. U.F.R de médecine.

Clarkson TW, Small H, Norseth T. (1973). excretion and absorption of methylmercury after polythiol resin treatment. *Arch Environ Health.* 26: 173.

Cook JA, Furr JR. (1952). Sugars in the fruit of soft, semi-dry and dry commercial date varieties. *Date Growers' Znst Rep.* 29: 3-4.

Daas Amieur S. (2009). Étude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et évaluation *in vitro* de leur activité biologique. *Mémoire de magister. Université el-hadj lakhdar – batna.*

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. *Paris. Editions Yves Dacosta.* 317.

Demet JP. (2011). La question du jour. *Centre de promotion et d'études en santé naturelle.* Québec. 2011.

Di Silvestro RA. (2000). Zinc in relation to diabetes and oxidative disease. *J Nutr.* 130:1509S-11S.

Dowson VHW, Aten A. (1973). Composition and maturation of dates. *In Rcolte et conditionnement des dattes. Collection FAO. Cahier 72. FAO: Rome.*

Encyclopédie de sécurité et de santé au travail. (2011). Les métaux: propriétés chimiques et toxicité. 29.

Fitzgerald WF, Watras CJ. (1989). Mercury in surficial waters of rural Wisconsin lakes. *Sci. Tot. Environ.* 87(88): 223.

Fowler BA. (1972). Ultrastructural evidence for neuropathy induced by long-term exposure to small amounts of methylmercury. *Science.* 175: 780-1.

Gérard Miquel M. (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *L'Assemblée nationale* le 6 avril 2001.

Gerard-Monnier D, Chaudier J. (1996). Metabolism and antioxidant function of glutathion. *Pathol Biol Paris.* 44(1): 77-85.

Givica-Perez A, Santana-Montesdeoca JM, Diaz-Sanchez M, Martinez-Lagares FJ, Castaneda WR. (2001). Deliberate, repeated self-administration of metallic mercury injection: case report and review of the literature. *European radiology.* 11(8): 1351-4.

Grosman M, Jean Jacques Melet JJ. (2011). Toxicité du Mercure: Le mercure des amalgames dentaires: Quels risques pour la santé et l'environnement? Quels enjeux financier?. *1ère partie.*

Gülçin I. (2006). *Toxicology.* 217: 213-20.

Hoelzl, C et al., (2005). *J Physiol Pharmacol.* 2(52):49-64.

Hollins JG, Willes RF, Bryce RF, Charbonneau SM, Munro IC. (1975). The whole body retention and tissue distribution of (²⁰³Hg) methylmercury in adult cats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 33: 438.

Huang D, Ou B, Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841-56.

Hussein F, Moustafa S, Elkahtani M, El-Samiraie F, El-Zeid A. (1974). Studies on physical and chemical characteristics of eighteen date cultiuars grown in Saudi Arabia. *Research Bulletin. Ministry of Agriculture. Riyadh. Saudi Arabia*. 4: 5-18.

INRS (Institut Nationale de Recherche et de Sécurité). (1997). Mercure et composés minéraux. *Fiche toxicologique* N°55, Edition 1997.

ISBN. (2008). Ministère de la Santé. Le mercure et la santé humaine. *Original: octobre 2004. Sa Majesté la reine du Chef du Canada*.

Joselow MM, Ruiz R, Goldwater LJ. (1969). The use of salivary (parotid) fluid in biochemical monitoring. *Am Ind Hyg Assoc J*. 30: 77.

Lambiote B. (1982). Some aspects of the role of dates in human nutrition. *In: Proceedings of the First International Symposium on Date Palm. King Faisal University, Saudi Arabia, 23–25 March*.

Lauwerys R, Haufroid V, Hoet P, Lison D. (2007). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. *5e édition. Masson*.

Lehotzsky K. (1972). Protection by estrogenic hormone against nephrotoxicity induced by organic mercury. *Ind Arch Arbeitsmed*. 30: 193.

Liang L, Lazoff S, Horvat M, Swain E, Gilkeson J. (2000). Determination of mercury in crude oil by in-situ thermal decomposition using a simple lab built system. *Fresenius J Anal Chem*. 367: 8.

Lovejoy HB, Bell ZG, Vizena TR. (1973). Mercury exposure evaluations and their correlation with urine mercury excretions 4. Elimination of mercury by sweating. *J Occup Med*. 15: 590.

Marc Fr, Davin A, Deglene-Benbrahim L, Ferrand C et al., (2004). Methodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit, M/S: médecine sciences*. 20(4): 458-63.

Maydani M. (2000). Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 71: 1665S-8S.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat universite louis pasteur. strasbourg I*.

Munier P. (1973). Le palmier dattier. *Paris. Edition Maisonneuve*. 221.

Olsen S, Westerlund S, Visser R. (1997). Analysis of metals in condensates and naphthas. *ICP-MS. Analyst*. 122: 1229.

OMS (Organisations Mondial de la Santé). (2004). Substances chimiques dangereuses: les principaux risques pour les enfants. *Aide-mémoire*. 02-04.

Pace V, Iannucci E. (1994). The importance of vitamins in relation to the presence of heavy metals in food. *Panminerva Med.* 36 (2): 80-2.

Packer L et al., (1995). Alpha-lipoïc acid as a biological antioxydant free radical. *biology and dedicine*. 19: 227-250.

Pastre JOC. (2005). Interêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Ecole Nationale Vétérinaire. Toulouse TOU* 3 – 4116.

Peyron G, Gay F. (1988). Contribution to the study of the genetic heritage in Egypt. 11-Date palm (Phoenix dactylifera L.) phenology'. *GRIDAO Report of Egypt Mission. DSA-CIRAD*.

PNUE (Programme des nations unies pour l'environnement). (2005). Substances chimiques, évaluation mondiale du mercure. Suisse. Genève. Version française publiée en juin 2005.

Refsvik T, Norseth T. (1975). methylmercuric compounds in rat bile. *Acta Pharmacol Toxicol.* 36-67.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research.* 22: 375-83.

Sanchez-Moreno C. (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International.* 8(3): 121-37.

Schickling C, Broekaert J. (1995). Determination of mercury species in gas condensates by on-line coupled HPLC and CVAA spectrometry. *App Organomet Chem.* 9: 29.

Shafawi A, Ebdon L, Foulkes M, Stockwell P, Corns W. (1999). Determination of total mercury in hydrocarbons and natural gas condensate by atomic fluorescence spectrometry. *Analyst.* 124: 185.

Siboukeur O. (1997). Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. *Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger*, 106.

Vandercook CE, Hasegawa S, Maier VP. (1979). Quality and nutritive value of dates as influenced by their chemical composition. *Date Growers' Znst. Rep* 54: 3-11.

Vayalil PK. (2002). Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (Phoenix dactylifera L. Arecaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 50: 610–7.

Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. (2004). *Curr Pharm Des.* 10: 1677-94.

Wilhelm S. (2001). An estimate of mercury emissions from petroleum. *press Environ Sci Tech.*

Wilhelm S, Bloom N. (2000). Mercury in petroleum, *Fuel Proc Technol.* 63: 1.

Yamini B, Sleight SD. (1984). Effects of ascorbic acid deficiency on methylmercury dicyandiamide toxicosis in guinea-pigs. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 5: 139-50.

Chapitre II

Variations des paramètres biochimiques

II-1- Introduction

Le mercure et ses composés sont des substances hautement toxiques pour l'homme. Il a un effet néfaste sur l'organisme et notamment sur les paramètres sanguin, biochimique et urinaire, il a également une grande affinité pour les protéines notamment les protéines soufrées tel les enzymes métaboliques, les membranes cellulaires, le glutathion, les hormones et les neuromédiateurs.... Cette affinité permet non seulement à l'organisme de se détoxifier, mais la neutralisation qui résulte de cette fixation est aussi la cause principale des effets toxiques. Lorsqu'une protéine soufrée a fixé un atome de métal, la zone de fixation est inactivée. Ainsi, de nombreuses protéines enzymatiques ou fonctionnelles perdent leur activité, le potentiel métabolique est diminué, avec des conséquences variables selon le terrain de la personne intoxiquée. Le mercure peut affecter également les peptides trifoliés responsables de la protection et de la réparation de la muqueuse digestive, leur inactivation favorise l'hyperperméabilité intestinale. Selon les protéines touchées, les conséquences seront différentes (Boislève, 2010).

L'effet de la toxicité du mercure commence par sa solubilité dans le plasma, le sang et l'hémoglobine. Le mercure une fois dans la circulation sanguine, peut affecter les reins, le cerveau et le système nerveux en général. Comme il est soluble dans les graisses, il traverse facilement la barrière placentaire et présente des risques pour le fœtus. De plus, étant excrété dans le lait maternel, il constitue un danger pour les nouveaux-nés. De plus il attaque les réactions enzymatiques (perturbateurs compétitifs)... (Sanner, 2010).

Les analyses métaboliques du sérum ont montré des concentrations élevées des corps cétoniques (3-D-hydroxybutyrate et acétoacétate), les acides aminés à chaîne ramifiée (valine, leucine et isoleucine), la choline et la créatine. Ainsi que, le glucose, les lipides et lipoprotéines ont diminué chez les animaux traités par cinabre (Wei *et al.*, 2008).

Une étude montre que l'exposition à diméthylmercure provoque des modifications importantes dans l'activité du cytochrome P450, la peroxydation lipidique microsomale, les protéines. Ainsi que, l'activité des transaminases (aspartate aminotransférase/alanine aminotransférase) et de phosphatase alcaline de sérum, l'activité enzymatique de la phosphatase acide, et phosphatase alcaline, le glucose-6 phosphate et succinique déshydrogénase dans le foie et les reins, ont été sensiblement modifié après l'administration de diméthylmercure. Au niveau histopathologique, le diméthylmercure induit de graves altérations hépatorénales (Joshi *et al.*, 2011).

Objectifs

Le but de cette étude est de:

- Déterminer l'effet du mercure sur les fonctions hépatiques (TGO, TGP, protéines totales, triglycérides, cholestérol), les fonctions rénales (urée, créatinine) et les fonctions pancréatique (glucose) chez le lapin male.
- Déterminer l'effet du mercure sur les minéraux (fer, calcium et phosphore) dans le plasma.
- Et enfin, étudier le rôle des composants chimiques naturels (Deglet Nour et vitamine C) dans la détoxification du mercure, par l'estimation des paramètres biologiques précédents.

II-2- Matériels et méthodes:**II-2-1- Matériels biologiques:**

30 lapins de souche locale *Oryctolagus cuniculus*, âgés de 6 à 7 mois, d'un poids vif moyen de 1628.83 ± 121.64 g. Les animaux sont répartis en 5 groupes de 6 lapins chacun.

- **Position systématique:**

Règne: Animalia

Embranchement: Chordata

Sous-embr: Vertebrata

Classe: Mammalia

Ordre: Lagomorpha

Famille: Leporidae

Genre: *Oryctolagus*

Espèce: *Oryctolagus cuniculus*.

II-2-2- Conditions d'élevage:

Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie (humidité relative, température ambiante et photopériode naturelle) pendant 15 jours. Ils sont élevés dans des cages métalliques nettoyées quotidiennement, chaque cage est équipée d'une mangeoire constituée d'un pot rempli à moitié par 50g d'aliment sec. Les boîtes sont solidement fixées au plancher pour éviter leur renversement.

Le régime alimentaire est bien équilibré, il contient de maïs et d'orge, riche en protéines, fibres et glucides, de lait, riche en lipides, et de légumes, riche en vitamines.

L'eau de boisson est donnée à volonté à l'aide d'un récipient.

II-2-3- Contrôle du poids corporel:

Les animaux sont tous pesés au début et en fin, et tous les sept jours d'expérimentation.

II-2-4- Traitement:

II-2-4-1- Le mercure: l'HgCl₂ a été administré par voie orale, dans l'alimentation, 2 fois par jour, en raison d'une dose de 500 mg/kg d'aliment.

Et pour bien distribuer le mercure dans les aliments, on a dissous 500 mg d'HgCl₂ dans une quantité suffisante d'eau, qui a été mélangé avec 1kg d'aliment, puis on a laissé sécher un moment.

Chaque animale a reçu une quantité de 100 g d'aliment par jour (50 g le matin et 50 g le soir) c'est à dire 50 mg du mercure par jour par lapin.

II-2-4-2- La vitamine C: la vitamine C a été achetée d'une pharmacie locale sous forme de comprimés de 500 mg (Groupe SAIDAL) et administrée par gavage, 2 fois par jours, en raison d'une dose de 100 mg/ml.

Chaque animale a reçu 3 ml de vitamine C par jour (1.5 ml le matin et 1.5 ml le soir) c'est à dire 100 mg de vitamine C par jour pour chaque lapin.

II-2-4-3- La datte: La variété de datte utilisée dans cette étude est Deglet Nour, elle est très répandue dans les palmeraies du Sud-est de l'Algérie et plus exactement à Tolga (Biskra).

Le choix de cette variété est justifié par sa qualité gustative, sa disponibilité sur le marché et sa large consommation (elle constitue 53,9 % de la production nationale).

- **Position systématique** (Munier, 1973):

Règne: Plantae

Embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Famille : Areacaceae (Palmaceae)

Tribu : Phoenicea

Genre : Phoenix

Espèce : *Phoenix dactylifera*, Linné, 1734.

Le traitement par la datte Deglet Nour a été fait dans l'alimentation, 2 fois par jour, la dose est de 10 % de la quantité d'aliment, c'est à dire dans 50 g d'aliment, 5 g est une datte, par conséquent, chaque animal a reçu 10 g de datte dans 100 g d'aliment par jour.

II-2-5- Protocole expérimental:

Après 15 jours d'adaptation, le traitement par HgCl_2 , vitamine C et datte Deglet Nour a commencé. Le protocole se résume dans le schéma suivant.

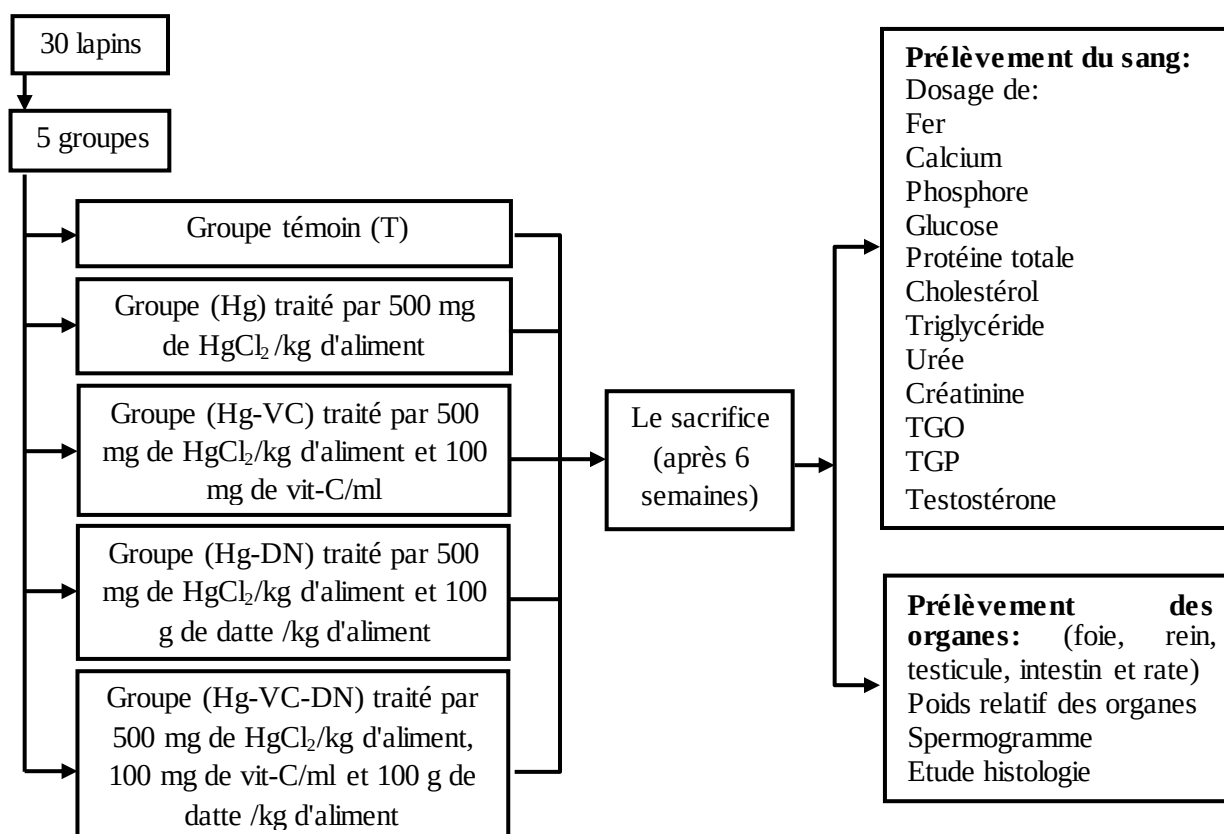


Figure II-1- Le protocole expérimental

II-2-6- Prélèvement du sang: après 6 semaines du traitement, les lapins ont été sacrifiés, le sang a été recueilli dans des tubes polyéthylène héparinés, ces derniers ont été centrifugés à 4000 tour par minute pendant 15 minutes. Le plasma a été collecté dans des tubes Eppendorf, et utilisé pour le dosage de différents paramètres.

II-2-7- Dosage des paramètres biochimique :**III-2-7-1- Dosage du fer:**

Intérêt du dosage: Le fer est un élément qui intervient dans la composition de l'hémoglobine (pigment du sang) et dans de nombreuses réactions métaboliques, une diminution de la concentration du fer est recherchée lorsque l'on suspecte une anémie ferriprive (on parle de carence martiale) ou une anémie inflammatoire.

Principe: Les ions de ferrique qui se trouve dans l'échantillon se lie avec le transferrine, et les ions de fer forment avec le ferrozine un complexe, ce dernier est détecté par la lecture de la densité optique (DO) via l'utilisation de spectrophotomètre (Wick, 1998).

Réactifs

Réactif 1 : 4x48ml de chlorure de guanidinium.....1 mol/l
 Hydroxylamine.....0,6mol/l
 Tampon acétate.....0,4mol/l

Réactif 2 : 4x2mol ferrozine.....40mmol/l
 Standard : 1x5ml d'étalon aqueux

Réactif de travail : réactif 1 + réactif 2

Mode opératoire

	Blanc	Blanc de l'échantillon	L'échantillon	Standard
Eau distillée	200µl	-	-	-
Echantillon	-	200µl	200µl	-
Standard	-	-	-	200µl
Réactif 1	-	1ml	-	-
Réactif de travail	1ml	-	1ml	1ml

Mélanger, laisser reposer 5 minutes à la température ambiante.

Mesurer la densité optique du blanc de l'échantillon par rapport à l'eau distillée à 560 nm.

Mesurer les densités optiques de standard et de l'échantillon par rapport au blanc à 560 nm.

Calcul

$$\text{Concentration } (\mu\text{mol/l}) = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}} - \text{DO}_{\text{blanc de l'échantillon}}}{\text{DO}_{\text{standard}}} \times \text{Concentration de standard}$$

III-2-7-2- Dosage du calcium:

Intérêt du dosage: Le calcium est un élément très important pour la formation et la minéralisation des os, sa répartition dans l'organisme est régulée par des hormones et son exploration peut permettre le diagnostic de désordres hormonaux, de pathologie des os, de troubles rénaux touchant l'équilibre des ions de l'organisme.

Principe: En milieu neutre, le Ca^{+2} forme avec l'arsenazo III un complexe dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration en calcium dans l'échantillon (Bauer, 1981).

Réactifs

Réactif: Tampon Mes, pH 6,5.....100 mmol/l

Arsenazo III 200 $\mu\text{mol/l}$

Etalon: Calcium.....2.5 mmol/l

Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml
Eau distillée	10 μl	-	-
Etalon	-	10 μl	-
Echantillon	-	-	10 μl

Mélanger et lire la densité optique (DO) après 1 minute d'incubation.

Zéro de l'appareil: blanc réactif.

Longueur d'onde: 650 nm.

Calcul	$\frac{\text{DO}_{\text{dosage}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times n$	mg/l	n=100
		mg/dl	n=10
		mmol/l	n=2,5

n: Concentration de l'étalon

III-2-7-3- Dosage du phosphore:

Intérêt du dosage: Le phosphore intervient avec le calcium dans la calcification des os, mais également dans la formation de nombreux composés importants pour les réactions de l'organisme et la création d'énergie (ATP, phosphorylation d'enzymes pour les activés), son évaluation est importante, associée à celle du calcium, pour aider au diagnostic de pathologies osseuses, hormonales, ou de problèmes rénaux et des troubles dans l'équilibre des ions de l'organisme (Daly et Ertingshausen, 1972).

Principe: En milieu alcalin, le complexe phospho-molybdate est réduit en complexe phosphomolybdique de couleur bleu et dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en phosphore.

Réactifs:

Réactif 1: Réactif réducteur

Chlorhydrate d'hydroxylamine..... 0.14 mmol/l
Polyvinilpyrrolidone..... 10 g/l
Acide sulfurique..... 89.63 mmol/l

Réactif 2: Sel de molybdate d'ammonium..... 6.07 mmol/l

Réactif 3: Etalon..... 50 mg/l
1.61 mmol/l

Réactif 4: Solution de soude 2 N

Mode opératoire

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Eau distillée	50 µl	-	-
R3 Etalon	-	50 µl	-
Sérum ou urine 1/5	-	-	50 µl
Mélange réactionnel	2 ml	2 ml	2 ml

Bien mélanger, laisser 2 minutes à la température du laboratoire.

Réactif 4	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
------------------	--------	--------	--------

Mélanger, laisser 15 minutes à la température du laboratoire, lire à 680 nm.

Zéro de l'appareil sur le blanc réactif.

La coloration est stable 1 heure à température du laboratoire.

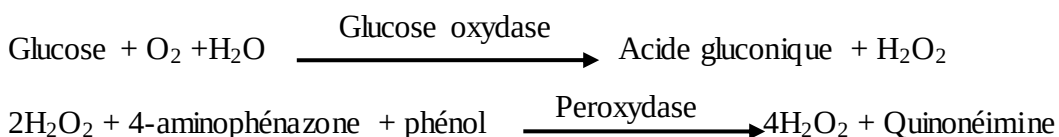
$$\text{Calcul} \quad \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times n \quad \text{mg/l} \quad n=50$$

$$\quad \quad \quad \text{mmol/l} \quad n=1.61$$

III-2-7-4- Dosage du glucose:

Intérêt du dosage: Le glucose est un élément énergétique très important dans les cellules, son taux dans le sang est maintenu stable grâce à une régulation en fonction des besoins, des perturbations dans cette régulation, liées principalement à l'insuline, sont responsable du diabète. L'intérêt principal de ce dosage réside donc dans le dépistage et le suivi du diabète afin de limiter les complications liées au diabète.

Principe: Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase, le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une α -peroxydase, avec du phénol et la 4-aminophénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré, selon les réactions suivantes (Trinder, 1969).



Réactifs:

Réactif 1: Tampon phosphate, pH 7.40100 mmol/l
Phénol

Réactif 2: Glucose oxydase $\geq 10\,000$ U/l
Peroxydase ≥ 600 U/l
4-aminophénazone 270 $\mu\text{mol/l}$

Etalon: Glucose 5.56 mmol/l

Mode opératoire:

	Standard	Echantillon	Blanc
Standard	10 μl	-	-
Echantillon	-	10 μl	-
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger et lire la densité optique (DO) après 10 minutes d'incubation.

Zéro de l'appareil: blanc réactif.

Longueur d'onde: 500 nm.

Calcul de la concentration: La concentration du glucose est calculée par la formule

$$\text{suivante: } \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times n$$

g/l	n=1
mg/dl	n=100
mmol/l	n=5.56

n: Concentration de l'étalon

III-2-7-5- Dosage des protéines totales:

Intérêt du dosage: la composition globale en protéines d'un sérum ou d'un plasma de patient doit être étudiée par détermination du contenu en protéines totales et ensuite en examinant sa composition par électrophorèse.

La diminution du volume d'eau plasmatique (hémococoncentration), fréquente en cas de déshydratation, se traduit par une hyperprotéïnémie relative. L'hémodilution (augmentation du volume d'eau plasmatique) se traduit par une hypoprotéïnémie relative. Souvent et pour différentes raisons, l'hypoprotéïnémie peut aussi être due à une diminution de la concentration en albumine. L'augmentation de protéines spécifiques peut également conduire à une hyperprotéïnémie moyenne (infection). Une hyperprotéïnémie marquée peut être due à une augmentation importante des immunoglobulines monoclonales produites lors de myélomes multiples ou autres hyperparaprotéïnémies malignes.

Principe: Les protéines et les peptides donnent avec des ions cuivre, en solution alcaline, un complexe de couleur violette. La réaction dite «du biuret» (Henry, 1964).

Réactifs

Réactif du biuret :	Tartrate de K-Na.....	32 mmol/l
	KI.....	18mmol/l
	CuSO ₄	12 mmol/l
	NaOH.....	200 mmol/l
Réactif de référence :	Tartrate de K-Na.....	32 mmol/l
	NaOH	200 mmol/l

Mode opératoire

	Echantillon	Essai à blanc de l'échantillon	Etalon	Essai à blanc de l'étalon
Sérum ou plasma	0.1 ml	0.1 ml	-	-
Etalon sérique	-	-	0.1 ml	0.1 ml
Réactif du biuret	5 ml	-	5ml	-
Réactif de référence	-	5 ml	-	5 ml

Mélanger, laisser reposer 30 minutes à la température ambiante.

Mesurer les densités optiques de l'échantillon et de l'étalon par rapport au réactif du biuret, et les densités optiques des essais à blanc par rapport à l'eau.

Longueur d'onde : 545nm

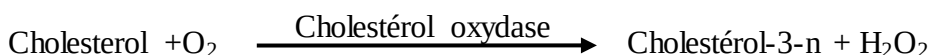
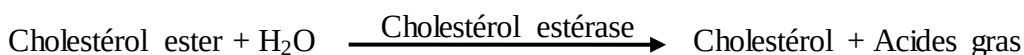
Calcul

$$\text{Concentration en protéine} = \frac{\text{DO Echantillon} - \text{DO Essai à blanc de l'échantillon}}{\text{DO Etalon} - \text{DO Essai à blanc de l'étalon}} \times 6 \text{ g/100 ml}$$

III-2-7-6- Dosage du cholestérol:

Intérêt du dosage: Paramètre de base du bilan lipidique, il est en faible part d'origine alimentaire, et pour la plus grande part fabriqué par le foie, son dosage permet de dépister une hypercholestérolémie isolée ou associée à une hypertriglycéridémie.

Principe: Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. Le cholestérol estérase hydrolyse les esters et le H_2O_2 est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol oxydase. Cette dernière réagit avec le phénol pour produire la quinonéimine, selon les réactions (Naito, 1984).



Réactifs:

Réactif 1:	Pièpes, pH 6.9	90 mmol/l
	Phénol	26 mmol/l
Réactif 2:	Peroxidase.....	1250 U/l
	Cholestérol estérase	300 U/l
	Cholestérol oxydase	300 U/l
	Amino phenazone	0.4 mmol/l

Mode opératoire

	Standard	Echantillon	Blanc
Standard	10 µl	-	-
Echantillon	-	10 µl	-
Réactif	1 µl	1 µl	1 ml

Mélange à l'aide d'un agitateur et laisser incuber pendant 5-10 minutes.

Lire la densité optique (DO) à 505 nm.

La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

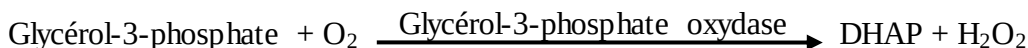
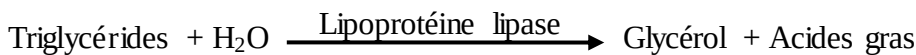
Calcul de la concentration: La concentration du cholestérol plasmatique est calculée d'après la formule suivante:

$$\text{Concentration du cholestérol} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Standard}} \times n \quad (n = 2)$$

III-2-7-7- Dosage des triglycérides:

Intérêt du dosage: Les triglycérides font partie comme le cholestérol des composés lipidiques de l'organisme, ils constituent la principale réserve énergétique de l'organisme et sont stockés dans les tissus adipeux, l'évaluation du taux de triglycérides est important pour évaluer un potentiel risque athérogène avec atteinte cardiovasculaire mais aussi en raison du risque thrombogène (formation de caillots).

Principe: les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acides gras libres, le glycérol, sous l'effet de la glycérol-kinase et de la glycérol-3-phosphate oxydase, forme H₂O₂ (Young et Pestaner, 1975).



Réactifs:

Réactif 1: Tompon pipes pH 7.2.....50 mmol/l

Solution tampon chloro-4-phénol.....2 mmol/l

Réactif 2: Lipoprotéine lipase.....150 000 U/l

Glycero Kinase.....800 U/l

Peroxydase.....400 U/l

Glycérol-3-P-oxydase.....4000 mmol/l

Amino-4-Antipyrine.....0.7 m mol/l

ATP.....0.3 m mol/l

Etalon: Triglycérides..... 200 mg/dl

Mode opératoire

	Standard	Echantillon	Blanc
Standard	10 µl	-	-
Echantillon	-	10 µl	-
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger à l'aide d'un agitateur et laisser incuber pendant 10 minutes.

Lire la densité optique (DO) à 500 nm.

Calcul

$$\text{Concentration de triglycérides} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Standard}} \times n \quad (n = 2)$$

III-2-7-8- Dosage de l'urée:

Intérêt de dosage: Le taux d'urée dépend de la fonction rénale, des apports alimentaires en protéines, de l'état d'hydratation, l'augmentation de son taux dans le sang est généralement liée à une altération rénale.

Principe: L'uréase hydrolyse l'urée en anhydride carbonique et ammoniacque. Les ions ammonium forment avec le salicylate et le chlore un complexe coloré bleu-vert, l'intensité

de la coloration est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon (Searcy *et al.*, 1967).

Réactifs:

- Réactif 1:** Salicylate.....31 mmol/l
 Nitroprussiate.....1.67 mmol/l
- Réactif 2:** Uréase5000 U/l
- Réactif 3:** Réactif alcalin
 Sodium hypochlorite.....7 mmol/l
 NaOH..... 62 mmol/l
- Réactif 4:** Etalon
 Urée 6.66 mmol/l

Mode opératoire

Mesurer dans des tubes à essais	Dosage	Etalon	Blanc
Echantillon	5 µl	-	-
Etalon	-	5 µl	-
Eau distillée	-	-	5 µl
Salicylate + Uréase	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante.

Réactif alcalin	1 ml	1 ml	1 ml
------------------------	------	------	------

Mélanger et laisser 8 minutes à température ambiante.

Lire à 600 nm contre le blanc. La coloration est stable 2 heures.

Calcul

$$\text{Concentration en urée} = \frac{\text{Abs.Dosage}}{\text{Abs.Etalon}} \times \text{concentration de l'étalon}$$

III-2-7-9- Dosage de la créatinine:

Intérêt du dosage: La concentration de la créatinine dans le sang dépend de la capacité d'élimination du rein et de la masse musculaire, son évaluation permet d'apprécier un dysfonctionnement de la filtration rénale.

Principe: Cet essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le sodium picrate comme décrite par Jaffé.

La créatinine réagit avec picrate alcaline en formant un complexe rouge, et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984a).

Réactifs

Réactif 1: Acide picrique..... 17.5 mmol/l

Réactif 2: Sodium hydroxide..... 0.29 mol/l

Créatinine CAL: Créatinine aqueuse primaire standard 2 mg/dl

Mode opératoire

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif du travail	1 ml	1 ml	1 ml
Standard	-	100 µl	-
Echantillon	-	-	100 µl

Mélanger et lire la densité optique (A_1) après 30 seconds et après 90 seconds (A_2).

Calculer $\Delta A = A_2 - A_1$.

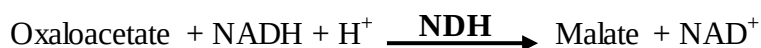
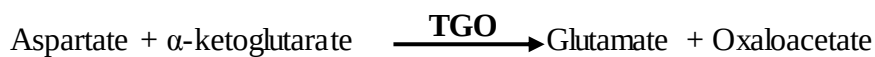
Longueur d'onde: 492 nm.

Calcul
$$\frac{\Delta A \text{ Echantillon} - \Delta A \text{ Blanc}}{\Delta A \text{ Standard} - \Delta A \text{ Blanc}} \times 2 (\text{Standard concentration}) = \text{mg/dl}$$

III-2-7-10- Dosage des transaminases:

Intérêt du dosage: Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules, leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire.

Principe de TGO transaminase: glutamate oxaloacétate TGO catalyse la transformation réversible du groupe amine de l'acide aspartique en α -ketoglutarate en formant glutamate et oxaloacetate. L'oxaloacétate produit est réduit en malate par malate déhydrogénase (MDH) et NADH (Murray, 1984b).



Réactifs

Réactif 1: TRIS pH 7.880 mmol/l
L-Aspartate 200 mmol/l

Réactif 2: NADH 0.18 mmol/l
Lactate déhydrogénase (LDH) 800 U/l
Malate déhydrogénase (MDH)600 U/l
 α -ketoglutarate12 mmol/l

Réactif de travail: dissoudre une comprimé de R2 dans 50 ml de R1.

Stabilisation: 72 heures à la température ambiante.

Mode opératoire

Réactif de travail	1 ml
Echantillon	100 μ l

Mélanger et incuber 1 minute.

Lire les densités optiques initiales (A) de l'échantillon dans un intervalle de 1 minute puis après 3 minutes.

Longueur d'onde: 340 nm.

Calcul $\Delta A/mn \times 1750 = \text{U/L de TGO}$

Principe de TGP transaminase: le glutamate pyruvate transaminase (TGP) catalyse la transformation réversible de groupe amine de l'alanine en α -ketoglutarate en formant glutamate et pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate par lactate déhydrogénase (LDH) et NADH (Murray, 1984c).



Réactifs

Réactif 1:

TRIS pH 7.8100 mmol/l
L-Alanine 500 mmol/l

Réactif 2:

NADH 0.18 mmol/l
Lactate déhydrogénase (LDH) 1200 U/l
 α -ketoglutarate15 mmol/l

Réactif de travail: dissoudre un comprimé de R2 dans 50 ml de R1.

Stabilisation: 72 heures à la température ambiante.

Mode opératoire

Réactif de travail	1 ml
Echantillon	100 μ l

Mélanger et incuber 1 minute.

Lire les densités optiques initiales (A) de l'échantillon dans un intervalle de 1 minute puis après 3 minutes.

Longueur d'onde: 340 nm.

Calcul

$$\Delta A/mn \times 1750 = U/L \text{ de TGP}$$

III-2-8- Etude statistique:

Le test "t-student" a été utilisé pour la comparaison de 2 moyennes, tandis que la comparaison multiple des moyennes a fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) (Logiciel de MINITAB 15).

II-3- Résultats:

II-3-1- Fer:

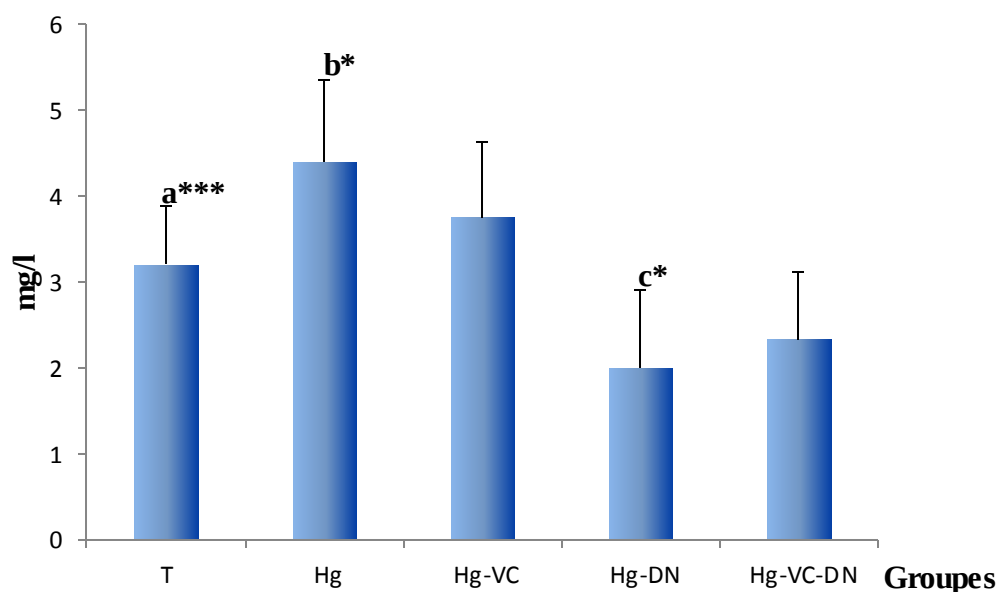


Figure II-2- Variations de concentration de fer sérique (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b*: une différence significative entre Hg et T. **c***: une différence significative entre Hg-DN et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Une augmentation de taux de fer sérique est enregistrée chez les groupes Hg (4.397 ± 0.957) et Hg-VC (3.753 ± 0.871) en comparaison avec le groupe T (3.197 ± 0.68). Cette diminution est significative ($p < 0.05$) chez le groupe Hg et non significative chez le groupe Hg-VC. Tandis que, les groupes Hg-DN (1.991 ± 0.903) et Hg-VC-DN (2.327 ± 0.795) montrent respectivement une diminution significative ($p < 0.05$) et non significative de taux de fer sérique en comparaison avec le groupe T.

La comparaison entre les cinq groupes montrent une différence très hautement significative ($p < 0.001$).

II-3-2- Calcium:

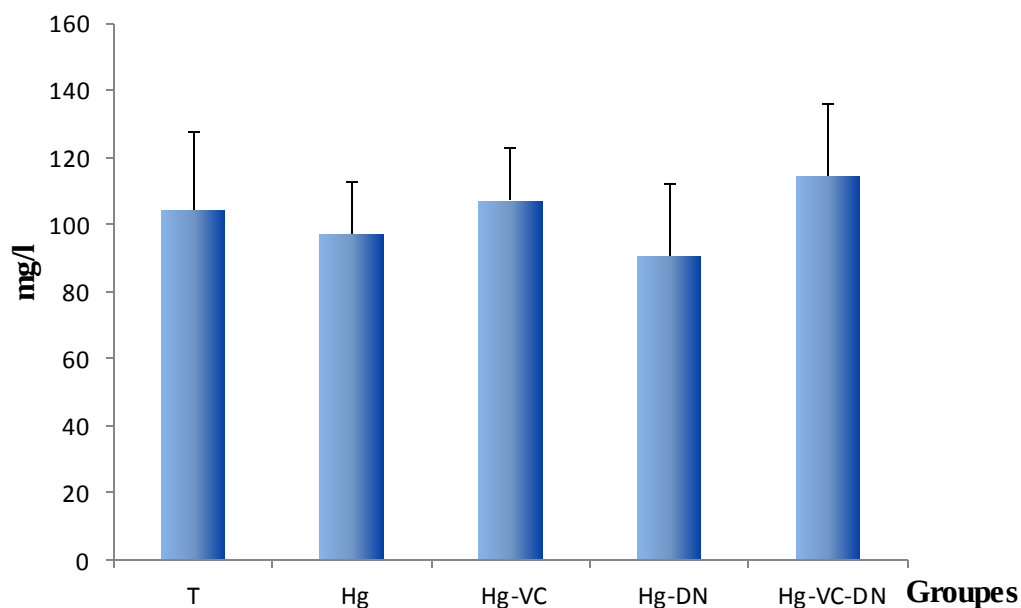


Figure II-3- Variations de concentration de calcium sérique (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

Les résultats concernant le taux du calcium sérique montrent une diminution modérée chez les groupes Hg (97.172 ± 15.667) et Hg-DN (90.652 ± 21.46) en comparaison avec le groupe T (104.21 ± 23.41).

En revanche, les groupes Hg-VC (107.058 ± 15.66) et Hg-VC-DN (114.52 ± 21.334) révèlent une augmentation non significative en comparaison au groupe T.

La comparaison multiple par le teste (ANOVA) ne montre aucune différence significative entre les cinq groupes.

II-3-3- Phosphore:

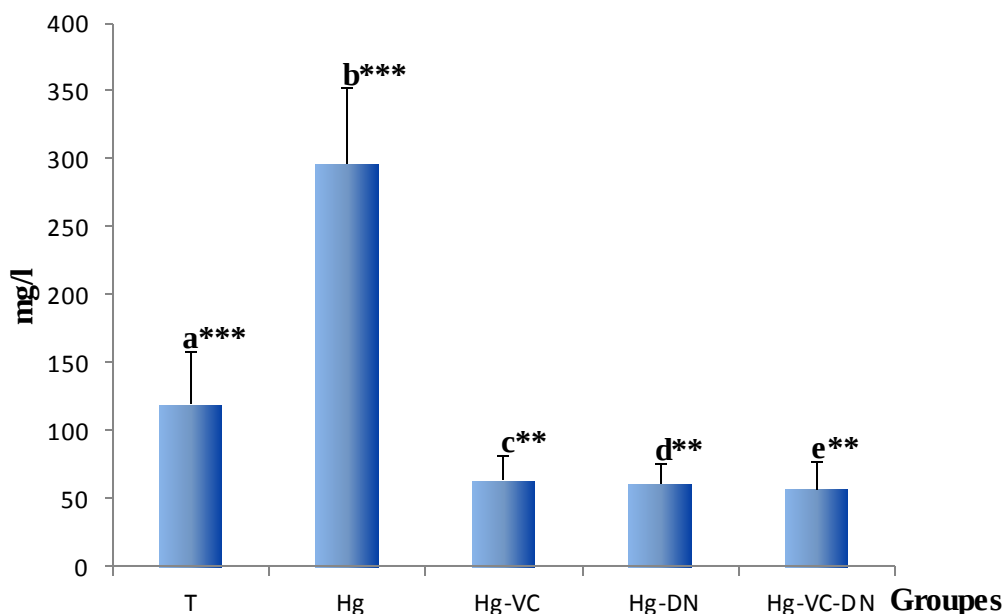


Figure II-4- Variations de concentration de phosphore sérique (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b***: une différence très hautement significative entre Hg et T. **c****: une différence hautement significative entre Hg-VC et T. **d****: une différence hautement significative entre Hg-DN et T. **e****: une différence hautement significative entre Hg-VC-DN et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Les résultats concernant le taux de phosphore sérique montrent une différence notable entre le groupe témoin T et les autres groupes traités.

Une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) est enregistrée chez le groupe Hg (296.667±55.3) en comparaison au groupe T (119.38±39.027).

En revanche, les groupes Hg-VC (63.548±18.015), Hg-DN (61.157±14.4) et Hg-VC-DN (57.127±20.37) révèlent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de taux de phosphore sérique lors de la comparaison entre eux et le groupe T.

La comparaison par le teste (ANOVA) montre une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre les cinq groupes.

II-3-4- Glucose:

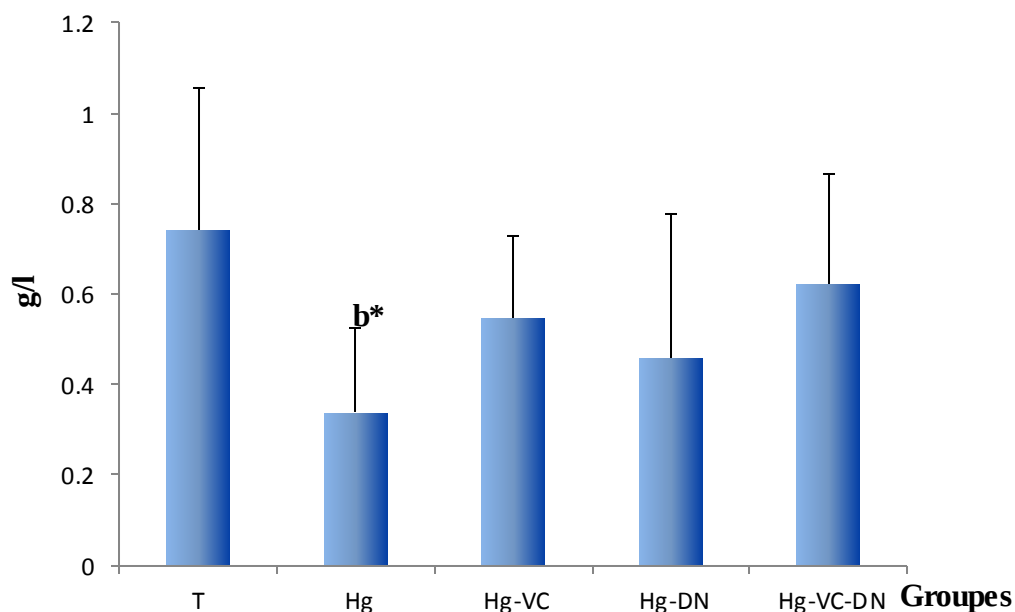


Figure II-5- Variations de concentration de glucose (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b*: une différence significative entre Hg et T (test *t-student*).

Le taux de glucose est diminué chez tous les groupes traités. Cette diminution est significative ($p < 0.05$) seulement chez le groupe Hg (0.337 ± 0.186) et non significative chez les groupes Hg-VC (0.547 ± 0.18), Hg-DN (0.458 ± 0.32) et Hg-VC-DN (0.622 ± 0.245) par rapport au groupe témoin T (0.742 ± 0.313).

La comparaison multiple par le test ANOVA ne montre aucune différence significative entre les cinq groupes.

II-3-5- protéines totales:

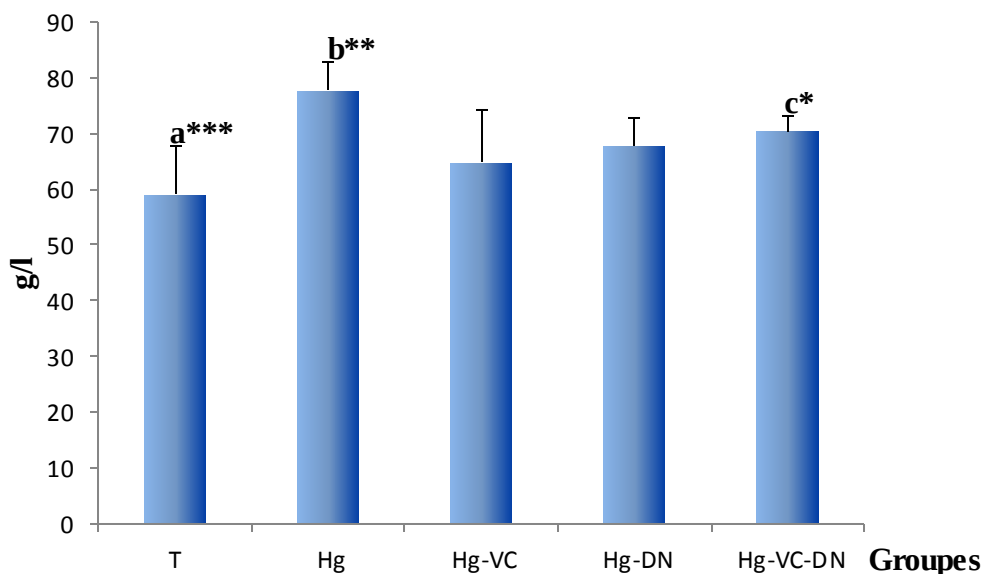


Figure II-6- Variations de concentration de protéines totales (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b**: une différence hautement significative entre Hg et T. **c***: une différence significative entre Hg-VC-DN et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

La concentration des protéines totales est augmentée chez tous les groupes traités par rapport au témoin. Cette augmentation est hautement significative ($p < 0.01$), chez le groupe Hg (77.603±5.024), et significative ($p < 0.05$) chez le groupe Hg-VC-DN (70.41±2.624). Ainsi, les groupes traités à la combinaison Hg-VC (64.74±9.319) et Hg-DN (67.818±5.097) montrent une augmentation modérée par rapport au T (58.94±8.655).

La comparaison entre les cinq groupes révèle une différence très hautement significative ($p < 0.001$).

II-3-6- Cholestérol:

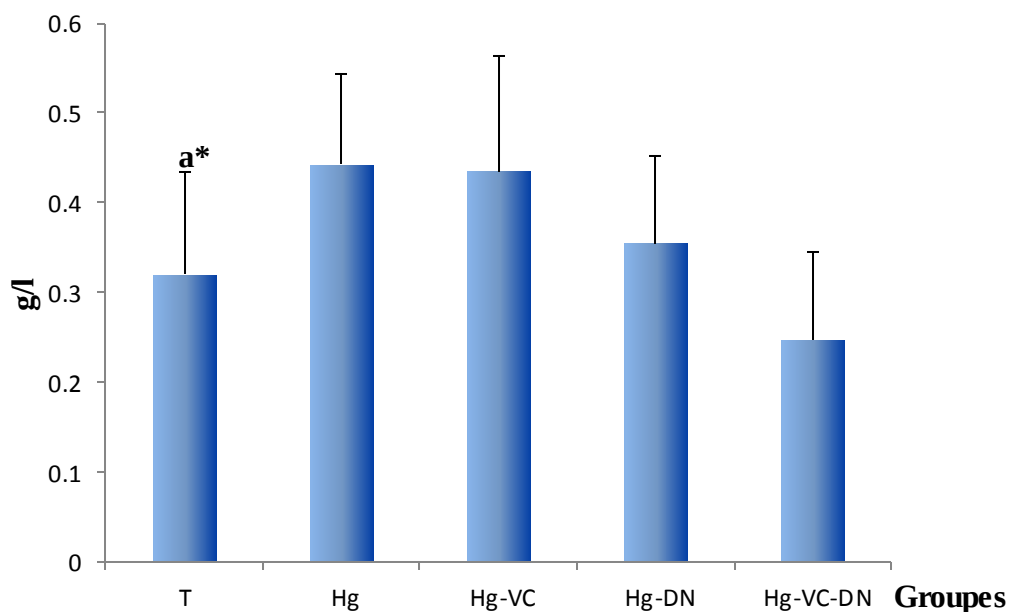


Figure II-7- Variations de concentration de cholestérol (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

a*: une différence significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Le taux de cholestérol chez les groupes Hg (0.442 ± 0.101) et Hg-VC (0.435 ± 0.128) est augmenté modérément en comparaison avec le groupe témoin T (0.32 ± 0.113). Ainsi, le groupe Hg-DN (0.355 ± 0.096) montre également une augmentation non significative.

En revanche, le groupe Hg-VC-DN (0.247 ± 0.099) révèle une diminution notable par rapport au témoin.

La comparaison multiple montre une différence significative ($p < 0.05$) entre les cinq groupes.

II-3-7- Triglycérides:

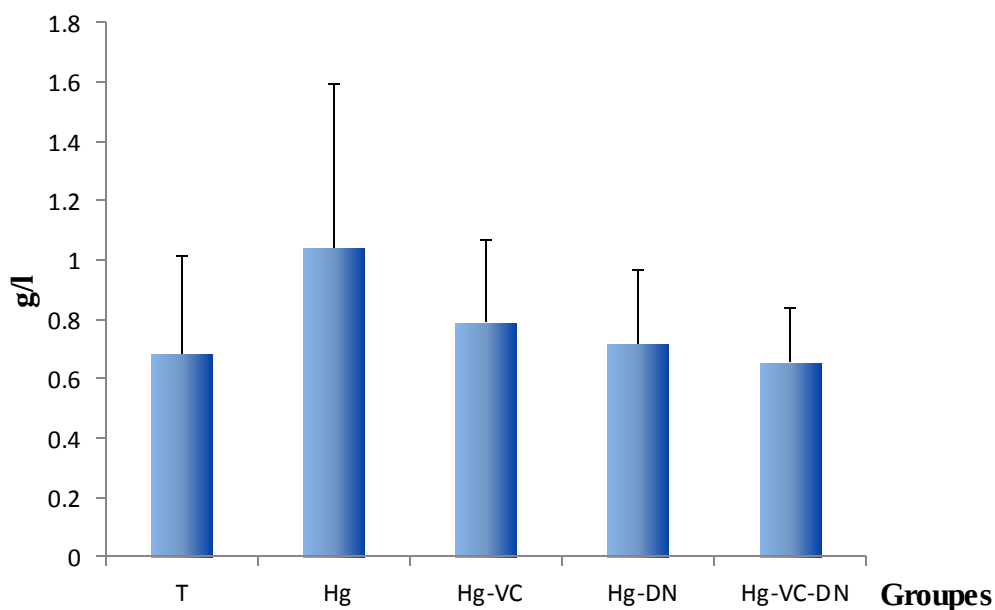


Figure II-8- Variations de concentration de triglycérides (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

Les résultats concernant le taux de triglycérides montrent une augmentation non significative chez le groupe Hg (1.042 ± 0.553) en comparaison avec le groupe témoin T (0.683 ± 0.332), une augmentation modérée est enregistrée chez les groupes Hg-VC (0.788 ± 0.283) et Hg-DN (0.717 ± 0.247) par rapport au groupe témoin.

En revanche, le groupe traité à la combinaison Hg-VC-DN (0.653 ± 0.186) révèle une diminution non significative par rapport au groupe T.

La comparaison entre les cinq groupes ne montre aucune différence significative.

II-3-8- Urée:

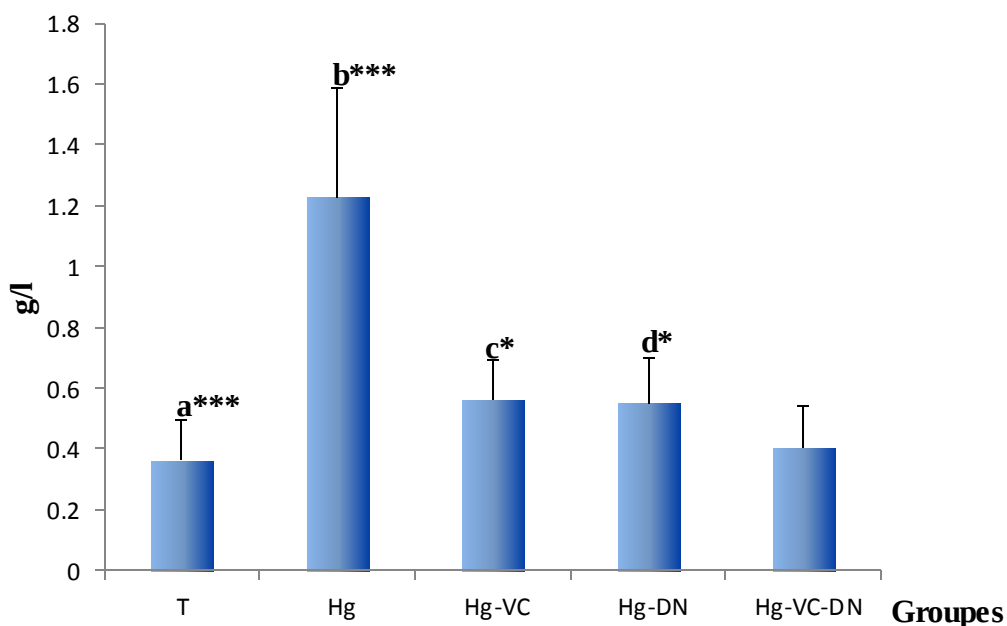


Figure II-9- Variations de concentration de l'urée (g/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b***: une différence très hautement significative entre Hg et T. **c***: une différence significative entre Hg-VC et T. **d***: une différence significative entre Hg-DN et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Les résultats concernant le taux d'urée montre une augmentation notable et très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe Hg (1.228 ± 0.36) par rapport au groupe témoin T (0.362 ± 0.131). Les autres groupes traités Hg-VC (0.56 ± 0.13) et Hg-DN (0.55 ± 0.15) révèlent une augmentation significative ($p < 0.05$) en comparaison avec le groupe témoin.

Cependant, l'augmentation est modérée chez le groupe Hg-VC-DN (0.402 ± 0.14) par rapport au témoin.

La comparaison entre les cinq groupes par le test ANOVA montre une différence très hautement significative ($p < 0.001$).

II-3-9- Créatinine:

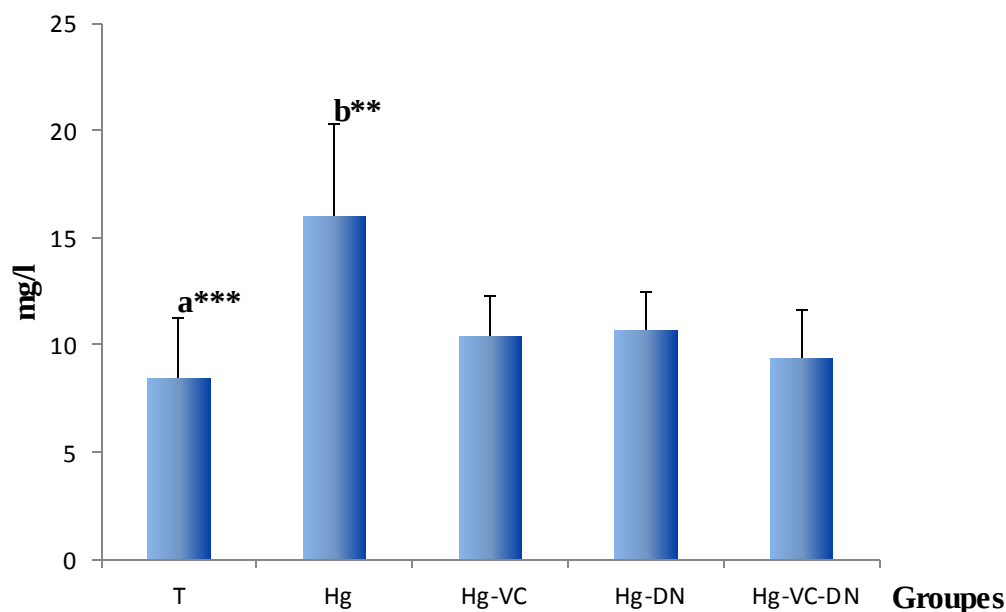


Figure II-10- Variations de concentration de la créatinine (mg/l) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b**: une différence hautement significative entre Hg et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

La concentration de la créatinine est augmentée chez tous les groupes traités par rapport au groupe témoin, cette augmentation est notable et hautement significative ($p < 0.05$) chez le groupe Hg (16.02±4.24) en comparaison avec le groupe témoin T (8.475±2.82), chez les autres groupes Hg-VC (10.423±1.87), Hg-DN (10.69±1.73) et Hg-VC-DN (9.372±2.28), l'augmentation est modérée par rapport au groupe témoin T.

La comparaison multiple montre une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre les cinq groupes.

II-3-10- TGO:

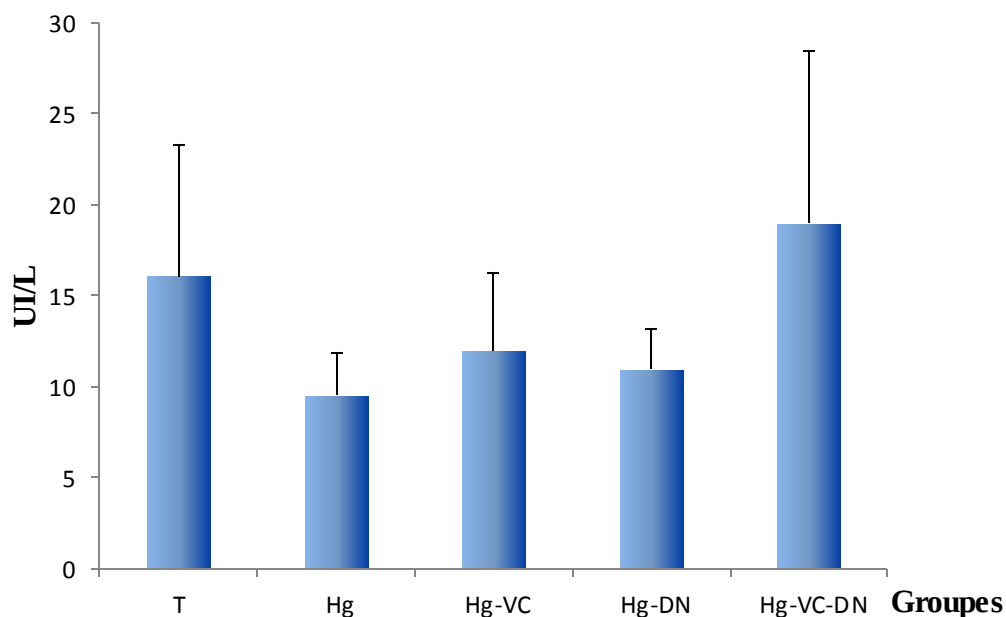


Figure II-11- Variations de l'activité de TGO transaminases (IU/L) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

Les résultats concernant le taux de TGO transaminases montrent une diminution non significative chez les groupes Hg (9.498 ± 2.393), Hg-VC (11.975 ± 4.298) et Hg-DN (10.927 ± 2.232) en comparaison avec le groupe témoin T (16.073 ± 7.17). Alors que, le groupe Hg-VC-DN (18.962 ± 9.516) manifeste une activité enzymatique intense par rapport au groupe témoin et aux autres groupes traités.

La comparaison par le test ANOVA ne montre aucune différence significative entre les cinq groupes.

II-3-11- TGP:

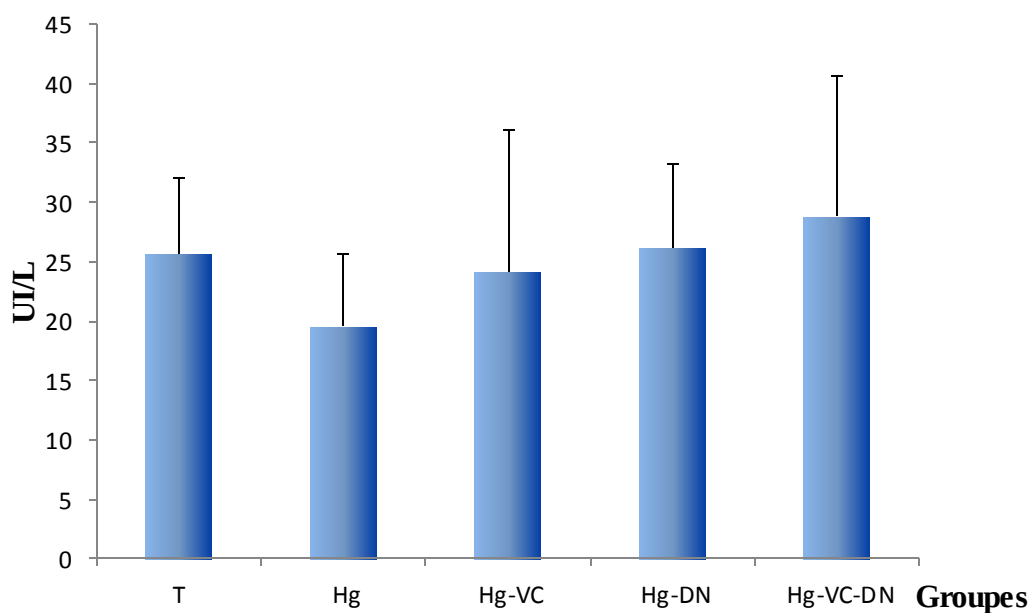


Figure II-12- Variations de l'activité de TGP transaminases (UI/L) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

L'activité enzymatique de TGP transaminases semble diminuer chez le groupe Hg traité par mercure (19.512+6.087). Alors que, le groupe traité à la combinaison Hg-VC (24.112+11.965) révèle une diminution modérée par rapport au témoin T (25.66+6.454).

E revanche, les autres groupes Hg-DN (26.157+7.102) et Hg-VC-DN (28.772+11.858) montrent une augmentation non significative dans l'activité de TGP transaminases par rapport au groupe T.

La comparaison multiple ne montre aucune différence significative entre les cinq groupes.

II-4- Discussion:

Les résultats obtenus concernant le taux du fer sérique montrent une augmentation significative chez le groupe Hg en comparaison avec le groupe témoin T, cette augmentation s'explique par le fait que le mercure se lie aux récepteurs du fer dans les lieux de réserve (foie, rate, moelle et macrophages), ces récepteurs se trouvent dans l'apoferritine; une protéine de stockage du fer dans les entérocytes et les hépatocytes. Le mercure influence également l'absorption intestinale du fer alimentaire et/ou leur transport dans le plasma sanguin, il entre en compétition avec le fer ferreux Fe^{2+} sur les sites de fixations au niveau de DMT1 (protéines de transport membranaire du fer dans les entérocytes) (Sergio et Marco, 1992) et/ou la transferrine plasmatique, ce qui entraîne une augmentation de la synthèse de ces deux protéines, l'étude de Lukačínová *et al.*, (2011) ont montré que la transferrine et la ferritine sont de bons marqueurs de l'intoxication aux métaux lourds, l'exposition des rats Wistar au chlorure de mercure à faible dose (1 μM) entraîne une augmentation de taux de transferrine et de ferritine. Dans le même sens, des études antérieures ont montré que, quelques actions des métaux traces comme le mercure peut avoir un effet inhibiteur sur l'absorption (Iturri et Nunez, 1998).

Le mercure peut agir sur plusieurs compartiments dans l'organisme, il interfère avec le fonctionnement des glandes endocrines et des organes cibles, en effet, le mercure peut modifier la structure de l'érythropoïétine (EPO) en se combinant avec les fonctions soufrées de l'hormone ce qui provoque une perturbation à son activité. ceci peut conduire soit à une anémie soit à une polyglobulie (Shaw *et al.*, 1991), sachant que cette hormone sécrétée par le cortex rénal est une hormone glycoprotéique de 166 acides aminés fortement glycosylée, possédant deux ponts disulfures nécessaires à son activité (Fisher, 2003), l'accumulation du mercure dans les cellules rénales est une autre cause de la

perturbation de la production de l'érythropoïétine et par conséquent le déroulement du processus de l'érythropoïèse.

En revanche, Lecavalier *et al.*, (1994) et Institoris *et al.*, (2002) ont rapporté que l'administration du mercure entraîne une déficience notable de taux de fer sérique traduisant par une anémie chez les rats femelles, alors que Grosicki et Kossakowski, (1990) ont rapporté que le chlorure de mercure diminue l'absorption de chlorure ferrique (FeCl_3) de l'estomac et de l'intestin. Ainsi, les travaux de Sharma *et al.*, (2005), Ghaleb *et al.*, (2012) et Adams *et al.*, (2010) ont trouvé que l' HgCl_2 diminue le taux de fer sérique chez les souris Swiss albino et les rats.

L'effet nocif du mercure ne s'arrête pas à ce niveau, il agit directement sur les érythrocytes matures en se liant aux groupements $-\text{SH}$ des protéines membranaires ce qui entraîne la lyse des membranes et la libération de l'hémoglobine contenant du fer hémique (Sultan *et al.*, 1983). Cependant, la partie la plus importante du mercure s'introduit à l'intérieur des globules rouges où il se fixe à la globine.

Le taux du fer sérique chez le groupe Hg-VC a augmenté modérément par rapport au groupe témoin, ceci s'explique par l'existence de taux élevé de vitamine C dans le sang, qui a une relation positive avec la capacité antioxydante de l'organisme, Elle joue également un rôle dans le métabolisme du fer en tant que promoteur de son absorption,

Au niveau moléculaire, la vitamine C influence le taux de ferritine plasmatique (Romeu *et al.*, 2013), elle mobilise le fer de la ferritine *in vitro*, par la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} (Bienfait et Van Den Briel, 1980). Ce qui entraîne une diminution de taux de ferritine (Na *et al.*, 2006).

Chez les groupes Hg-DN et Hg-VC-DN, le taux de fer sérique est diminué en comparaison avec le groupe témoin. Ceci s'explique par l'action antioxydante des molécules présentes dans la datte Deglet Nour, cette dernière contient un mélange d'antioxydants très varié,

incluant le zinc, le selenium et les polyphénols ...qui travaillent en commun pour prévenir l'organisme contre l'effet toxique du mercure; le cas du groupe Hg-DN et en collaboration avec la vitamine C comme chez le groupe Hg-VC-DN. Ces résultats sont en accords avec ceux de Bahmani *et al.*, (2016) qui ont prouvé que la supplémentation en sélénium entraîne une augmentation significative de la capacité antioxydante dans le plasma chez l'homme. D'autre part, l'étude de Samman *et al.*, (2001) ont montré que les polyphénols augmentent l'absorption intestinal de fer non héminique.

Une légère diminution de taux de calcium sérique est enregistrée chez le groupe Hg en comparaison avec le groupe témoin, ces résultats sont en accord avec ceux de Abdelhamid, (1988) et Ahmed *et al.*, (1991). D'après Yallapragoda *et al.*, (1996) le mercure peut altérer le transport intestinal du calcium, il entre en compétition avec les ions calcium sur les transporteurs au niveau de l'intestin; le CaBP (Calcium Binding Protein) est la protéine responsable de l'entrer du calcium de l'intestin dans la circulation sanguine, l'antagonisme entre ces deux molécules entraîne une diminution de taux du calcium sérique voire une hypocalcémie (Shapira, 1981; Valkd *et al.*, 2005; Métais *et al.*, 1985). D'autres études ont montré que l'hypocalcémie résulte d'une calciurie provoquée par le mercure suite à une atteinte rénale et une perturbation de l'excrétion urinaire du calcium chez les rats (Liu *et al.*, 1991; Shull *et al.*, 1981).

En revanche, de nombreuses études menées sur l'action du mercure sur l'homéostasie du calcium ont montré que l'administration du mercure perturbe l'homéostasie du calcium en entraînant une hypercalcémie (Valkd *et al.*, 2005; Sastry et Sharma, 1980; Liu *et al.*, 1991, Ghaleb *et al.*, 2012), cette augmentation s'explique par l'accumulation du mercure dans les tissus osseux ce qui affecte l'équilibre entre les activités des ostéoblastes et des ostéoclastes en conduisant à la mobilisation du calcium à partir des os dans le sang (Ghaleb *et al.*, 2012). D'après Goyer *et al.*, (1994) le mercure et le méthylmercure altèrent ou inhibent les

fonctions de certaines cellules osseuses et épuisent les réserves de calcium. Cela peut être un facteur important dans la libération du calcium des os (ostéoporose) d'une part. D'autre part, les ostéoclastes possèdent une enzyme appelée phosphatase acide tartrate résistante (TRAP) qui est un marqueur de résorption. La membrane d'ostéoblaste est riche en enzyme; la phosphatase alcaline osseuse (ALP), qui est un index de la formation osseuse, cette enzyme passe dans le sang circulant et peut être dosée. Susuki *et al.*, (2004) ont mesuré l'activité de TRAP et de ALP dans les écailles des poissons, les deux enzymes sont respectivement des indicateurs d'activité des ostéoclastes et des ostéoblastes. L'activité de TRAP et ALP a diminué après le traitement par le méthylmercure (Hussein *et al.*, 2012).

Cette étude démontre que le mercure agit directement sur les cellules osseuses et l'homéostasie du calcium et indique que, dans une exposition à court terme, le mercure a plusieurs effets sur plusieurs niveaux et induit une hypercalcémie (Susuki *et al.*, 2004).

D'autres mécanismes pourraient être impliqués, y compris les effets sur la parathormone (PTH) sécrétée par la glande parathyroïde et la calcitonine (CT) de la glande thyroïde (Shull *et al.*, 1981).

L'homéostasie du calcium est également réglée par ces deux hormones principales, la PTH augmente le taux du calcium sanguin, alors que la CT l'abaisse. La présence de mercure dans l'organisme et sa combinaison avec les protéines, les hormones, et d'autres composants altère l'homéostasie du calcium (Valkd *et al.*, 2005). Le métabolisme du calcium est perturbé par le mercure en induisant une augmentation de l'absorption intestinale, et une altération du métabolisme du calcium dans les tissus musculaires (Abramson *et al.*, 1983; Atchison *et al.*, 1986). Une étude de Suzuki *et al.*, (2004) a montré que le traitement du poisson rouge par méthylmercure entraîne une hypercalcémie suivi par une augmentation de la sécrétion de CT.

En revanche, les groupes Hg-VC et Hg-VC-DN révèlent une augmentation non significative en comparaison avec le témoin. Cette augmentation s'explique par le fait que la vitamine C et les composants antioxydants, présents dans la datte Deglet Nour, réduisent l'effet nocif du mercure au niveau intestinal, osseux, rénal ou hormonal.

Le phosphore (Ph) est avec le calcium le composant le plus abondant du squelette. Contrairement au calcium, il représente un des composants majeurs des tissus mous. Il est présent dans les liquides intra et extracellulaires et il participe directement à la plupart des processus métaboliques (Essig et Friedlander, 1998). Une perturbation de niveau de phosphore sérique peut être survenue lorsque le mercure entre en compétition avec le phosphore sur les protéines de transport intestinal qui, avec le système de co-transport Na⁺/Ph, permettent l'entrée simultanée du sodium et du phosphate dans l'entérocyte (Hildman *et al.*, 1982). Ou lorsque le mercure perturbe le processus de l'ossification au niveau des os.

Nos résultats concernant le taux de phosphore sérique montrent une augmentation notable chez le groupe Hg par rapport au témoin, cette augmentation peut être due à la résorption du phosphore des cellules osseuses, sous l'action du mercure, et la perturbation dans le système hormonal qui règle l'homéostasie du phosphore. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Endo *et al.*, (2003). En revanche, les études de Hoffman *et al.*, (2005) et Adams, (2010) ont révélé que la contamination par mercure entraîne une réduction significative de taux de phosphore inorganique chez oiseaux et les poissons.

D'autres minéraux essentiels se font également remplacer ou substituer par le mercure. Ce qui signifie que même si on consomme assez de ces minéraux essentiels, ils ne se rendent pas aux cellules parce que le mercure a déjà occupé leurs places. Étant donné qu'il est plus lourd, les autres métaux et minéraux n'ont aucune chance. Malgré une bonne alimentation,

les cellules souffrent d'une carence nutritionnelle. Ceci entraîne automatiquement des perturbations au niveau physiologique, émotionnel ou mental.

Toutefois, un taux élevé de Ph et un taux bas de Ca est en faveur d'une hypoparathyroïdie (Chlienger, 2012).

Chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN, le taux de phosphore est diminué significativement en comparaison avec le groupe Hg, ce qui indique que la vitamine C et la gamme d'antioxydants présents dans la datte Deglet Nour ont un effet bénéfique sur le taux de calcium et phosphore sérique. Plusieurs études menées sur l'action de la supplémentation en vitamine C sur la calcémie et la phosphorémie ont montré que la vitamine C augmente le taux de calcium sérique et abaisse la formation osseuse liée à une réduction du nombre des ostéoblastes actifs. La supplémentation en vitamine C a eu donc un effet inhibiteur sur le recrutement des ostéoblastes, c'est à dire sur la multiplication et/ou la différenciation des précurseurs ostéoblastiques, au niveau des os (Denis *et al.*, 1997), dans le même sens, les travaux de Weiser *et al.*, (1992) chez le poulet ont montré une élévation du calcitriol plasmatique et de la CaBP duodénale avec un régime enrichi en vitamine C. Des travaux très anciens suggèrent également un effet stimulant de la vitamine C sur l'absorption et la rétention du calcium et du phosphore (Bourne, 1972).

En revanche, une étude In vitro a révélé que la vitamine C est un facteur de différenciation des ostéoblastes, indispensable à la formation de nodules de minéralisation. En effet, la carence en vitamine C entraîne un défaut de formation osseuse se traduisant par une diminution du contenu en calcium et en collagène de l'os et de la densité minérale, Mais il n'existe que très peu de faits expérimentaux montrant l'impact d'une supplémentation en vitamine C sur le métabolisme osseux (Denis *et al.*, 1997).

Une étude de Alekel *et al.*, (2000) a montré que les polyphénols augmentent la densité et favorisent la rétention des minéraux dans le tissu osseux, ce qui explique la diminution de taux de phosphore dans le sang.

D'autre part, le zinc contribue également au processus de l'ossification, des déficiences en zinc sont responsables d'une réduction de l'activité des ostéoblastes ainsi que de perturbations dans la synthèse du collagène et de la chondroïtine-sulfate.

Concernant le taux de glucose ou la glycémie, le traitement par le mercure seul entraîne une diminution notable chez le groupe Hg par rapport au témoin, la diminution peut être due à l'augmentation de son utilisation par l'organisme car il constitue la source immédiate d'énergie sous l'effet du stress, l'excrétion urinaire du glucose à cause d'un mauvais fonctionnement des glomérules et la détérioration de la fonction urinaire peut également constituer une autre cause de l'hypoglycémie (Kyle *et al.*, 1983). En effet, la réabsorption du glucose est également affectée, le processus se produit principalement dans la membrane de la bordure en brosse du segment contourné du tubule proximale, le glucose pénètre dans les cellules tubulaires par un système de transport actif en utilisant une protéine porteuse, qui est dépendant au sodium, le transport du glucose au niveau de la membrane basolatérale est survient par diffusion facilitée indépendant au sodium. Dans l'autre sens, si le taux de glucose excrété dépasse plus le taux réabsorbé, le rein est incapable de le résorber, et une grande quantité sera excrété dans l'urine (Sheikh *et al.*, 2011). Dans le même sens, les travaux de Wei *et al.*, (2008) ont révélé que le cinabre diminue le taux de glucose, de lipides et des lipoprotéines chez les rats traités. L'HgCl₂ induit également une hypoglycémie à 45 et 60 jours (Merzoug *et al.*, 2009). En outre, Durczok *et al.*, (2002) ont démontré que l'absorption et la rétention du glucose ont été profondément affecté dans plusieurs tissus de rats exposés de façon chronique au CH₃HgCl, en confirmant l'interférence de plusieurs mécanismes complexes liés au métabolisme du mercure, ce qui

entraîne une perturbation de taux de glucose, ainsi, la dose administrée, la durée de l'exposition et l'âge de l'individu sont également impliqués. Le mercure entraîne également une inhibition du transport du glucose (Al-Saleh et Shinwari, 1997)

En revanche, des études antérieures ont prouvé que le mercure inhibe la production d'insuline qui est une hormone pancréatique importante responsable de l'hypoglycémie, les cellules responsables de la production d'insuline peuvent être endommagées ou détruits (Huggins et Levy, 1999). L'HgCl₂ peut également augmenter la sécrétion du glucagon en provoquant l'hyperglycémie (Abdehamid, 1988). D'après Sheikh *et al.*, (2011); Mohamed *et al.*, (1999) l'hyperglycémie est liée à des dommages oxydatifs au niveau cellulaire. Le stress oxydatif provoque l'auto-oxydation du glucose en induisant une hyperglycémie, ce qui peut conduire à la production d'O₂⁻ et d'autres ROS. Une autre façon d'hyperglycémie peut être due à l'amélioration de la gluconéogenèse et de la glycogénolyse et une diminution de l'utilisation du glucose à cause d'une production accrue d'enzymes du stress oxydatif par le mercure (Sheikh *et al.*, 2011).

Toutefois, l'étude de Jadhav *et al.*, (2007b) a montré que l'exposition chronique à un mélange de métaux lourds contenant du mercure pendant 90 jours par voie orale n'a aucun effet sur le taux du glucose.

Chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN le taux de glucose semble améliorer par rapport au groupe Hg, cette amélioration s'explique par le fait que la vitamine C contribue à corriger le déséquilibre du métabolisme du glucose, une étude de Pfleger et Scholl, (1986) ont montré que les personnes qui consomment des doses supplémentaires en vitamine C peuvent améliorer leur équilibre glycémique de façon significative.

En revanche, chez les patients diabétiques, une réduction significative du taux de glucose dans le sang (en moyenne de 30 %) est enregistrée suite à une supplémentation en vitamine

C, les besoins en vitamine C sont augmentés à cause d'une production accrue des radicaux libres (Dakhale *et al.*, 2011).

Les groupes traité par la datte Deglet Nour seul ou combinée avec la vitamine C montrent une amélioration de taux de glucose par rapport au groupe Hg. Cependant, la comparaison entre ces 2 groupes et le témoin révèle une diminution non significative, cette diminution est due principalement à l'action des polyphénols de la datte. Des études récentes ont expliqué l'action des polyphénols, sur le métabolisme du glucose à trois niveaux: diminution de l'absorption intestinale du glucose par leur fixation sur le transporteur intestinal du glucose (Kobayashi *et al.*, 2000), une meilleure absorption du glucose par les tissus périphériques (Sabu *et al.*, 2002) et une meilleure sensibilité des récepteurs du pancréas au glucose (Wu *et al.*, 2004), les polyphénols effectuent leur action antihyperglycemic par le transport du glucose vers les tissus (Kumarappan et Mandal, 2014). D'autres études ont montré que les polyphénols permettent de diminuer la glycation des protéines circulantes (Fukino *et al.*, 2008; Lunceford *et al.*, 2005).

Chez le groupe traité Hg, le taux de protéines totales a augmenté significativement en comparaison avec le témoin T, ces résultats sont en accord avec les travaux de Wadaan, (2009); Lukačinová *et al.*, (2011); Brandão *et al.*, (2011); Joshi *et al.*, (2014a) et Joshi *et al.*, (2014b). L'augmentation est due à une perturbation de l'intégrité membranaire de certaines cellules et de l'augmentation de l'activité hépatique. En effet, le dosage des protéines totales plasmatiques est utilisé pour apprécier le fonctionnement hépatique et rénal, la toxicité hépatique par mercure conduit une déficience de la synthèse des protéines en particulier l'albumine (Estepa, 2006). Les radicaux libres peuvent réagir avec les différents acides aminés et donc altérer la structure des protéines. Les fonctions des enzymes, les récepteurs et les protéines de transport cellulaire peuvent ainsi être modifiées. C'est donc toute la machinerie cellulaire qui peut être affectée.

D'autre part, le foie manifeste des effets hépatotoxiques par mercure organique ou inorganique comme une altération et diminution de la synthèse des protéines. Des résultats similaires ont été enregistrés par El-Demerdash (2001); Jadhav *et al.*, (2007a); Jadhav *et al.*, (2007b). D'autre part, Le mercure se déplace principalement en se liant à des protéines plasmatiques tels que l'albumine (Sundberg *et al.*, 1999). Il se fixe à des sites des liaisons des protéines plasmatiques (groupement -SH), le mécanisme de distribution du mercure et ses composés dépend des formes diffusées dans les différents tissus (Clarkson, 1972). En revanche, les études de Vutukuru et Basani, (2013); Lakshmi *et al.*, (2014) ont montré que l'intoxication par mercure entraîne une diminution de taux de protéines totales dans le plasma.

Chez le groupe Hg-VC, la concentration de protéines totales est diminuée par rapport au groupe Hg, ceci s'explique par l'action antioxydante de vitamine C en protégeant les membranes cellulaire, l'ADN, les protéines de cellules et les lipides contre les effets des radicaux libres (Liji et Thomas, 2016). La vitamine C prévient également l'intégrité membranaire des cellules hépatiques et rénales de stress oxydatif en piégeant les radicaux libres. Alors que, les groupes Hg-DN et Hg-VC-DN révèlent une augmentation non significative de taux de protéines totales par rapport aux groupes témoin et Hg-VC, ceci est due à l'existence des quantités supplémentaires en sélénium dans la datte Deglet Nour.

Le sélénium est un oligoélément qui est intégré sous la forme d'un acide aminé (la sélénocystéine) dans les sélénoprotéines, ce qui protège les protéines contre les modifications de leur structure ou l'inhibition de leurs activités biologiques par les radicaux libres (Gérard Miquel, 2001). Certaines de ces protéines sont impliquées dans le maintien de l'équilibre entre la production de radicaux libres et les défenses de l'organisme.

Le zinc qui est un composant de la datte contribue à la diminution des dommages oxydatifs des protéines et de l'ADN (Ozcelik *et al.*, 2012).

Les résultats concernant les taux de cholestérol et de triglycérides montrent une augmentation chez le groupe Hg en comparaison avec le témoin, ces résultats sont en accords avec ceux de Siouda et Abdenmour, (2015); Joshi *et al.*, (2014a); Joshi *et al.*, (2014b) et El-Shenawy et Hassan, (2008), l'augmentation de taux de cholestérol et de triglycérides peut s'expliquer par une détérioration de l'activité hépatique provoquée par le mercure, en fait, un taux élevé de cholestérol est un signe de dommages hépato-rénal (Joshi *et al.*, 2014b) et un taux élevé de triglycérides peut indiquer une peroxydation lipidique. Récemment, un rapport prouve que le mercure et ses composés provoquent des changements métaboliques entraînant des troubles cardio-vasculaires, ce qui indique que le taux de cholestérol sanguin et de triglycérides seraient donc impliqués dans l'augmentation des risques cardio-vasculaires induits par l'Hg (Mozaffarian, 2009). D'autre part, Wadaan (2009) a rapporté que les niveaux de cholestérol sérique et de triglycérides ont été augmentés de manière significative chez les rats mâles adultes exposés à l'HgCl₂ pendant 15, 30, 45 ou 60 jours, respectivement. Cependant, l'étude de Maarouf *et al.*, (2008) ne présente aucune variation des taux de triglycérides, cholestérol total, HDL et LDL chez les lapins traités par l'HgCl₂.

Le groupe traité Hg-VC montre une légère diminution de taux de cholestérols par rapport au groupe Hg, la diminution s'explique par l'action positive de vitamine C sur le taux de cholestérol, en effet, elle intervient dans la conversion du cholestérol en acides biliaires, cette conversion est la principale voie utilisée par l'organisme pour se débarrasser du cholestérol en excès. La vitamine C joue également un rôle régulateur dans le métabolisme des lipides en contribuant à réguler la synthèse et la dégradation de cholestérol et de triglycérides du sang (Harwood *et al.*, 1986).

La diminution notable de taux de cholestérol et de triglycérides chez les groupes traités par Deglet Nour prouve l'action bénéfique exercée par les polyphénols qu'elle contient sur la

santé cardio-vasculaire. Des études antérieures ont prouvé l'activité hypocholestérolémiantes de la datte (Albert, 1998 ; Jaccot et Campillo, 2003). En effet, les polyphénols améliorent le profil lipidique (Del Rio *et al.*, 2013) et diminuent la sensibilité des LDL à l'oxydation (Bernard *et al.*, 2003). Des essais cliniques ont apporté des preuves que l'ingestion de polyphénols abaisse modérément les niveaux de cholestérol dangereux LDL et augmente de façon significative le cholestérol bénéfique HDL (Morand et Milenkovic, 2014). Ces résultats suggèrent que des substances polyphénoliques pourraient contribuer à réduire le cholestérol LDL, augmenter le cholestérol HDL et abaisser l'oxydation des LDL (Baba *et al.*, 2007).

Les résultats concernant le taux de l'urée et de la créatinine montrent une augmentation significative chez le groupe Hg en comparaison avec le groupe témoin T, cette élévation est due à une insuffisance rénale, d'après Edelstein, (2008) l'élévation de taux de l'urée et de la créatinine sérique peut être considérée comme de bons marqueurs de l'insuffisance rénale. Donc, le dosage de l'urée et de la créatinine dans le sang permettent d'apprécier facilement la fonction de rein. Ainsi, l'urée provient du métabolisme habituel des protéines et est excrété dans les urines, l'augmentation de taux de l'urée indique des lésions glomérulaires provoqués par le catabolisme protéiques et la conversion de l'ammoniaque en urée résultant de l'augmentation de la synthèse de l'arginase; enzyme impliquée dans la production de l'urée (Harper *et al.*, 1979; vanholder *et al.*, 1992). Des études antérieures ont montré une augmentation significative de taux plasmatique de l'urée et de la créatinine chez les humains et les modèles animaux exposés au mercure organique et inorganique (Mc Neil *et al.*, 1988; WHO, 1991; Buchet *et al.*, 1980; Sheikh *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2008; Joshua *et al.*, 2007; Gray et Kavlock, 1987; Siouda et Abdenmour, 2015; Othman *et al.*, 2014; Favero *et al.*, 2014; Goda et Aldahmash, 2013; Endo *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2011).

Dans le même sens, les études de Brandão *et al.*, (2011); Kyle *et al.*, (1983); Jadhav *et al.*, (2007b); Mesquita *et al.*, (2016) ont montré que l'HgCl₂ provoque une augmentation du taux de l'urée et de créatinine. D'après Franciscato *et al.*, (2011) le mercure a provoqué une élévation de taux de l'urée et de créatinine en moyenne de 240 % et 278 % respectivement.

Agarwal et Behari, (2007) et Al-Madani *et al.*, (2009) ont expliqué cet élévation par la présence des dommages rénales aiguës et persistantes, et des atteintes glomérulaires confirmant ainsi la sensibilité des reins à l'exposition au mercure. Selon WHO, (1991) la présence des perturbations fonctionnelles rénales dues à l'exposition au mercure peut entraîner une anurie. Et survient également de l'accélération du catabolisme des protéines, car le mercure provoque le stress oxydatif (Maarouf *et al.*, 2008).

Une diminution notable de taux d'urée et de créatinine est enregistrée chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN, cette diminution s'explique par le rôle protecteur de la vitamine C et les antioxydants de la datte Deglet Nour contre la toxicité mercurielle en prévenant les reins des radicaux libres toxiques. Une étude récente a montré que l'augmentation de la consommation de vitamine C dans l'organisme est liée à une augmentation des besoins en vitamine C dès au premier moment de l'intoxication (Mesquita *et al.*, 2016).

Le zinc a également un pouvoir antioxydant et intervient dans la prévention des effets toxiques provoqués par les radicaux libres. Lorsque les animaux sont exposés au zinc avant le traitement par mercure, cet effet est partiellement prévenu, indiquant que la pré-exposition au zinc est un traitement préventif important contre la néphrotoxicité induite par le mercure.

Les résultats concernant les taux de transaminases montrent une diminution notable de l'activité enzymatique de TGO et de TGP chez le groupe Hg en comparaison avec le témoin. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Abdehamid, (1988); Moraes-Silva

et al., (2012); Oliveira *et al.*, (2014). Dans le même contexte, les travaux de Peixoto et Pereira, (2007) ont prouvé que la diminution de taux de TGP est de 40 % après 21 jours de l'exposition au mercure, alors que, Franciscato *et al.*, (2011) ont trouvé que la diminution est en moyenne 66.2 %.

Les taux d'enzymes hépatiques, tels que le glutamyl-oxaloacétate-transférase (TGO ou AST) et glutamyl-pyruvate-transférase (TGP ou ALT) ont été utilisés comme marqueurs des lésions hépatiques (Liz, 2003; Svetlov *et al.*, 2006). ils sont les premiers à utiliser en enzymologie pour un diagnostic lié aux lésions hépatiques (Whitby *et al.*, 1984; Kuchel et Ralston, 1988), la diminution de l'activité enzymatique de TGP est due aux modifications chimiques qui affectent le groupement –SH de systéine, impliquées dans l'inactivation de TGP (Vedavathi *et al.*, 2004). Alors que, l'élévation des niveaux de TGO et TGP dans le plasma est corrélée à des dommages des tissus hépatiques parenchymateuses (Wendy et Brickwell, 2007). Ces dommages hépato-cellulaires affectant le foie peut entraîner des lésions cellulaires en libérant ces enzymes du cytoplasme dans le sang (Sharma *et al.*, 2005; Jagadeesan et Kavitha, 2006). D'autre part, l'intoxication par le mercure entraîne une augmentation significative des activités de TGO et TGP due à une nécrose hépatocellulaire, ce qui augmente la perméabilité de la membrane cellulaire, en conduisant à la libération de la transaminase dans le sang (Sharma *et al.*, 2002; Vandenberghe, 1995). En revanche, les études de Nwokocha *et al.*, (2010); Jagadeesan *et al.*, (2006); Anjum et Shakoori, (1994); Sastry et Sharma, (2000); Kumar *et al.*, (2005); Joshi *et al.*, (2014b) et Siouda et Abdenmour, (2015); Flora *et al.*, (1994) ont montré que l'administration de chlorure de mercure entraîne une augmentation de taux des transaminases chez les animaux.

L'administration de la vitamine C et la datte induit une amélioration de l'activité de TGO et TGP transaminases chez les groupes Hg-VC, Hg-DP et Hg-VC-DP en comparaison avec le

groupe Hg, ce qui indique que la vitamine C supporte ainsi l'activité enzymatique en régénérant d'autres molécules antioxydantes non enzymatiques comme la vitamine E, et en protégeant la glutathion contre l'oxydation (Liji et Thomas, 2016), ces résultats sont en accord avec les travaux de Manawadi et Kaliwal, (2010) qui ont montré que la supplémentation en vitamine C peut protéger la fonction hépatique contre les perturbations physiologiques provoquées par le mercure, ce qui améliore l'activité enzymatique des enzymes du foie. Ainsi, la supplémentation en vitamine C et/ou sélénium prévient également l'activité intense des enzymes hépatiques.

Le zinc est connu pour protéger l'activité enzymatique contre l'effet du mercure (Peixoto et Pereira, 2007) et protège également l'inhibition des enzymes dans le sang, il a un rôle important dans l'élimination du mercure de foie et des reins, une étude récente a montré que l'aministration de $ZnCl_2$ entraîne une élimination de 25 % du mercure accumulé dans le foie (Oliveira *et al.*, 2015).

Les polyphénols interviennent également dans l'amélioration de l'activité enzymatique en stimulant les défenses antioxydantes d'une part via l'inhibition des activités enzymatiques pro-oxydantes et d'autre part via la modulation des voies de signalisation intracellulaires contrôlant l'expression des enzymes antioxydantes.

II-5- Références bibliographiques

Abdelhamid AM. (1988). Effect of dietary contamination with mercury on the performance of rabbits. *Arch. Tierernahr.* 38(3): 207-14.

Abramson JJ, Trimm JL, Weden L, Salama G. (1983). Heavy metals induce rapid calcium release from sarcoplasmic reticulum vesicles isolated from skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci.* 80: 1526-30.

Adams DH, Sonne C, Basu N, Dietz R, Nam DH, Leifsson PS, Jensen AL. (2010). Mercury contamination in spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*: An assessment of liver, kidney, blood, and nervous system health. *Science Of The Total Environment.* 408 (23): 5808-16.

Agarwal R, Behari JR. (2007). Effect of selenium pretreatment in chronic mercury intoxication in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79: 306-10.

Ahmed KE, Adam SEI, Idris OF and Wahbi AA. (1991). Sensibilité des, chèvres nubiennes à l'intoxication par le mercure au Soudan. *Revue Elev Méd vét Pays trop.* 44 (2): 123-9.

Albert L. (1998). La santé par les fruits. *Ed Veechi. Paris.* 44-74.

Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. (2000). *Am J Clin Nutr.* 72: 844-52.

Al-Madani WA, Siddiqi NJ, Alhomida AS. (2009). Renal toxicity of mercuric chloride at different time intervals in rats. *Biochem Insights.* 2: 37-45.

Al-Saleh I, Shinwari N. (1997). Urinary mercury levels in females: influence of dental amalgam fillings *Biometals.* 10(4): 315-23.

Anjum F, Shakoori AR. (1994). Sublethal effects of inorganic mercury on the body growth rate and liver function enzymes of phenobarbitone pre-treated and promethazine pre-treated rabbits. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 13(2):125-32.

Atchison WD, Joshi U, Thornburg JE. (1986). Irreversible suppression of calcium entry into nerve terminals by methylmercury. *J Pharmacol Exp Ther.* 238: 618-24.

Baba S et al., (2007). Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo- and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder. *J Nutr.* 137(6): 1436-41.

Bahmani F, Kia M, Soleimani A, Mohammadi AA, Asemi Z. (2016). The effects of selenium supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in patients with diabetic nephropathy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 116 (7): 1222-8.

Bauer PG. (1981). Affinity and stoichiometry of calcium binding by arsenazo III. *Anal Biochem.* 110: 61.

Bernard D, Christophe A, Delanghe J, Langlois M, De Buyzere M, Comhaire F.(2003). The effect of supplementation with an antioxidant preparation on LDL-oxidation is determined by haptoglobin polymorphism. *Redox Rep.* 8: 41-6.

Bienfait HF, Van Den Briel ML. (1980). Rapid mobilization of ferritin iron by ascorbate in the presence of oxygen. *Biochim Biophys Acta.* 631: 507-10.

Boislève JB. (2010). Les métaux toxiques. Conseil et formation. Santé-relations humaines. *HOLOSYS.* 3.

Bourne GH. (1972).The biochemistry and physiology of bone. *ed New York Academic Press.* 2 :231-79.

Brandão R, Moresco RN, Bellé LP, Leite MR, de Freitas ML, Bianchini A, Nogueira CW. (2011). Diphenyl diselenide potentiates nephrotoxicity induced by mercuric chloride in mice. *J Appl Toxicol.* 31(8): 773-82.

Buchet JP, Roels H, Bernard A, Lauwerys R. (1980). Assessment of renal function of workers exposed to inorganic lead, cadmium or mercury vapor. *J Occup Med.* 22: 741-50.

Clarkson TW. (1972).The pharmacology of mercury compounds. *Ann Rev Pharmacol.* 12: 375-406.

Dakhale GN, Chaudhari HV, Shrivastava M. (2011). Supplementation of vitamin C reduces blood glucose and improves glycosylated hemoglobin in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind study. *Adv Pharmacol Sci.* 195271.

Daly JA, Ertingshausen G. (1972). Direct method for determining inorganic phosphorus in serum with the centrifichem. *Clin Chem.* 18: 263.

Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal.* 18:1818-92.

Denis I, Colin C, Lacroix H, Zérath E, Pointillart A. (1997). Supplémentation en vitamine C et métabolisme phosphocalcique chez le porc en croissance. *Journées Rech Porcine en France.* 29: 263-8.

Djerbi M. (1994). Précis de phoeniciculture. *FAO.* 192.

Durczok A, Szkilnik R, Brus R, Nowak P, Labus L, Konecki J, Drabek K, Kuballa G, Rycerski W, Mengel K. (2002). Effect of organic mercury exposure during early stage of ontogenic development on the central dopaminergic system in adult rats. *Polish J Environ Stud.* 11(4): 307-14.

Edelstein CL. (2008). Biomarkers of acute kidney injury. *Adv Chronic Kidney Dis.* 15: 222-34.

El-Demerdash FM. (2001). Effects of Selenium and Mercury on the Enzymatic Activities and Lipid Peroxidation in Brain, Liver, Blood of Rats. *J Environ Sci and Health.* 36: 489-99.

El-Shenawy SMA, Hassan NS. (2008). Comparative evaluation of the protective effect of selenium and garlic against liver and kidney damage induced by mercury chloride in the rats. *Pharmacol Rep.* 60:199-208.

Endo T, Haraguchi K, Sakata M. (2003). Renal Toxicity in Rats After Oral Administration of Mercury-Contaminated Boiled Whale Livers Marketed for Human Consumption. *Environmental Contamination and Toxicology.* 44(3): 412-6.

Essig M, Friedlander G. (1998). Régulation de la phosphatémie et hypophosphatémie. *Rev Prat.* 48: 1218-25.

Estepa L. (2006). Protéines totales. *Elsevier Masson SAS.*

Favero AM, Oliveira CS, Franciscato C, Oliveira VA, Pereira JS, Bertoncheli CM, Da Luz SC, Dressler VL, Flores EM, Pereira ME. (2014). Lactating and nonlactating rats differ to renal toxicity induced by mercuric chloride: the preventive effect of zinc chloride. *Cell Biochem Funct.* 32(5): 420-8.

Fisher JW. (2003). Erythropoietin : physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med.* 228: 1-14.

Flora GJS, Mathur R, Sandhu N, Dua KK. (1994). Time dependent preventive effects of simultaneous administration of selenium or zinc during mercury exposure in rats. *Indian Journal of Pharmacology.* 26: 209-12.

Franciscato C, Moraes-Silva L, Duarte FA, Oliveira CS, Ineu RP, Flores EM, Dressler VL, Peixoto NC, Pereira ME. (2011). Delayed biochemical changes induced by mercury intoxication are prevented by zinc pre-exposure. *Ecotoxicol Environ Saf.* 74(3): 480-6.

Fukino Y, Ikeda A, Maruyama K, Aoki N, Okubo T, Iso H. (2008). Randomized controlled trial for an effect of green tea-extract powder supplementation on glucose abnormalities. *Eur J Clin Nutr.* 62(8): 953-60.

Gado AM, Aldahmash BA. (2013). Antioxidant effect of Arabic gum against mercuric chloride-induced nephrotoxicity. *Drug Des Devel Ther.* 7:1245-52.

Gérard Miquel M. (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *L'Assemblée nationale* le 6 avril 2001.

Ghaleb AO, Tahia HS, Rajashri RN, Said ZM, Reda MA. (2012). A sub-chronic toxicity study of mercuric chloride in the rat. *Jordan Journal of Biological Sciences.* 5(2): 141-6.

Goyer RA et al., (1994). Environmental Risk Factors for Osteoporosis, *Envir Health Perspectives.* 102(4): 390-4.

Gray JA, Kavlock RJ. (1987). Toxic effect of mercury. *J Pharmacol Exp Ther.* 242.

Grosicki A, Kossakowski S. (1990). Effect of mercuric chloride poisoning on iron distribution in rats. *Pol Arch Water.* 30(1-2):91-102.

Harper HA, Rodwell VW, Mayes PA. (1979). Review of physiological chemistry. Los Altos, CA USA: Lange Medical Publications.

Harwood H, Greene Y, Stacpoole P. (1986). Inhibition of human leukocyte 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity by ascorbic acid. An effect mediated by the free radical monodehydroascorbate. *J Biol Chem.* 261 (16): 7127-35.

Henry RG. (1964). Clinical chemistry. Harper & Row Publishers. New York. 181.

Hildman B, Storelli C, Danisi G, Murer H. (1982). Regulation of Na⁺/Ph co-transport by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in rabbit duodenal brush-border membrane. *Am J Physiol.* 242: 533-9.

Hoffman DJ, Spalding MG, Frederick PC. (2005). Subchronic effects of methylmercury on plasma and organ biochemistries in great egret nestlings. *Environ Toxicol Chem.* 24(12): 3078-84.

Huggins HA, Levy TE. (1999). Uniformed Consent: the hidden dangers in dental care. Hampton Roads Publishing Company Inc.

Hussein AK, Khaled MA, Mahran AR, Mahmoud AK. (2012). Bioremediation the toxic effect of mercury on liver histopathology, some hematological parameters and enzymatic activity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Researcher.* 4(1):60-9.

Institoris L, Siroki O, Undeger U, Basaran N, Dési I. (2002). Immunotoxicological investigation in rats dosed repeatedly with combinations of cypermethrin, As(III), and Hg(II). *Toxicology.* 172(1):59-67.

Iturri S, Nunez MT. (1998). Effect of copper, cadmium, mercury, manganese, and lead on Fe²⁺ and Fe³⁺ absorption in perfused mouse intestine. *Digestion.* 59(6): 671-5.

Jaccot B, Campillo B. (2003). Nutrition humaine. Ed. Masson, Paris. 311 .

Jadhav SH, Sarkar SN, Ram GC. (2007a). Tripathi HC. Immunosuppressive effect of subchronic exposure to a mixture of eight heavy metals, found as groundwater contaminants in different areas of India, through drinking water in male rats. *Arch Environ Contam Toxicol.* 53(3): 450-8.

Jadhav SH, Sarkar SN, Patil RD, Tripathi HC. (2007b). Effects of subchronic exposure via drinking water to a mixture of eight water-contaminating metals: a biochemical and histopathological study in male rats. *Arch Environ Contam Toxicol.* 53(4): 667-77.

Jagadeesan G, Kavitha AV. (2006). Recovery of phosphatase and transaminase activity of mercury intoxicated *Mus musculus* (Linn.) liver tissue by *Tribulus terrestris* (Linn.) (Zygophyllaceae) extract. *Tropical Biomedicine.* 23(1): 45-51.

Joshi D, Kumar MD, Kumar SA, Sangeeta S. (2014a). Reversal of methylmercury-induced oxidative stress, lipid peroxidation, and DNA damage by the treatment of N-acetyl cysteine: a protective approach. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 33(2): 167-82.

Joshi D, Mittal DK, Shukla S, Srivastav AK, Srivastav SK. (2014b). N-acetyl cysteine and selenium protects mercuric chloride-induced oxidative stress and antioxidant defense system in liver and kidney of rats: a histopathological approach. *J Trace Elem Med Biol.* 28(2): 218-26.

Joshi D, Mittal D, Shrivastav S, Shukla S, Srivastav AK. (2011). Combined Effect of N-Acetyl Cysteine, Zinc, and Selenium Against Chronic Dimethylmercury-Induced Oxidative Stress: A Biochemical and Histopathological Approach. *Arch Environ Contam Toxicol.*

Joshua RE, Evangelos AL, Jacob DP, Peter CL, Walter CP. (2007). A novel method for the evaluation of proximal tubule epithelial cellular necrosis in the intact rat kidney using ethidium homodimer. *BMC Physiology.* 7:1.

Kobayashi Y, Suzuki M, Satsu H, Arai S, Hara Y, Suzuki K, Miyamoto Y, Shimizu M. (2000). Green Tea Polyphenols Inhibit the Sodium-Dependent Glucose Transporter of Intestinal Epithelial Cells by a Competitive Mechanism. *J. Agric. Food Chem.* 48 (11): 5618-23.

Kuchel PW, Ralston GB. (1988). Schaum's outline of theory and problems of biochemistry. *McGraw Hill Inc. USA.* 411-40.

Kumar M, Sharma K, Kumar A. (2005). Spirulina fusiformis: a food supplement against mercury induced hepatotoxicity. *J Health Sci.* 51: 424–30.

Kumarappan C, Mandal SC. (2014). Polyphenol extract of ichnocarpus frutescens leaves modifies hyperglycemia in dexamethasone (dex) treated rats. *Indian journal of physiology and pharmacology.* 58(4): 441-5.

Kyle GM, Luthra R, Bruckner JV, MacKenzie WF, Acosta D. (1983). Assessment of functional, morphological, and enzymatic tests for acute nephrotoxicity induced by mercuric chloride. *J Toxicol Environ Health.* 12(1): 99-117.

Lakshmi BV, Sudhakar M, Nireesha G. (2014). Modification of mercury-induced biochemical alterations by Triticum Aestivum Linn in rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* 58(4): 423-36.

Lecavalier PR, Chu I, Villeneuve D and Valli VE. (1994). Combined effect of mercury and hexachlorobenzene in rat. *J Environ Sci Health B.* 29(5):951-61.

Liji M, Thomas DM. (2016). Fonctionnement physiologique de vitamine C. *News-Medical.net, An AzoNetWork Site.*

Liu XY, Jin TY, Nordberg GF. (1991). Increased urinary calcium and magnesium excretion in rats injected with mercuric chloride. *Pharmacol. Toxicol.* 68(4): 254-9.

Liz H. (2003). Monitoring Tests for People with HIV – Liver Function Tests. *Bulletin of*

Experimental Treatments for AIDS. http://www.aegis.com/pubs/beta/2003/be03070_3.html. accessed 17/09/09.

Lu YF, Wu Q, Yan JW, Shi JZ, Liu J, Shi JS. (2011). Realgar, cinnabar and An-Gong-Niu-Huang Wan are much less chronically nephrotoxic than common arsenicals and mercurials. *Exp Biol Med (Maywood)*. 236(2): 233-9.

Lukačinová A, Rácz O, Lovásová E, Ništiar F. (2011). Effect of lifetime low dose exposure to heavy metals on selected serum proteins of Wistar rats during three subsequent generations. *Ecotoxicol Environ Saf.* 74 (6):1747-55.

Lunceford N, Gugliucci A. (2005). Ilexparaguariensis extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. *Fitoterapia*.

Maarouf T, Abdenmour C, Houaine N. (2008). Influence of Pistacia Lentiscus Oil on Serum Biochemical Parameters of Domestic Rabbit *Oryctolagus Cuniculus* in Mercury Induced Toxicity. *European Journal of Scientific Research*. 24(4): 591-600.

Manawadi S, Kaliwal BB. (2010). Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. *International Journal of Biotechnology Applications*. 2(2): 11-9.

McNeil SI, Bhatnagar MK, Turner CJ. (1988). Combined toxicity of ethanol and methyl mercury in rat. *Toxicology*. 53: 345-63.

Merzoug S, Toumi ML, Oumeddour AK, Boukhris N, Baudin B, Tahraoui AK, Bairi AM. (2009). Effect of inorganic mercury on biochemical parameters in Wistar rat. *Journal of Cell and Animal Biology*. 3(12): 222-30.

Mesquita M, Pedroso TF, Oliveira CS, Oliveira VA, Do Santos FR, Bizzi CA, Pereira ME. (2016). Effects of zinc against mercury toxicity in female rats 12 and 48 hours after hgcl2 exposure. *EXCLI Journal*. 15:256-67.

Métais P, Agneroy J, Fruchart JC, Jardillier JC, Revol A, Strest G, Stahl A. (1985). Biochimie clinique. Tome 2. Edition Simep. Paris.

Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler H, Nawroth PP. (1999). The role of oxidative stress and NF- B activation in late diabetic complications. *BioFactors*. 10: 169-75.

Moraes-Silva L, Bueno TM, Franciscato C, Oliveira CS, Peixoto NC, Pereira ME. (2012). Mercury chloride increases hepatic alanine aminotransferase and glucose 6-phosphatase activities in newborn rats in vivo. *Cell Biol Int*. 36:561-6.

Morand C, Milenkovic D. (2014). Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques*. 42: 47-62

Mozaffarian D. (2009). Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: Current evidence and unanswered questions. *Int J Environ Res Public Health*. 6: 1894-916.

Munier P. (1973). Le palmier-dattier. *Techniques agricoles et productions tropicales*. Maisonneuve & Larose. 24: 497-624.

Murray R. (1984a). Creatinine. *Kaplan A et al. Clin Chem The C. V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*. 1261-1266 et 418.

Murray R. (1984b). Aspartate aminotransferase. *Kaplan A et al. Clin Chem The C. V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*. 1088-90.

Murray R. (1984c). Alanine aminotransferase. *Kaplan A et al. Clin Chem The C. V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*. 1112-16.

Na N, Delanghe JR, Taes YE, Torck M, Baeyens WR, Ouyang J. (2006). Serum vitamin C concentration is influenced by haptoglobin polymorphism and iron status in Chinese. *Clin Chim Acta*. 365(1-2): 319-24.

Naito HK. (1984). Cholesterol. *Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*. 1194-206 et 437.

Nwokocha C, Ejebe DE, Nwangwa EK, Ekene N, Akonoghre R, Ukwu J. (2010). The Effects of Bitter Kola Supplemented Diet on Hepatotoxicity of Mercury in Wistar Rats. *J Appl Sci Environ Manage March*. 14(1): 89-95.

Oliveira VA, Oliveira CS, Ineu RP, Moraes-Silva L, Siqueira LF, Pereira ME. (2014). Lactating and non-lactating rats differ in sensitivity to HgCl₂: Protective effect of ZnCl₂. *J Trace Elem Med Biol*. 28: 240-6.

Oliveira VA, Oliveira CS, Mesquita M, Pedroso TF, Costa LM, Da Luz TF, Pereira MA. (2015). Zinc and N-acetylcysteine modify mercury distribution and promote increase in hepatic metallothionein levels. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 32:183-8.

Othman MS, Safwat G, Aboulkhair M, Abdel Moneim AE. (2014). The potential effect of berberine in mercury-induced hepatorenal toxicity in albino rats. *Food Chem Toxicol*. 69: 175-81.

Ozcelik D, Naziroglu M, Tunçdemir M, Celik O, Oztürk M, Flores-Arce MF. (2012). Zinc supplementation attenuates metallothionein and oxidative stress changes in kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Trace Elem Res*. 150: 342-9.

Peixoto NC, Pereira ME. (2007). Effectiveness of ZnCl₂ in protecting against nephrotoxicity induced by HgCl₂ in newborn rats. *Ecotoxicol Environ Saf*. 66: 441-6.

Pfleger R, Scholl F. (1986). Diabetes and vitamin C. *Weiner Archiv Fur Inner Medizin*. 31: 219-30.

Romeu M, Aranda N, Giral M, Ribot B, Nogues MR, Aija V. (2013). Diet, iron biomarkers and oxidative stress in a representative sample of Mediterranean population. *Nutr J Jul*. 16: 12-102.

Sabu MC et al., (2002). *J Ethnopharmacol.*

Samman S, Sandström B, Toft MB, Bukhave K, Jensen M, Sørensen SS, Hansen M. (2001). Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. *Am J Clin Nutr.* 73(3): 607-12.

Sanner M. (2010). Les dangers de l'aluminium et du mercure 2ème partie. *La Grande Époque. inc.*

Sastry KV, Sharma K. (1980). Mercury induced haematological and biochemical anomalies in *Ophiocephalus* (Channa) *punctatus*. *Toxicol Lett.* 5(3-4): 245-9.

Sastry KV, Sharma K. (2000). Mercury induced haematological and biochemical anomalies in *Ophiocephalus* (Channa) *punctatus*. *Toxicol Lett.* 5(3-4): 245-9.

Schlienger JL. (2012). Cours anomalie du métabolisme phosphocalcique -aspects pratiques- (chez l'adulte). *Service de médecine interne, endocrinologie et nutrition. Hôpital de haute-pierre. Strasbourg. Cedex.* 2.

Searcy RL, Reardon JE, Foreman JA. (1967). *Amer J Méd Techn.* 33: 15-20.

Sergio I, Marco TN. (1992). Effect of heavy metals on Fe⁺² absorption in mouse. *International Journal of Gastroenterology.* 50: 117-20.

Shapira G. (1981). Elements de biochimie clinique et physiologique. *Edition Flammarion. Paris.*

Sharma MK, Kumar M, Kumar A. (2002). Ocimum sanctum aqueous leaf extract provides protection against mercury induced toxicity in Swiss albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology.* 40: 1079-82.

Sharma MK, Patni R, Kumar M, Kumar A. (2005). Modification of mercury-induced biochemical alterations in blood of Swiss albino mice by *Spirulina fusiformis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 20(2): 289-96.

Shaw BP, Dash S, Panigrahi AK. (1991). Effect of methylmercuric chloride treatment on haematological characteristics and erythrocyte morphology of swiss mice. *Environ Pollut.* 73(1): 43-52.

Sheikh TJ, Patel BJ, Joshi DV. (2011). Electrolytes alterations in plasma and urine after 28 days repeated oral dose toxicity of mercuric chloride in wistar rat. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 1(10): 150-3.

Shull RM, Stowe CM, Osborne CA, O'Leary TP, Vernier RL, Hammer RF. (1981). Membranous glomerulonephropathy and nephrotic syndrome associated with iatrogenic metallic mercury poisoning in a cat. *Vet Hum Toxicol.* 23(1): 1-5.

Siouda W, Abdenmour C. (2015). Can *Urtica dioica* supplementation attenuate mercury intoxication in Wistar rats?. *Vet World.* 8(12):1458-65.

Sultan C, Gouanlt HM, Lmbert M. (1983). "Aide mémoire d'hématologie". *Flammarion. Paris.*

Sundberg J, Ersson B, Lonnerdal B, Oskarsson A. (1999). Protein binding of mercury in milk and plasma from mice and man--a comparison between methyl mercury and inorganic mercury. *Toxicology, Ott I.* 137(3): 169-84.

Suzuki N, Yamamoto M, Watanabe K, Kambegawa A, Hattori A. (2004). Both mercury and cadmium directly influence calcium homeostasis resulting from the suppression of scale bone cells: the scale is a good model for the evaluation of heavy metals in bone metabolism. *Journal of Bone and Mineral Metabolism.* 22 (5): 439-46.

Svetlov SI, Xiang Y, Oli MW, Foley DP, Huang G, Hayes RL, Ottens AK, Wang KKW. (2006). Identification and preliminary validation of novel biomarkers of acute hepatic ischaemia/reperfusion injury using dualplatform proteomic/degradomic approaches. *Biomarkers.* 11(4):355-69.

Trinder. (1969). Test enzymatic colorim etrique (CHOD-PAD). *Clin. Biochem.* 6: 24-33.

Valkd M, Morris H, Cronin MT. (2005). Metals toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 12(10): 1161-208.

Vandenberghe J. (1995). Hepatotoxicology: Mechanism of Liver toxicity and methodological aspects in toxicology: Principles and applications. *JM Niesink JD Vries and MA Hollinger Boca Raton.* 718.

Vanholder RC, De Smet RV, Ringoir SM. (1992). Assessment of urea and other uremic markers for quantification of dialysis efficacy. *Clinical Chemistry.* 38: 1429-36.

Vedavathi M, Girish KS, Kumar MK. (2004). Isolation and characterization of cytosolic alanine aminotransferase isoforms from starved rat liver. *Mol Cell Biochem.* 267:13-23.

Vutukuru SS, Basani K. (2013). Acute effects of mercuric chloride on glycogen and protein content of zebra fish, *Danio rerio.* *J Environ Biol.* 34(2): 277-81.

Wadaan MAM. (2009). Effect of mercury exposure on blood chemistry and liver histopathology of male rats. *J Pharmacol Toxicol.* 4(3): 126-31.

Wei L, Liao P, Wu H, Li X, Pei F, Li W, Wu Y. (2008). Toxicological effects of cinnabar in rats by NMR-based metabolic profiling of urine and serum. *Toxicol Appl Pharmacol.* 227(3): 417-29.

Weiser H, Schlachter M, Probst H P, Kormann AW. (1992). Ascorbic acid in domestic animals. Proceedings of the 2nd symposium. *WenkC FensterR VolkerL eds.* 73-95.

Wendy A, Brickwell B. (2007). Assessment of Liver Function. *Clinical Chemistry A Laboratory Perspective.* *FA Davis Company Philadelphia.* 233-66.

Whittby LG, Perey-Robb IW, Smith AT. (1984). Enzymes tests in diagnosis In: Lecturer Notes In Clinical Chemistry. *Black Well Scientific Publications.* 3: 138-69.

WHO (World Health Organisation). (1991). Environmental Health Criteria 118, Inorganic Mercury. Geneva.

Wick M. (1998). Iron metabolism and its disorders. *In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft.* 268-73.

Wu LY, Juan CC, Hwang LS, Hsu YP, Ho PH, Ho LT. (2004). Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. *Eur J Nutr.* 43(2): 116-24.

Yallapragoda PR et al., (1996). Inhibition of calcium transport by Hg salts in rat cerebellum and cerebral cortex. *J Appl toxicol.* 16(4): 325-30.

Young D, Pestaner L. (1975). Test enzymatic colorimetric. *Clin Chem.* 21-5.

Chapitre III

Système reproducteur

III-1- Introduction

Le mercure représente une source de contamination dangereuse (ISBN, 2008) en raison de son extrême volatilité, sa pénétration facile dans l'organisme et sa capacité de se lier aux groupements fonctionnels des molécules. Il se lie également à des composants cellulaires, modifiant leurs structures ou inhibant leurs activités biologiques (Gérard Miquel, 2001). La toxicité du mercure vient de son accumulation dans certains tissus et sa capacité de générer un stress oxydatif en entraînant la formation des radicaux libres toxiques dans l'organisme en conduisant à des anomalies physiologiques, les effets toxiques peuvent également affecter le système reproducteur, des changements des caractéristiques du sperme (Jarosław *et al.*, 2001), atteintes du comportement sexuel, de la spermatogenèse, du développement ovulaire (oogenèse) ou de la capacité fécondante, sont parmi les effets néfastes possibles qui peuvent se manifester (Gilles Lapointe, 2004).

Chez l'homme, les études évoquent la possibilité d'une diminution de la spermatogenèse. Chez la femme, le mercure s'accumule dans les ovaires notamment au niveau des cellules granuleuses et du corps vitellin. L'influence du mercure sur les cycles menstruel et sur l'embryogenèse a été démontrée.

Le mercure entraîne également une diminution de volume du sperme et la motilité, l'augmentation des anomalies des spermatozoïdes, des avortements spontanés, apparition des fibromes utérins/endométrie, et une diminution de la fertilité chez les animaux (Maretta *et al.*, 1996; Windham, 1996) et chez l'homme (Ramirez *et al.*, 2000; Mandel, 1991; Anttila *et al.*, 1995; Daily *et al.*, 1996; Baranski, 1981; Hartman, 1998; Ivanitskaia, 1991).

Au niveau hormonal, des données cliniques indiquent que les amalgames dentaires contenant du mercure conduisent à des déséquilibres hormonaux qui peuvent réduire la fertilité (Ziff et Ziff, 1987; Dickman et Leung, 1982; Gerhard, 1993). En effet, le mercure

s'accumule dans les testicules et la prostate, ainsi que, les glandes pituitaires, les ovaires ... (Nylander *et al.*, 1989; Lorscheider *et al.*, 1993; Vimy *et al.*, 1990, MaImstrom *et al.*, 1993; Weiner *et al.*, 1993). Il perturbe la production d'oestrogène et d'autres hormones reproductrices et affecte la concentration et la morphologie des spermatozoïdes et provoque des dommages de l'ADN et des cassures chromosomiques et réduit le niveau de testostérone chez l'homme et des troubles menstruels et l'infertilité chez la femme (Ogura *et al.*, 1996, Gerhard *et al.*, 1998; Gordon et Cordon, 1981).

Toutefois, l'activité oxydative du mercure sur le système reproducteur est diminuée par les molécules antioxydantes synthétisées par l'organisme ou provenant essentiellement par l'alimentation, elles peuvent neutraliser les radicaux libres dus au stress oxydatif. Divers travaux ont été menés pour déterminer le rôle de certains composants alimentaires dans la détoxification du mercure, à savoir les composants antioxydants de la variété Deglet Nour et la vitamine C qui sont particulièrement importants pour la santé.

Objectifs

Afin de déterminer l'impact de l'HgCL₂ sur la reproduction et la fertilité, et rôle de vitamine C et de la datte Deglet Nour dans l'amélioration de la qualité du sperme chez le lapin. Différents paramètres: concentration, vitesse, mobilité et vitalité des spermatozoïdes, ainsi que, la concentration de testostérone, ont été évalué.

III-2- Protocol expérimental:

III-2-1- Prélèvement du sperme: juste après le sacrifice, le sperme a été prélevé, par la réalisation d'une petite incision dans l'épididyme pour permettre au sperme de sortir.

Une goutte du sperme a été mise dans 1 ml de solution physiologique (0.9 % NaCl), qui a été utilisée pour évaluer la vitesse, la concentration, la mobilité et la vitalité de spermatozoïdes (analyse microscopique de spermatozoïdes). Pendant la réalisation du spermogramme, le prélèvement doit maintenir à une température de 37°C.

III-2-2- Etude microscopique des spermatozoïdes:

Intérêt de l'examen: Cet examen vise à caractériser les spermatozoïdes du point de vue de leur quantité et de leur qualité. Il va permettre de détecter d'éventuelles anomalies dont les plus importantes concernent le nombre de spermatozoïdes, leur mobilité et leur forme.

III-2-2-1- Concentration de spermatozoïdes: Le comptage exact du nombre de spermatozoïdes dans une cellule de Malassez est une technique précise si elle est effectuée soigneusement. Le principe de la mesure est le comptage du nombre exact de spermatozoïdes par millilitre présentes dans un volume déterminé d'une solution connue.

Les différentes étapes à suivre pour un comptage à la cellule de Malassez sont les suivantes:

La concentration est mesurée en utilisant un milieu de dilution, ce dernier est préparé selon la méthode suivante:

- Dissoudre 0.5 g de bicarbonate de sodium (NaHCO_3) dans 2.5 ml d'eau distillée.
- Ajouter à 2.5 ml de cette solution, 2.5 ml de formole (30 %).
- Ajouter à chaque 1 ml de cette dernière solution, 0.1 ml de sperme épидидymaire.
- Homogénéiser la solution.

Pour évaluer la concentration de spermatozoïdes il faut:

- Déposer une goutte de la solution du sperme entre lame de Malassez et lamelle.

- Placer avec soin la cellule de Malassez (veiller à la maintenir horizontale) sur la platine du microscope (équipée d'un mécanisme de précision permettant le déplacement dans deux directions)
- Examiner au microscope optique avec un grossissement de 400 x.
- La lame est balayée de façon méthodique, de gauche à droite et du haut vers le bas.
- Compter les spermatozoïdes sur 5 grands carrés de la cellule de Malassez.
- Calculer la concentration en millions/ml dans l'échantillon selon la formule suivante:

$$\text{C de spermatozoïdes (x } 10^6/\text{ml)} = \frac{\text{D x V x n}}{\text{N}}$$

D: Coefficient de dilution

V: Volume de cellule de Malassez = 2000 (surface = 0.0025 mm², hauteur = 0.2 mm).

n: Nombre de spermatozoïdes dans 5 grands carrés de cellule de Malassez.

N: Nombre de petits carrés = 100 carrés.

III-2-2-2- Vitesse de spermatozoïdes (OMS, 1993): La vitesse de spermatozoïde décrit la capacité du spermatozoïde de se déplacer d'une mode active par un mouvement progressif vers l'avant.

- Déposer une goutte de la solution de sperme sur une lame de Malassez et recouvrir par une lamelle.
- Examiner à l'aide d'un microscope optique avec un grossissement 400 x.
- L'observation doit être faite très rapidement car la vitesse des spermatozoïdes diminue rapidement.
- Estimer le temps nécessaire pour qu'un spermatozoïde traverse une distance de 0.05 mm entre 2 lignes parallèles de la cellule de Mallassez.
- La répétition de l'analyse sur 10 spermatozoïdes différents est recommandée.
- Calculer la moyenne.
- La vitesse de spermatozoïdes est calculée par la formule suivante:

$$\text{V (mm/s)} = \frac{\text{D (mm)}}{\text{T (s)}}$$

D: Distance entre 2 lignes de la cellule de Mallassez en millimètre (mm).

T: Temps nécessaire pour traverser cette distance en second (s).

III-2-2-3- Mobilité de spermatozoïdes (OMS, 1993): C'est une mesure rapide et facile qui nécessite un examen microscopique du sperme dilué, dès que celui-ci est collecté.

- Déposer une goutte du sperme dilué sur une lame de verre propre et recouvrir par une lamelle.
- Placer sur la platine sous un grossissement de 400 x.
- Examiner puis compter le nombre des spermatozoïdes dans le champ du microscope couvert qui est choisi au hasard.
- Calculer le pourcentage de spermatozoïdes mobile.
- Répéter l'analyse 3 fois puis calculer le pourcentage moyen.

III-2-2-4- Vitalité de spermatozoïdes (OMS, 1993): La vitalité de spermatozoïdes reflète la proportion de spermatozoïdes vivants, son principe repose sur l'évaluation de la vitalité par l'exclusion de colorants. Lors de l'utilisation de la coloration vitale, la proportion de spermatozoïdes vivants doit être déterminée en utilisant des techniques de coloration basées sur le principe que les cellules mortes ayant des membranes plasmiques lésées laissent pénétrer certains colorants.

Les différentes étapes à suivre pour évaluer la vitalité des spermatozoïdes sont les suivantes:

- Sur une lame de verre propre, ajouter une goutte de la solution du sperme dilué à une goutte du colorant choisi qui est l'Eosine à 1 %.
- Réaliser un frottis qui ne doit pas être trop épais.
- Laisser sécher à l'air pendant 2 minutes.
- Recouvrir par une lamelle et examiner au microscope optique avec un grossissement de 400 x.

- Compter les spermatozoïdes dans un champ microscopique choisi au hasard.
- Tout spermatozoïde coloré, en totalité ou en partie, en rose ou en rouge, est considéré comme mort au moment de la coloration. Ce nombre est utilisé pour le calcul du pourcentage de spermatozoïdes morts/vivants.
- Evaluer le pourcentage de ceux qui sont morts " roses " ou vivants " blancs ".
- Répéter l'analyse 3 fois puis calculer le pourcentage moyen.

III-2-3- Dosage hormonal; testostérone plasmatique par ELISA: La testostérone est une hormone sexuelle mâle produite essentiellement à 95 % par les cellules de Leydig des testicules, mais une faible quantité (5 %) est sécrétée également par la corticosurrénale. Chimiquement, la testostérone est un stéroïde en C₁₉; la première étape de la biosynthèse des stéroïdes débute par la conversion du cholestérol en prégnénolone.

La mesure du taux de testostérone est un paramètre essentiel dans l'évaluation de la fonction testiculaire.

III-2-3-1- Principe du test: ELISA est l'acronyme d'un examen de laboratoire appelé en anglais, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. L'ELISA est une technique biochimique, principalement utilisée en immunologie afin de détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. La procédure est basée sur le principe de compétition entre deux antigènes (antigène marqué par une enzyme et antigène non marqué présent dans l'échantillon) vis-à-vis d'anticorps spécifiques recouvrant les puits des microplaques. Le taux d'antigènes marqués lié aux anticorps est inversement proportionnel à la concentration de l'hormone à doser. L'antigène non marqué présent dans l'échantillon déplace une partie des antigènes marqués durant la phase de fixation à l'anticorps. Dans toutes ces réactions, il se crée un équilibre dynamique. Après un lavage qui élimine les anticorps non fixés, les complexes anticorps-antigènes ainsi marqués sont révélés par addition du substrat TMB.

L'absorbance mesurée à 450 nm est inversement proportionnelle à la concentration de testostérone de l'échantillon. Les dosages des échantillons sont réalisés en comparant l'absorbance obtenue pour les échantillons à une courbe d'étalonnage préparée à partir de standards de concentration connue.

III-2-3-2- Recueil et conservation des échantillons: le test est utilisable sur du sérum ou plasma. Les échantillons de sérum ou plasma peuvent être conservés jusqu'à 24 h à 2-8°C. Pour une conservation plus longue, il faut aliquoter aussitôt les échantillons et les congeler à -20°C.

III-2-3-3- Composition du kit de la testostérone: le kit de testostérone contient les composants suivants:

- Une plaque de microtitration (microplaque): barrettes sécables dont les puits sont tapissés d'anticorps polyclonaux anti testostérone de lapin.
- Antisérum testostérone contenant un anticorps anti testostérone.
- Standards à des concentrations connues pour réaliser la gamme d'étalonnage (0 – 0.1 – 0.5 – 2.0 – 6.0 et 18.0 ng/ml).
- Contrôle: contient de la testostérone libre.
- Solution tampon.
- Conjugué enzymatique: contient de la testostérone conjuguée à la peroxydase enzymatique.
- Solution de substrat contenant le tétraméthyl benzidine (TMB).
- Solution d'arrêt (H_2SO_4) pour stopper la réaction.

III-2-3-4- Equipement et matériel:

- Micropipettes (10, 20, 50, 100 et 1000 µl).
- Etuve et embouts.
- Laveur de plaque TECAN Washer Columbus Pro.

- Lecteur de micro plaque ERMA muni d'un logiciel de traitement des données SUNRISE Software.
- Papier absorbant.

III-2-3-5- Protocole opératoire:

- Pipeter respectivement 10 µl de la solution standard; contrôle et échantillon dans les puits de la microplaque.
- Pipeter 100 µl du conjugué enzymatique fraîchement préparé dans chaque puits.
- Pipeter 50 µl d'antisérum de la testostérone dans chaque puits.
- Incuber 90 minutes à 37°C à l'étuve.
- Eliminer le contenu des puits de la microplaque en procédant au lavage 5 temps, 2 cycles avec 250 µl de la solution tampon de lavage diluée. Le lavage se fait à l'aide d'un laveur de plaque TECAN Washer Columbus Pro.
- Pipeter 100 µl de solution substrat TMB dans chaque puits.
- Incuber 20 minutes à la température ambiante (20 – 25°C).
- Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 100 µl de solution d'arrêt de TMB dans chaque puits.
- Agiter légèrement, la couleur change passe du bleu au jaune.
- Lire la densité optique sur l'appareil ELISA TECAN Magellan à 450 nm dans les 10 minutes suivant l'addition de la solution d'arrêt.

III-2-3-6- Calcul des résultats: la mesure des résultats se fait à l'aide d'un lecteur ELISA TECAN Magellan muni d'un logiciel informatique qui calcul automatiquement la gamme étalon et donne directement la valeur de la testostérone à l'unité désirée.

III-2-4- Etude statistique: Le test "t-student" a été utilisé pour la comparaison de 2 moyennes, tandis que la comparaison multiple des moyennes a fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA).

III-3- Résultats:

III-3-1- Concentration:

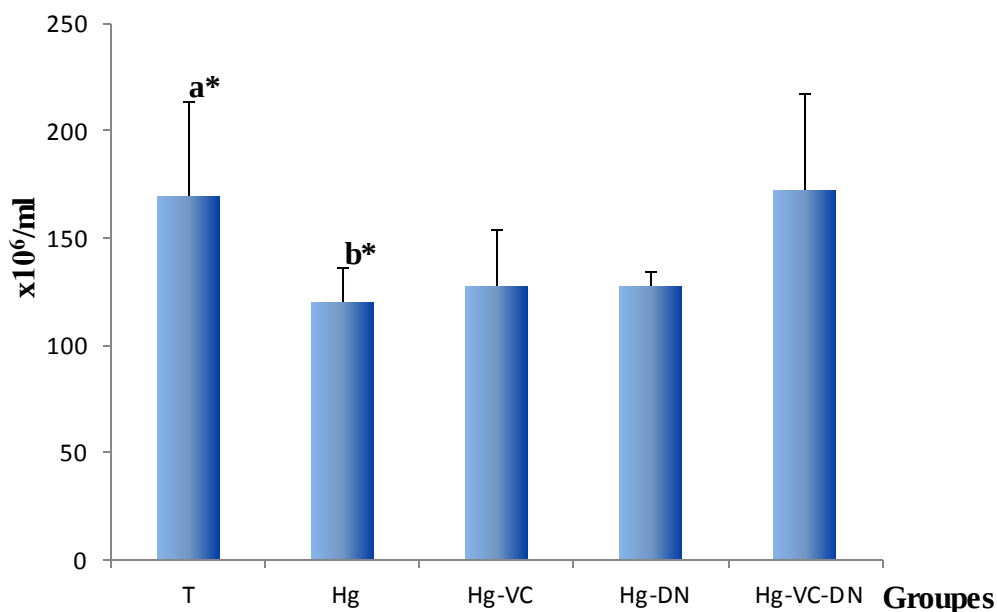


Figure III-1- Variations de concentration de spermatozoïdes (x10⁶/ml) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b*: une différence significative entre Hg et T (test *t-student*). **a*:** une différence significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

La concentration de spermatozoïdes est diminuée chez les groupes Hg (120.17±15.74), Hg-VC (127.33±26.41) et Hg-DN (127.33±6.59) en comparaison avec le groupe témoin (169.33±43.86), cette diminution est significative ($p < 0.05$) chez le groupe Hg, et non significative chez les groupes Hg-VC et Hg-DN. Tandis que, le groupe Hg-VC-DN révèle une augmentation non significative (172.33±44.37) en comparaison avec les autres groupes.

La comparaison multiple montre une différence significative entre les cinq groupes.

III-3-2- Vitesse:

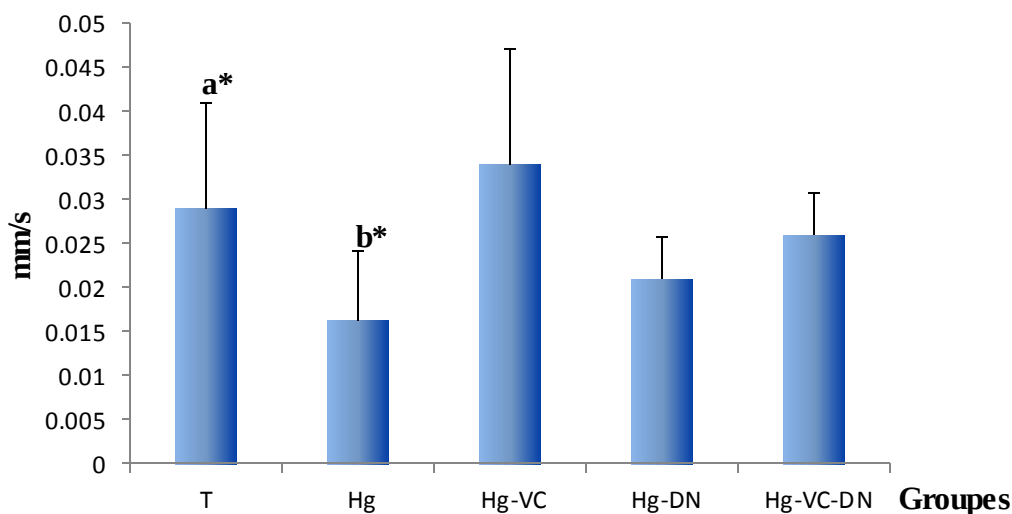


Figure III-2- Variations de la vitesse de spermatozoïdes (mm/s) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b*: une différence significative entre Hg et T (test *t-student*). **a***: une différence significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Les résultats concernant la vitesse de spermatozoïdes montrent que le traitement par le mercure seul cause une diminution significative ($p < 0.05$) de la vitesse (0.0163 ± 0.0078) par rapport au témoin (0.029 ± 0.012), parallèlement, la diminution est modérée chez les groupes Hg-DN (0.021 ± 0.0048) et Hg-VC-DN (0.026 ± 0.0048). En revanche, on enregistre une augmentation non significative de la vitesse de spermatozoïdes chez le groupe Hg-VC (0.034 ± 0.0128) en comparaison aux autres groupes.

La comparaison par l'ANOVA monte une différence significative $p < 0.05$.

III-3-3- Mobilité:

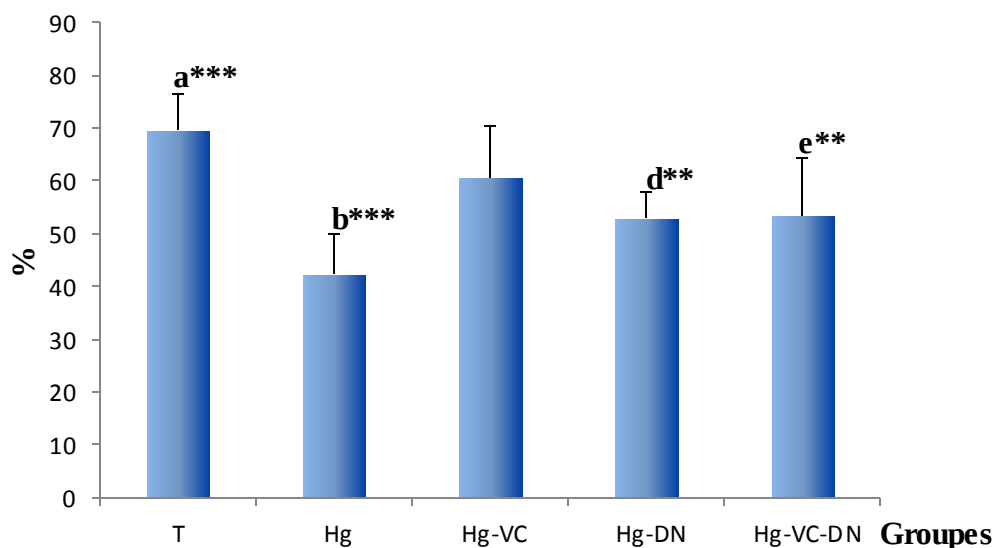


Figure III-3- Variations de nombre de spermatozoïdes mobiles (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b***: une différence très hautement significative entre Hg et T. **d****: une différence hautement significative entre Hg-DN et T. **e****: une différence hautement significative entre Hg-VC-DN et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Une diminution très hautement significative dans la mobilité des spermatozoïdes ($p < 0.001$) est enregistrée chez le groupe Hg (42.22 ± 7.503) en comparaison avec le groupe témoin (69.44 ± 7.123), cependant, les deux groupes Hg-DN (52.78 ± 4.905) et Hg-VC-DN (53.33 ± 10.956) montrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) en comparaison au groupe T. La diminution de la mobilité de spermatozoïdes chez le groupe Hg-VC (60.55 ± 9.989) est modérée comparant au groupe T.

La comparaison entre les cinq groupes montre une différence très hautement significative ($p < 0.001$).

III-3-4- Vitalité:

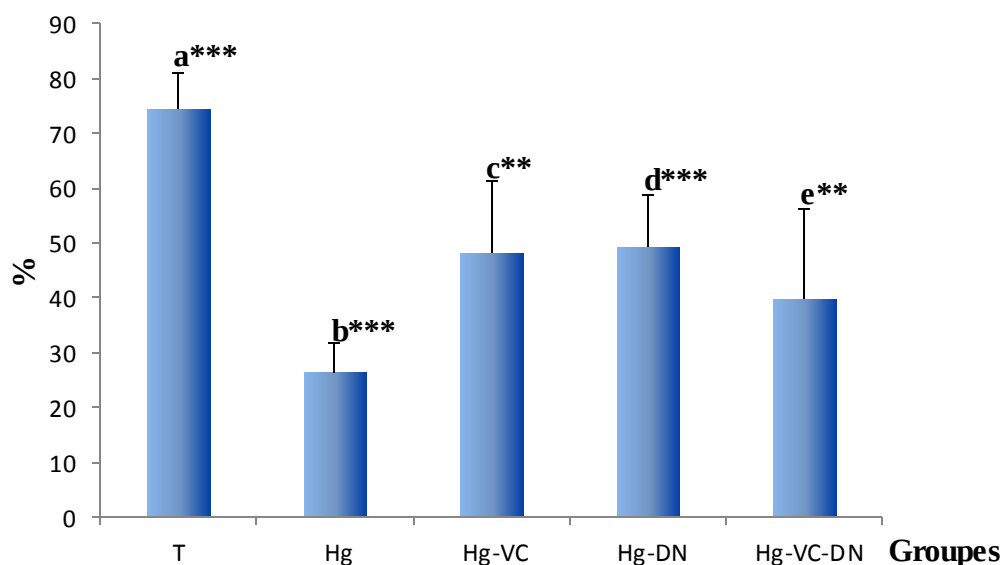


Figure III-4- Variations de nombre de spermatozoïdes vivants (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b***: une différence très hautement significative entre Hg et T. **c****: une différence hautement significative entre Hg-VC et T. **d*****: une différence très hautement significative entre Hg-DN et T. **e****: une différence hautement significative entre Hg-VC-DN et T (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Le pourcentage de spermatozoïdes vivants est diminué notablement chez tous les groupes traités par rapport au témoin T. Les groupes Hg (26.41±5.31) et Hg-DN (49.33±9.32) montrent une différence très hautement significative ($p < 0.001$) par rapport au témoin (74.45±6.64). La vitalité de spermatozoïdes est également diminuée chez les autres groupes traités Hg-VC (48.17±13.01) et Hg-VC-DN (39.78±16.58), cette diminution est hautement significative ($p < 0.01$) en comparaison avec le témoin.

La comparaison multiple révèle une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre les cinq groupes.

III-3-5- Testostérone :

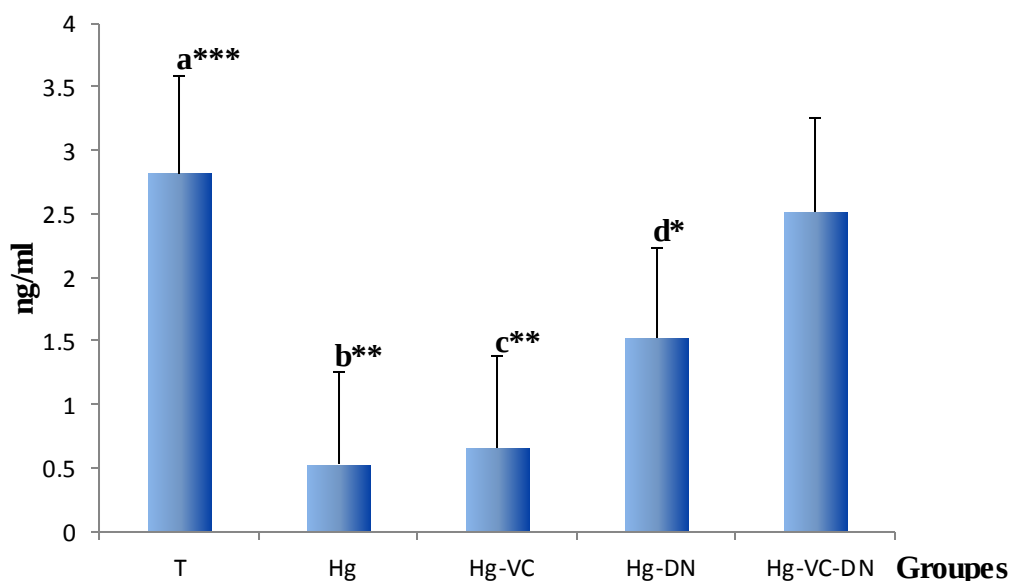


Figure III-5- Variations de concentration de testostérone (ng/ml) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

b**: une différence hautement significative entre Hg et T. **c****: une différence hautement significative entre Hg-VC et T. **d***: une différence significative entre Hg-DN et T. (test *t-student*). **a*****: une différence très hautement significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

De façon générale, le taux de testostérone est diminué chez tous les groupes traités par rapport au témoin. Cependant, chez le groupe Hg traité par le mercure seul (0.522 ± 0.084), on enregistre une diminution hautement significative ($p < 0.01$) en comparaison au groupe T (2.82 ± 0.947). Alors que, les autres groupes Hg-VC (0.655 ± 0.223), Hg-DN (1.527 ± 0.194) et Hg-VC-DN (2.518 ± 0.631) montrent respectivement une diminution hautement significative ($p < 0.01$), significative ($p < 0.05$) et non significative de taux de testostérone par rapport au témoin.

La comparaison entre les cinq groupes montre une différence très hautement significative ($p < 0.001$).

III-4- Discussion

Il semble que l' HgCl_2 a un effet nocif sur tous les paramètres. En effet, les résultats obtenus ont montré une réduction significative de la concentration, la vitesse, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes chez le groupe traité par mercure seul (Hg). Ceci est en accord avec les travaux de Boujbiha *et al.*, (2009). La réduction de la concentration de spermatozoïdes peut être expliquée par une inhibition de la spermatogenèse provoquée par le mercure, ce qui entraîne une stérilité ou oligospermie chez les mâles, d'après Boujbiha *et al.*, (2009) une augmentation de la peroxydation lipidique dans les testicules est due aux effets toxiques de l' HgCl_2 , cette augmentation est accompagnée par une réduction significative de l'activité des enzymes antioxydantes dans le testicule; superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase (Boujbiha *et al.*, 2010). Par ailleurs, l'exposition au mercure rend les testicules plus sensibles aux dommages oxydatifs, une augmentation de la formation des radicaux libres entraîne une déficience du système de défense antioxydant puis une inactivation fonctionnelle peut survenir. Le stress oxydatif provoque également un blocage de la phase spermatide et une diminution de nombre de spermatozoïdes mature (Boujbiha *et al.*, 2009).

Dans le même sens, les travaux de Arabi et Heydarnajad, (2007); Martinez *et al.*, (2016) ont trouvé que l'intégrité membranaire des spermatozoïdes est affectée par l'augmentation significative de la peroxydation lipidique (LPO), qui a une relation négative avec le pourcentage des spermatozoïdes viables. En effet, cette peroxydation lipidique est provoquée par la pénétration du mercure dans l'organisme. Le mercure est également capable de perturber la synthèse de l'ADN et entraîner 88% des cassures chromosomiques dans les noyaux des spermatozoïdes.

Par ailleurs, le mercure altère l'intégrité de la membrane acrosomique en provoquant des réactions acrosomique des spermatozoïdes chez l'homme, il entraîne également une

réduction de la viabilité des spermatozoïdes et cassures de l'ADN en conduisant un dysfonctionnement spermatique. De plus, la pénétration du mercure dans les gonades mâles et le plasma séminal peut provoquer des effets délétères sur l'ensemble de l'appareil reproducteur chez l'homme. Les études de Penna *et al.*, (2009); Boudjbiha *et al.*, (2011) ont montré des altérations fonctionnelles dans le testicule, un blocage de la stéroïdogénèse et de la spermatogénèse au stade spermatocyte et une hypospermatogénèse, ce qui réduit le nombre de spermatozoïdes testiculaire et épидидymaire (Walker, 2011; Abarikwu, 2016; Orisakwe, 2001). et la fertilité, ce phénomène survient lorsque les signaux stimulateurs de cellules de Sertoli à maintenir la spermatogénèse sont faibles à cause de la diminution de la concentration plasmatique en testostérone chez les animaux traités par l'HgCl₂ (El-Desoky *et al.*, 2013). En revanche, d'autres études ne révèlent aucun effet sur l'épididyme et le nombre de spermatozoïdes épидидymaires chez les rats exposés au mercure (Hachfi *et al.*, 2010; Homma-Takeda *et al.*, 2001).

Les travaux de Jarosław *et al.*, (2001); Van Look et Kime, (2003); Dietrich *et al.*, (2010); Slivkova *et al.*, (2010). ont constaté que des concentrations diverses de mercure ont diminué la mobilité des spermatozoïdes à cause de la réduction de la longueur des flagelles de 98% des spermatozoïdes (Van Look et Kime, 2003), ce qui traduit l'effet négatif du mercure sur la mobilité des spermatozoïdes. Selon Ernst et Lauritsen, (1991) les composés inorganiques du mercure diminuent le pourcentage de spermatozoïdes mobiles jusqu'à moins de 5% au bout de 30 min après l'exposition au mercure. Ils diminuent également le nombre et la mobilité des spermatozoïdes, et augmentent le temps nécessaire pour que les spermatozoïdes arrivent jusqu'à l'épididyme. Ainsi, les malformations de la tête des spermatozoïdes augmentent également (Fossato Da Silva *et al.*, 2011).

Une autre étude a révélé que la réduction de la mobilité linéaire des spermatozoïdes est due à la peroxydation lipidique provoquée par le mercure dans la membrane de la tête. Ces

dommages se traduisent par des ruptures acrosomiques avec la formation de microvésicules diverses (Castellini *et al.*, 2009; Oborna *et al.*, 2010), une peroxydation lipidique est également notée dans la membrane acrosomique. Ainsi, Rao et Sharma, (2001) ont prouvé que le chlorure de mercure a entraîné une réduction du nombre de spermatozoïdes épидидymaires, la mobilité, la viabilité et la qualité du sperme chez l'homme (Chavarro *et al.*, 2014). Le traitement par voie orale des singes mâles adultes par méthylmercure pendant 20 semaines, entraîne des changements dans la production, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes, le taux de testostérone a été également estimé avant, au cours et après le traitement. Le méthylmercure a diminué significativement le pourcentage et la vitesse des spermatozoïdes mobiles et leur progression vers l'avant. En outre, il entraîne une augmentation du pourcentage des spermatozoïdes qui ont des anomalies au niveau des queues (Mohamed *et al.*, 1987). En effet, selon cette étude, les réactions du mercure dans l'acrosome provoquent de malformations de la partie antérieure de la tête et de la pièce intermédiaire et de dysfonctionnement mitochondrial.

Les résultats obtenus concernant la concentration de testostérone dans le plasma montrent une diminution hautement significative chez le groupe Hg en comparaison avec le groupe témoin. Ceci peut être expliqué par l'accumulation du mercure dans les cellules interstitielles de Leydig, ainsi que dans les cellules de Sertoli des tubes séminifères, ce qui perturbe la production de testostérone (Ernst et Lauritsen, 1991). Le mercure peut également induire désintégration cellulaire des cellules de Leydig traitées par CH₃HgCl et HgCl₂ pendant 30 et 90 jours, une dégénérescence progressive des cellules de Leydig et diminution de diamètre cellulaire et nucléaire était associée à une augmentation progressive des dépôts de mercure. Une diminution progressive de 3 déshydrogénase 5 stéroïde bêta-hydroxy-delta dans les cellules de Leydig est en corrélation avec différentes

déformations de la structure cellulaire. En outre, une diminution significative des taux sériques de testostérone confirme la déficience de stéroïdogenèse (Vachhrajani et Chowdhury, 1990). La capacité de l'Hg à réduire le niveau de testostérone confirme ses effets sur le système endocrinien (Ramalingam *et al.*, 2003). Des études antérieures ont montré une diminution de taux de testostérone à cause de la réduction de l'activité des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la testostérone (Maines et Mayer, 1985; McVey *et al.*, 2008). Le mercure peut également diminuer le taux de cholestérol testiculaire, précurseur de la synthèse de la testostérone (El-Desoky *et al.*, 2013). D'autre part, la diminution de la capacité de cellules de Leydig à produire la testostérone (Friedmann *et al.*, 1998) est provoquée par les dommages oxydatifs des radicaux libres sur l'ADN dans des cellules de Leydig (Park et Park, 2007). Le mercure peut également affecter le niveau de LH et FSH dans le sang (Martinez *et al.*, 2014) ce qui prouve que le mercure modifie le taux de testostérone en affectant les différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire (Ramalingam *et al.*, 2003, Martinez *et al.*, 2014). Par ailleurs, un traitement par un mélange de métaux lourds contenant du mercure peut entraîner un effet négatif sur les cellules productrices de stéroïdes dans les glandes surrénales et les cellules de Leydig de testicules des rats (Ng et Liu, 1990).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Fossato Da Silva *et al.*, (2011); Drevnick et Sandheinrich, (2003); Boujbiha *et al.*, (2009); El-Desoky *et al.*, (2013), qui ont prouvé que l'accumulation du mercure dans les organes reproducteurs entraîne la diminution de concentration de testostérone sérique jusqu'à 44%, ce qui indique que la stéroïdogenèse a été considérablement réduite (Andrew *et al.*, 1998). Dans le même sens, les travaux de Homma-Takeda *et al.*, (2001) ont montré une réduction du taux de testostérone plasmatique 6 jours après une exposition au méthylmercure, et après une période de 14 jours, il ne reste qu'environ 20% par rapport au témoin. D'après Moussa *et al.*, (2011);

Hachfi *et al.*, (2010) la diminution du taux de testostérone plasmatique semble être en relation avec la diminution de la sécrétion de testostérone. D'ailleurs, la concentration de testostérone dans le liquide des tubes séminifères a diminué d'environ 55% chez les animaux exposés par rapport au témoin. En revanche, les travaux de Abdenmour *et al.*, (2001) ont montré que le taux de testostérone plasmatique chez des travailleurs exposés de façon chronique au mercure ne révèle aucune différence par rapport au témoin.

En ce qui concerne les groupes traités par le chlorure de mercure combiné avec la vitamine C et/ou la datte Deglet nour, il semble que les divers paramètres du sperme étudiés à savoir la concentration, la vitesse, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes, ont amélioré modérément ou significativement, ce qui indique que la supplémentation en vitamine C peut avoir un effet protecteur efficace contre la toxicité mercurielle.

De nombreuses études de supplémentation montrent un effet positif de l'acide ascorbique sur la qualité du sperme; augmentation du nombre de spermatozoïdes et le volume, amélioration de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes (Akmal *et al.*, 2006; Kuoppala, 2016). Une étude de Hsu *et al.*, (1998) ont montré que la supplémentation en vitamine E et/ou vitamine C, réduit la production de ROS (reactive oxygen species) et maintient la motricité et la capacité de spermatozoïdes à pénétrer dans l'ovocyte chez les rats exposés au plomb. D'autre étude a révélé que l'acide ascorbique protège les spermatozoïdes de ROS et diminue les altérations de l'ADN des spermatozoïdes en évitant les lésions de leur ADN. Dans le même sens, les travaux de Ceylan et Serin, (2007) sur une solution diluée du sperme de chien ajoutée à des concentrations variables de l'acide ascorbique, montrent une augmentation significative du pourcentage de spermatozoïdes viables et celui de spermatozoïdes à acrosome sain, la vitamine C peut également régénérer les molécules de testostérone jusqu'à 58% in-vitro, et est capable d'augmenter le niveau de

testostérone dans les cellules de Leydig, en les protégeant contre le stress oxydatif, elle agit comme un donneur d'électron (Kuoppala, 2016)..

Au niveau hormonal, la supplémentation en vitamine C peut réduire les effets de cortisol (hormone du stress). Cela à son tour devrait améliorer le rapport testostérone:cortisol en faveur de la testostérone, en créant un environnement plus anabolique dans le corps (Kuoppala, 2016).

Cependant, les dattes ont également été identifiées comme ayant des propriétés antioxydantes et antimutagènes, leur activité est très puissante et antiradicalaires (Vayalil, 2002). Nos résultats montrent une amélioration dans tous les paramètres par rapport au groupe Hg. En effet, la datte Deglet Nour contient plusieurs antioxydants comme les minéraux à savoir le zinc et le magnésium qui aident à lancer la production de la testostérone et avec un bon niveau de cholestérol permet aux cellules de Leydig de produire la testostérone. Il a également un rôle important dans le développement des testicules et les paramètres spermatiques (concentration, mobilité et vitalité des spermatozoïdes) (Chia *et al.*, 2000). Il a un effet protecteur et antioxydant contre les anions superoxydes (Gavella et Lipovac, 1998) produits par le mercure, Des études antérieures émettent l'hypothèse que la supplémentation en zinc préserve les défenses antioxydantes, améliore le mécanisme de réparation de l'ADN et protège les spermatozoïdes contre les dommages oxydatifs (Oteiza *et al.*, 1995; Zago et Oteiza, 2001). Le zinc augmente également la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig (Prasad, 1991; Hunt *et al.*, 1992). Le sélénium est un oligo-élément présent dans la datte et joue un rôle important dans l'appareil reproducteur, il est présent en concentration élevée dans les organes reproducteurs mâles avec un maximum dans les testicules (Oldereid *et al.*, 1998). Il est incorporé dans les mitochondries des spermatozoïdes, au niveau de la pièce intermédiaire (Bedwal et Bahuguna, 1994), et constitue un composant de la glutathion peroxydase

(Rotruck *et al.*, 1973). Cette enzyme assure un rôle de protection contre les effets délétères des métabolites toxiques et des radicaux libres, prévenant ainsi la peroxydation lipidique des membranes des spermatozoïdes (Alvarez et Storey, 1989). La carence en sélénium induit aussi une diminution de la mobilité et une cassure du flagelle du spermatozoïde (Wu *et al.*, 1973).

Les polyphénols sont des antioxydants ayant un effet anti-radicalaire et anti-inflammatoire dans l'appareil reproducteur (Du *et al.*, 2016), ils sont considérés comme puissants antioxydants qui peuvent réagir avec les radicaux libres dus au stress oxydatif ce qui protège les spermatozoïdes (Du *et al.*, 2016). Toutefois, l'étude de Silberstein *et al.*, (2016) ont montré que la concentration des antioxydants dans le sperme est corrélée avec la concentration et la mobilité des spermatozoïdes. Cette étude est la première à étudier la concentration des polyphénols dans le liquide du sperme. Bien que la concentration de polyphénols ait été trouvée en quantité importante dans le liquide de sperme, elle n'a pas été corrélée avec aucun des paramètres mesurés. Des études supplémentaires sont nécessaires pour étudier le rôle des polyphénols dans la fertilité chez les male.

Les résultats de l'expérimentation dans ce chapitre ont confirmé que le mercure a eu plusieurs effets sur le système reproducteur chez le lapin, il affecte la vitesse, la mobilité, la vitalité, la concentration et la maturité.... des spermatozoïdes, et c'est ainsi que, la fertilité des spermatozoïdes. En cas d'une administration massive du mercure et quelques soit sa forme chimique, il dégrade les protéines, désactive les enzymes et les hormones et perturbe gravement tous les tissus qui entrent en contact avec des concentrations élevées du mercure. Les antioxydants que ce soit naturels ou synthétiques exercent un effet positif sur tous les paramètres de la reproduction et de la fertilité en les protégeant contre la toxicité mercurielle.

III-5- Références bibliographiques :

Abarikwu SO, Benjamin S, Ebah SG, Obilor G, Agbam G. (2016). Oral administration of Moringa oleifera oil but not coconut oil prevents mercury-induced testicular toxicity in rats. *Andrologia*.

Abdenmour C, Boulakoud MS, Khelili K, Tigha N, Khan L, Bellil TE. (2001). mercury intoxication in workers: effects on reproductive parameters = intoxication professionnelle au mercure: effets sur les parametres de reproduction. *L' eurobiologiste*. 35: 23-5.

Akmal M, Qadri J, Al-Waili N, Thangal S, Haq A, Saloom K. (2006). Improvement in human semen quality after oral supplementation of vitamin C. *J Med Food*. 9(3): 440-2.

Alvarez JG, Storey BT. (1989). Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete Res*. 23: 77-90.

Andrew S, Friedmann HC, Lorraine D, Barry RR. (1998). Accumulation of dietary methylmercury in the testes of the adult Brown Norway rat: Impaired testicular and epididymal function. *Environmental toxicology and chemistry*. 17 (5): 867-71.

Anttila A et al., (1995). Finnish Inst. Of Occupational Health, "Effects of paternal occupation exposure to lead or mercury on spontaneous abortion". *J of Occup & Environ Med*. 37(8):915-21.

Arabi M, Heydarnejad MS. (2007). In vitro mercury exposure on spermatozoa from normospermic individuals. *Pak J Biol Sci*. 10(15): 2448-53.

Baranski B. (1981). Effect of mercury on the sexual cycle and prenatal and postnatal development of progeny. *Med Pr*. 32(4): 271-6.

Bedwal RS, Bahuguna A. (1994). Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experientia*. 50: 626-40.

Boujbiha MA, Hamden K, Guermazi F, Bouslama A, Omezzine A, Kammoun A, El Feki A. (2009). Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: association with oxidative stress. *Reprod Toxicol*. 28(1): 81-9.

Boujbiha MA, Hamden K, Guermazi F, Bouslama A, Omezzine A, El Feki A. (2010). Impairment of Spermatogenesis in Rats by Mercuric Chloride: Involvement of Low 17 beta-Estradiol Level in Induction of acute oxidative stress. *Biol Trace Elem Res*.

Boujbiha MA, Hamden K, Guermazi F, Bouslama A, Omezzine A, El Feki A. (2011). Impairment of spermatogenesis in rats by mercuric chloride: involvement of low 17β-estradiol level in induction of acute oxidative stress. *Biol Trace Elem Res*. 142(3):598-610.

Castellini C, Mourvaki E, Sartini B, Cardinali R, Moretti E, Collodel G, Fortaner S, Sabbioni E, Renieri T. (2009). In vitro toxic effects of metal compounds on kinetic traits and ultrastructure of rabbit spermatozoa. *Reprod Toxicol*. 27 (1): 46-54.

Ceylan A, Serin I. (2007). Influence of ascorbic acid addition to the extender on dog sperm motility, viability and acrosomal integrity during cooled storage. *Revue de médecine vétérinaire* Y. 158(7): 384-7.

Chavarro JE, Minguez-Alarcon L, Mendiola J, Cutillas-Tolín A, Lopez-Espín JJ, Torres-Cantero AM. (2014). Trans fatty acid intake is inversely related to total sperm count in young healthy men. *Hum Reprod.* 29:429-40

Chia SE, Ong CN, Chua LH, et al., (2000). Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J Androl.* 21: 53-7.

Daily A et al., (1996). Declining sperm count: evidence that Young's syndrome is associated with mercury. *BMJ.* 3(13): 7044-8.

Dickman MD, Leung KM. (1982). Hong Kong subfertility links to mercury in human hair and fish. *Sci Total Environ.* 14:165-74.

Dietrich GJ, Dietrich M, Kowalski RK, Dobosz S, Karol H, Demianowicz W, Glogowski J. (2010). Exposure of rainbow trout milt to mercury and cadmium alters sperm motility parameters and reproductive success. *Aquat Toxicol.* 97 (4): 277-84.

Drevnick PE, Sandheinrich MB. (2003). Effects of dietary methylmercury on reproductive endocrinology of fathead minnows. *Enviro Sci Technol.* 37 (19): 4390-6.

Du G, Sun L, Zhao R, Du L, Song J, Zhang L, He G, Zhang Y, Zhang J. (2016). Polyphenols: potential source of drugs for the treatment of ischaemic heart disease. *Pharmacol Ther.* 162: 23-34.

El-Desoky GE, Bashandy SA, Alhazza IM, Al-Othman ZA, Aboul-Soud MAM, Yusuf K. (2013). Improvement of mercuric chloride-induced testis injuries and sperm quality deteriorations by *Spirulina platensis* in rats. *PLoS ONE* .8: e59177.

Ernst E, Lauritsen JG. (1991). Effect of organic and inorganic mercury on human sperm motility. *Pharmacol Toxicol.* 68 (6): 440-4.

Fossato Da Silva DA, Teixeira CT, Scarano WR, Favareto AP, Fernandez CD, Grotto D, Barbosa F Jr, Kempinas WG. (2011). Effects of methylmercury on male reproductive functions in Wistar rats. *Reprod Toxicol.* 31(4):431-9.

Friedmann AS, Chen HL, Rabuck LD, Zirkin BR. (1998). Accumulation of dietary methylmercury in the testes of the adult brown norway rat: impaired testicular and epididymal function. *Environ Toxicol Chem.* 17: 867-71.

Gavella M, Lipovac V. (1998). *In vitro* effect of zinc on oxidative changes in human semen. *Andrologia.* 30: 317-23.

Gérard Miquel M. (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *L'Assemblée nationale.*

Gerhard I. (1993). Reproductive risks of heavy metals and pesticides in women. *Reproductive Toxicology M Richardson(ed).VCH Weinheim.*167-83.

Gerhard I, Monga B, Waldbrenner A, Runnebaum B. (1998). Heavy Metals and Fertility. *J of Toxicology and Environmental Health Part A.* 54(8): 593-611.

Gilles Lapointe PhD. (2004). Notions De Toxicologie. *Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec.* 2eme édition revue et augmentée Dépôt légal-Bibliothèque nationale du Québec.

Gordon HP, Cordon LD. (1981). Reduction in mercury vapor levels in Seattle dental offices. *J Dent Res Abstract.* 57:347.

Hachfi L, Trimèche M, Najjar MF, Sakly R. (2010). Accumulation of mercury and its effects on testicular functions in rats intoxicated orally by methylmercury. *International Journal of andrology Andrologia Article first published online.*

Hartman DE. (1998). Missed diagnoses and misdiagnoses of environmental toxicant exposure, MCS. *Psychiatr Clin North Am.* 21(3):659-70.

Homma-Takeda S, Kugenuma Y, Iwamura T, Kumagai Y, Shimojo N. (2001). Impairment of spermatogenesis in rats by methylmercury: involvement of stage and cell specific germ cell apoptosis. *Elsevier Toxicol.* 25-35.

Hsu PC, Liu MY, Hsu CC, Chen LY, Guo YL. (1998). Effects of vitamin E and/or C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm. *Toxicology.* 128 (3): 169-79.

Hunt CD, Johnson PE, Herbel J, et al., (1992). Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum testosterone concentrations, and sperm morphology in young men. *Am J Clin Nutr.* 56: 148-57.

ISBN. (2008). Le mercure et la santé humaine. Original: octobre 2004. *Ministère de la Santé. Canada.*

Ivanitskaia NF. (1991). Evaluation of effect of mercury on reproductive function of animals. *Gig Sanit.* 12: 48-51.

Jarosław C, Mirosława SM, Kime ED, Socha M, Epler P. (2001). The influence of mercury on computer analyzed sperm motility of common carp, *Cyprinus carpio l*, in vitro. *Arch Pol Fish.* 9 (1): 51-60.

Kuoppala A. (2016). Vitamin C and testosterone: the protective effects of ascorbic acid. *Anabolicmen.* <https://www.anabolicmen.com/vitamin-c-testosterone>

Lorscheider FL et al., (1993). Evaluation of the safety issue of mercury release from amalgam fillings. *FASEB J.* 7:1432-3.

Maines MD, Mayer RD. (1985). Inhibition of testicular cytochrome P₄₅₀ dependent steroid biosynthesis by cisplatin. *J Biol Chem.* 260: 60-3.

Malmstrom C et al., (1993). Silver amalgam: an unstable material. *Swedish paper translated in Bio-Probe Newsletter*. 9(1): 5-6.

Mandel I. (1991). Assoc Dean for Research, School of Dental and Oral Surgery. *Columbia Univ NY, JADA*. 122.

Maretta M et al., (1995). Effect of mercury on the epithelium of the fowl testis. *Vet Hung*. 43(1): 153-6.

Martinez CS, Peçanha FM, Brum DS, Santos FW, Franco JL, Zemolin AP, Anselmo-Franci JA, Junior FB, Alonso MJ, Salaices M, Vassallo DV, Leivas FG, Wiggers GA. (2016). Reproductive dysfunction after mercury exposure at low levels: evidence for a role of glutathione peroxidase (GPx) 1 and GPx4 in male rats. *Reprod Fertil Dev*.

Martinez CS, Torres JGD, Pecanha FM, Anselmo-Franci JA, Vassallo DV, Salaices M, Alonso MJ, Wiggers GA. (2014). 60 day chronic exposure to low concentrations of HgCl₂ impairs sperm quality: Hormonal imbalance and oxidative stress as potential routes for reproductive dysfunction in rats. *PLoS ONE*. 9:e111202.

McVey MJ, Cooke GM, Curran IH, Chan HM, Kubow S, Lok E, Mehta R. (2008). An investigation of the effects of methylmercury in rats fed different dietary fats and proteins: testicular steroidogenic enzymes and serum testosterone levels. *Food Chem Toxicol* 46: 270-9.

Mohamed MK, Burbacher TM, Mottet NK. (1987). Effects of methyl mercury on testicular functions in *Macaca fascicularis* monkeys. *Pharmacol Toxicol*. 60 (1): 29-36.

Moussa H, Hachfi L, Trimèche M, Najjar MF, Sakly R. (2011). Accumulation of mercury and its effects on testicular functions in rats intoxicated orally by methylmercury. *Andrologia*. 43(1): 23-7.

Ng TB, Liu WK. (1990). Toxic effect of heavy metals on cells isolated from the rat adrenal and testis. *In Vitro Cell Dev Biol*. 26(1):24-8.

Nylander M et al., (1989). Mercury accumulation in tissues from dental staff and controls. *Swedish Dental Journal*. 13: 235-43.

Oborna I, Wojewodka G, De Sanctis JB, Fingerova H, Svobodova M, Brezinova J, Hajdich M, Novotny J, Radova L, Radzioch D. (2010). Increased lipid peroxidation and abnormal fatty acid profiles and blood plasma of normozoospermic males from infertile couples. *Hum Reprod*. 25:308-16.

Ogura H et al., (1996). A comparison of chromosome aberrations and micronucleus techniques for the assessment of the genotoxicity of mercury compounds in human blood lymphocytes. *Mutat Res*. 340(2-3):175-82.

Oldereid NB, Thomassen Y, Purvis K. (1998). Selenium in human male reproductive organs. *Hum Reprod*. 13: 2172-6.

Orisakwe OE, Afonne OJ, Nwobodo E, Asomugha L, Dioka CE. (2001). Low-dose mercury induces testicular damage protected by zinc in mice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 95(1): 92-6.

Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG, et al., (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr.* 125: 823-9.

Park EJ, Park K. (2007). Induction of reactive oxygen species and apoptosis in BEAS-2B cells by mercuric chloride. *Toxicol In Vitro.* 21: 789-90.

Penna S, Pocino M, Marval MJ, Lloreta J, Gallardo L, Vila J. (2009). Modifications in rat testicular morphology and increases in IFN-gamma serum levels by the oral administration of subtoxic doses of mercuric chloride. *Syst Biol Reprod Med.* 55(2): 69-84.

Prasad AS. (1991). Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am J Clin Nutr.* 53: 403-12.

Ramalingam V, Vimaladevi V, Rajeswary S, Suryavathi V. (2003). Effect of mercuric chloride on circulating hormones in adult albino rats. *J Environ Biol.* 24: 401-14.

Ramirez GB, Cruz MC, Pagulayan O, Ostrea E, Dalisay C. (2000). The tagum study I: analysis and clinical correlates of mercury in maternal and cord blood, breast milk, meconium, and infants hair. *Pediatrics.* 106 (4): 774-81.

Rao MV, Sharma PS. (2001). Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice. *Reprod Toxicol.* 15 (6): 705-12.

Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE et al., (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 179: 588-90.

Silberstein T, Har-Vardi I, Harlev A, Friger M, Hamou B, Barac T, Levitas E, Saphier O. (2016). Antioxidants and Polyphenols: Concentrations and Relation to Male Infertility and Treatment Success. *Oxid Med Cell Longev.*

Slivkova J, Massanyi P, Pizzi F, Trandzik J, Roychoudhury S, Lukac N, Dankova M, Almasiova V. (2010). In vitro toxicity of mercuric chloride on rabbit spermatozoa motility and cell membrane integrity. *J Environ Sci Health A Tox Hazard. Subst. Environ Eng.* 45 (6): 767-74.

Vachhrajani KD, Chowdhury AR. (1990). Distribution of mercury and evaluation of testicular steroidogenesis in mercuric chloride and methylmercury administered rats. *Indian J Exp Biol.* 28(8):746-51.

Van Look KJ, Kime DE. (2003). Automated sperm morphology analysis in fishes: the effect of mercury on goldfish sperm. *Journal of fish biology.* 63 (4): 1020-33.

Vayalil PK. (2002). Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera* L. Arecaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 50: 610-7.

Vimy MJ, Takahashi Y, Lorscheider FL. (1990). Maternal -Fetal Distribution of Mercury Released From Dental Amalgam Fillings. *Dept of Medicine and Medical Physiology. Faculty of Medicine. Univ. of Calgary. Calgary Alberta Canada.*

Walker WH. (2011). Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. *Spermatogenesis*. 1: 116-20.

Weiner JA et al., (1993). The relationship between mercury concentration in human organs and predictor variables. *Sci Tot Environ*. 138(1-3): 101-15.

Windham B. (1996). Health, Hormonal, and Reproductive Effects of Endocrine Disrupting Chemicals (including mercury). *Annotated Bibliography*.

Wu SH, Oldfield JE, Whanger PD, et al., (1973). Effect of selenium, vitamin E, and antioxidants on testicular function in rats. *Biol Reprod*. 8: 625-9.

Zago MP, Oteiza PI. (2001). The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 31: 266-74.

Ziff S, Ziff M. (1987). Infertility and Birth Defects: IS Mercury from Dental Fillings a Hidden Cause?. *Bio Probe Inc*. 1: 3-8.

Chapitre IV

Variations pondérales et histologiques

IV-1- Introduction

Le mercure se trouve dans plusieurs états physico-chimique et possède des caractéristiques spécifiques pour les organes cibles (Aleo *et al.*, 2002; Ghosh et Sil, 2008). En effet, un amalgame dentaire contenant du mercure émet des vapeurs dont une partie est absorbée par les poumons, le mercure passe dans le sang, traverse la barrière hémato-encéphalique, empruntant un système de transport analogue à celui d'une acide amine neutre, ce qui permet sa diffusion dans le cerveau et l'expression de sa toxicité (Aschner et Aschner, 1990). Tandis que, les reins, le foie et le tractus gastro-intestinal sont principalement visés par des composés de mercure inorganiques, tels que l' HgCl_2 (Schurz *et al.*, 2000; Ghosh et Sil, 2008). Donc, la distribution du mercure n'est pas de façon similaire dans tous les organes et ne produit pas des effets de même intensité sur tous les organes ou les tissus et ceci peut être dû à plusieurs raisons, dont une sensibilité plus grande de ces organes, une affinité prononcée du mercure pour certains organes et ceci dépend également de son état physico-chimique, sa concentration et/ou ses métabolites, etc. Dans le rein, l'exposition au mercure inorganique peut conduire à une insuffisance rénale et un syndrome néphrotique chez l'homme (Risher, 2003). En effet, les ions mercuriques sont conjugués à des groupements thiol (-SH) des molécules rénales où il s'accumule, une partie importante du mercure inorganique se fixe sur la métallothionéine (MT), cette dernière semble jouer un rôle protecteur en inhibant l'action toxique du mercure. (Lauwerys *et al.*, 2007).

Le foie est un organe cible pour le mercure à cause de son important débit sanguin et de sa situation par rapport à la circulation sanguine. Après une exposition, le mercure est rapidement lié aux enzymes et autres protéines contenant de groupement (-SH) du foie, d'après Risher, (2003) le chlorure de mercure peut entraîner des dommages oxydatifs dans le foie, et son accumulation dans la bile avant l'excrétion peut aggraver son intoxication. Le mercure entraîne également une destruction des cellules épithéliales des intestins, il se fixe

sur les peptides trifoliés, ces dernières protègent la muqueuse de l'intestin grêle et accélèrent sa réparation, et à cause de l'influence du mercure, l'intestin devient perméable, une perméabilité intestinale diminue la capacité d'éliminer les toxiques de l'organisme en provoquant leur réabsorption alors qu'ils devraient être normalement évacués dans les selles après avoir été véhiculés par la bile. Le mercure traverse donc la paroi intestinale où il s'accumule dans les cellules plus facilement en provoquant des troubles et des inflammations locales. Le testicule est considéré également comme un organe cible de chlorure de mercurique. L'exposition au mercure induit des altérations histopathologiques dans les tissus testiculaires, différentes études ont montré une reprotoxicité du mercure dans plusieurs modèles animaux. Chez l'adulte, l'exposition à cet élément entraîne des troubles des tubes séminifères couplée à une diminution du nombre de spermatogonies et spermatocytes chez le mâle.

Des études montrent que les substances naturelles ou sous forme de médicaments dont la datte et la vitamine C, favorisent une élimination du mercure présent dans l'organisme et aide le système antioxydant endogène à améliorer la santé de lapin. En effet, la vitamine C protège l'organisme contre les oxydants externes et internes (Mitchell et Fleisher, 2001).

Une supplémentation en antioxydants pourrait avoir un effet positif sur la santé en diminuant le niveau de mercure dans le corps entier.

Objectifs

Cette étude est menée tout d'abord, pour déterminer l'effet du mercure sur le poids relatif des organes (foie, reins, testicules et rate) et sur l'aspect tissulaire et cellulaire (histologie) de quelques organes cibles (foie, reins, testicules et intestins). Et deuxièmement, pour comparer l'efficacité thérapeutique et la capacité de protection de vitamine C et de fruit de palmier dattier Deglet Nour sur la réduction de la toxicité induite par le mercure dans le foie, le rein, le testicule, la rate et les intestins.

IV-2- Protocol expérimental:

IV-2-1- Prélèvement des organes: après le sacrifice et la dissection des animaux, les organes (le foie, le rein, le testicule, la rate et l'intestin) ont été prélevés et pesés à l'aide d'une balance de précision pour estimer le poids relatif, puis un fragment de chaque organe a été fixé dans Bouin alcoolique pour l'étude histologique.

IV-2-2- détermination du poids relatif des organes:

Principe de l'utilisation de la balance de précision: les balances de laboratoire permettent d'effectuer des pesées de masses avec une précision allant jusqu'à 0,01mg.

Le principe de fonctionnement de ces balances repose sur les variations des caractéristiques électriques de certains matériaux lorsqu'ils sont soumis à des compressions mécaniques. Ces variations électriques sont mesurées et envoyées à un cadran qui permet de donner une indication sur la masse de la charge inconnue qui a comprimé le matériau.

Voici quelques règles pour réaliser une pesée précise:

- La balance doit être de niveau, pour cela mettre la balance hors tension et la placer sur une surface plane, un niveau à bulle permet de vérifier et de contrôler le réglage du niveau. Régler le niveau à l'aide des pieds réglables jusqu'à ce que la bulle soit au centre du niveau.
- Les mesures doivent s'effectuer portes fermées. Après avoir éventuellement effectué la tare, placer la substance à peser dans le contenant (verre de montre, sabot de pesée) puis fermer la porte de la balance pour relever la mesure. Cette précaution évite des erreurs dues aux courants d'air
- Ne pas s'appuyer sur la paillasse supportant la balance. Les moindres vibrations perturbent la mesure.
- Nettoyer avec précaution la balance après utilisation.

Comme tout appareil de métrologie, l'étalonnage des balances doit être contrôlé périodiquement.

Enfin, pour déterminer le poids relatif des organes on utilise la règle de trois:

$$\frac{\text{Poids de l'organe}}{\text{Poids de l'animal}} \times 100$$

IV-2-3- Etude histologique:

IV-2-3-1- Le but: la technique histologique a pour but l'obtention de coupes minces, transparentes de tissus et d'organes observables au microscope, le plus souvent après coloration par des colorants spécifiques qui donnent aux diverses parties des teintes différentes.

On doit donc chercher à conserver l'objet à étudier dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant, tout en le rendant imputrescible, puis on pénètre cet objet avec une substance demi-dure, qui lui donne une consistance suffisante et une homogénéité relative, favorables à la confection de coupes minces, ensuite on porte ces coupes en les étalant sur une lame de verre à laquelle elles adhèrent, on les colore dans des bains de teinture, on les recouvre d'un milieu de même réfringence que le verre et d'une mince lamelle de verre. On obtient ainsi des préparations persistantes, parfaitement observables au microscope à la lumière transmise.

L'ensemble des opérations comprend:

IV-2-3-2- Le prélèvement et la fixation des échantillons:

La fixation est l'étape la plus importante dans un travail histologique qui sert à une observation structurale et microscopique d'un échantillon biologique, son rôle essentiel est de protéger les pièces contre l'autolyse et l'attaque bactérienne pour les conserver dans un état le plus proche de l'état vivant, afin d'obtenir des informations scientifiques juste lors de l'observation microscopiques.

Pour chaque lapin, et après la dissection, on a prélevé un fragment de chaque organe (foie, rein, testicule et intestin grêle), puis on l'a mis dans une boîte contenant de liquide de Bouin alcoolique.

La fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces, elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol et le liquide de Bouin (un fixateur formé à base de formol, d'acide picrique et d'acide acétique).

Préparation du Bouin alcoolique

- Prendre 100 ml d'éthanol à 95°.
- Ajouter 21 ml d'eau distillée.
- Dissoudre 1g d'acide picrique de coloration jaunâtre dans 100 ml de la solution préalablement préparée.
- Pour obtenir du Bouin alcoolique, ajouter au 75 ml de cette solution, 5 ml d'acide acétique et 25 ml de formole.
- Pour obtenir une bonne fixation:
 - La quantité du fixateur utilisée doit être proportionnée à la taille de la pièce.
 - L'épaisseur de la pièce à fixer doit permettre l'action rapide du fixateur.
 - La fixation doit être réalisée le plus tôt possible et le plus rapidement possible.
 - La durée d'action du fixateur est proportionnelle à la taille de la pièce.
 - La durée de la fixation est de trois jours au minimum.

IV-2-3-3- La déshydratation:

Cette étape a pour but d'extraire l'eau contenue dans les tissus. Pour aboutir ce but, les pièces doivent successivement traitées par une série de réactifs qui ont pour rôle de remplacer l'eau par de l'alcool (déshydratation) puis de remplacer l'alcool par de toluène (substitution) avant d'imprégner les échantillons dans les deux stations de la paraffine

liquide. Parce que cette dernière n'est pas miscible à l'eau et non plus soluble dans l'alcool. Le toluène est donc un liquide intermédiaire miscible à l'alcool et à la paraffine et qui possède la propriété d'éclaircir les tissus.

Les différentes étapes de la déshydratation se fait automatiquement par un appareil équipé de douze stations ou bacs dont dix en verre pour les réactifs, deux en inox chauffés pour la paraffine, et un panier pour mettre les cassettes. Cette appareil est appelé automate de déshydratation.

Le protocole effectué dans la déshydratation des échantillons est le suivant:

- Formol dilué pendant une heure.
- Formol dilué pendant une heure
- Alcool à 70° pendant une heure et 30 minutes.
- Alcool à 80° pendant une heure et 30 minutes.
- Alcool à 90° pendant une heure et 30 minutes.
- Alcool à 100° pendant une heure.
- Alcool à 100° pendant une heure.
- Alcool à 100° pendant une heure.
- Toluène dilué pendant une heure et 30 minutes.
- Toluène dilué pendant une heure et 30 minutes.
- Paraffine diluée pendant deux heures.
- Paraffine diluée pendant deux heures.

IV-2-3-4- L'inclusion à la paraffine:

Le but de cette étape est de traiter les échantillons par la paraffine liquide de manière à la faire pénétrer dans les tissus.

Pour obtenir des blocs de paraffine contenant les pièces étudiées, un automate d'inclusion peut se charger de toutes les phases conduisant à la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à être microtomé.

Cet appareil est une station compacte et programmable pour l'enrobage des tissus biologiques dans la paraffine. Il est conçu pour permettre le montage final et le durcissement des tissus biologiques imprégnés dans la paraffine afin d'être par la suite coupés à l'aide d'un microtome. L'appareil dispose d'un bain métallique chauffé à 60°C pour conserver les échantillons avant le montage. La plate-forme de travail est séparée en deux surfaces, une surface tempérée qui maintient la paraffine liquide pour permettre la manipulation et orientation de l'échantillon, et une surface refroidie pour la solidification de la paraffine, le réservoir à paraffine, le bac à moules et le distributeur de paraffine sont également tempérés pour faciliter l'enrobage.

- Déverser un peu de paraffine liquide dans des moules en inox.
- A l'aide d'une pince chauffée, plonger les pièces dans les moules contenant de la paraffine.
- Remplir le fond des moules métalliques, préalablement réchauffées avec la paraffine chaude et maintenir sur la surface tempérée.
- Sortir la cassette contenant l'échantillon du bain de paraffine chaude et transférer rapidement le tissu au moule.
- Placer doucement le moule sur la surface refroidie pour fixer l'échantillon au centre (durcissement de la paraffine par le froid).
- Placer la partie supérieure de la cassette, avec l'identification du tissu, sur le moule et compléter le niveau de paraffine jusqu'à couvrir le fond grillé.
- Ensuite, passer le moule sur la surface froide pendant 30 minutes pour faire durcir la paraffine.

IV-2-3-5- La réalisation des coupes:

Cette étape a pour but d'obtenir des coupes histologiques extrêmement fines qui permettent le passage de la lumière du microscope optique, afin d'observer leurs différents composants tissulaires et cellulaires.

Un outil constitué d'un porte couteau et d'un porte objet utilisé pour réaliser ce travail appelé le microtome; Cette catégorie d'outils se caractérise par un mécanisme d'avancement, à l'aide d'une manivelle pour faire un mouvement rotatoire de l'objet à couper vers le couteau, qui lui reste fixe. C'est-à-dire le tissu biologique est coupé par déplacement de l'échantillon vers le couteau.

Pour obtenir des coupes visibles au microscope optique:

- Monter le bloc de paraffine déjà taillé dans le porte-objet du microtome.
- Régler le couteau de manière à dresser une face de coupe nette (Coupes épaisses).
- Régler l'épaisseur de coupe définitive (3-5 μm).
- Procéder à la confection du ruban de coupes.
- Verser sur la lame séchée et gravée un peu de solution d'ovo-albumine, ce qui permet un bon étalement des coupes, ensuite placer à l'aide d'une aiguille et d'une pince le ruban de coupes sur cette lame.
- Porter l'ensemble sur une plaque chauffante pendant quelques secondes afin de fixer et coller le ruban de coupes.
- Égoutter puis ranger les lames dans les paniers porte-lames et les déposer dans l'étuve à 72°C pendant dix minutes.

IV-2-3-6- Coloration des échantillons:

La coloration est une étape essentielle et très importante dans un travail de recherche histologique, elle permet d'obtenir des préparations claires et faciles à interpréter lors de l'observation microscopique.

Afin de distinguer les différents tissus, on peut avoir recours à différents colorants qui permettent d'accentuer les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation, parmi les techniques de coloration, l'hématoxyline-éosine qui permet une coloration bleue du noyau et rose du cytoplasme.

Le principe de cette coloration repose sur des facteurs chimiques interviennent le plus souvent. L'hématéine (NH^+) va se fixer sur les acides phosphoriques des noyaux et l'éosine (CO^-) se fixe sur les groupements positifs des protéines cytoplasmiques.

Mais comme la paraffine est hydrophobe, alors que les colorants sont hydrophiles, la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation. Cette étape est assurée par une succession de bains:

- Un solvant permettant l'élimination de la paraffine (xylène) pendant 24 heures, puis 2 bains de xylène pendant 5 minutes pour chacun.
- Un bain d'un mélange d'alcool et de xylène (1/3 alcool et 2/3 xylène) pendant 3 minutes, puis un bain d'alcools pur pendant 3 minutes.
- Une agitation modérée dans un bain de l'eau de conduite assure la réhydratation finale.
- Après la réhydratation, les coupes sont colorées. Elles sont d'abord plongées dans l'hématoxyline pendant 45 secondes, puis rincées en agitant modérément dans un bain de l'eau de conduite.
- Les coupes sont ensuite émergées dans l'éosine pendant 1.5 minutes, puis rincées par l'eau sous le robinet (attention à ne pas décoller les coupes par un courant d'eau trop violent).
- Il faut alors procéder à la déshydratation, opération inverse de celle menée au début, avant de pouvoir faire le montage.
- La déshydratation est réalisée en plongeant successivement les lames dans un bain d'alcool à 70° et deux bains d'alcool pur pendant 3 secondes pour chacun, un bain d'un

mélange d'alcool et de xylène (1/3 alcool et 2/3 xylène) pendant 4 secondes en agitant modérément, et enfin dans deux bains de solvant (xylène) pendant 4 secondes pour chacun.

IV-2-3-7- Montage et lecture des lames:

- À la sortie du solvant, 3 à 4 gouttes d'un milieu de montage; Eukit, sont disposées sur chaque coupe et une lamelle est appliquée de façon à ce que l'Eukit recouvre l'ensemble de la coupe. L'Eukit polymérise en une vingtaine de minutes mais on peut accélérer le processus en plaçant les lames dans l'étuve à 72°C pendant 10 minutes.
- La préparation microscopique est alors prête pour l'observation.
- La lecture des lames se fait aux faibles grossissements pour avoir une bonne vue d'ensemble des tissus puis aux forts grossissements pour voir les détails.
- Les clichés présentés ci-dessous ont été obtenus avec un microscope optique muni d'un appareil photographique numérique.

IV-2-4- Etude statistique:

Le test "t-student" a été utilisé pour la comparaison de 2 moyennes, tandis que la comparaison multiple des moyennes a fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA).

IV-3- Résultats:

IV-3-1- Poids relatif du foie:

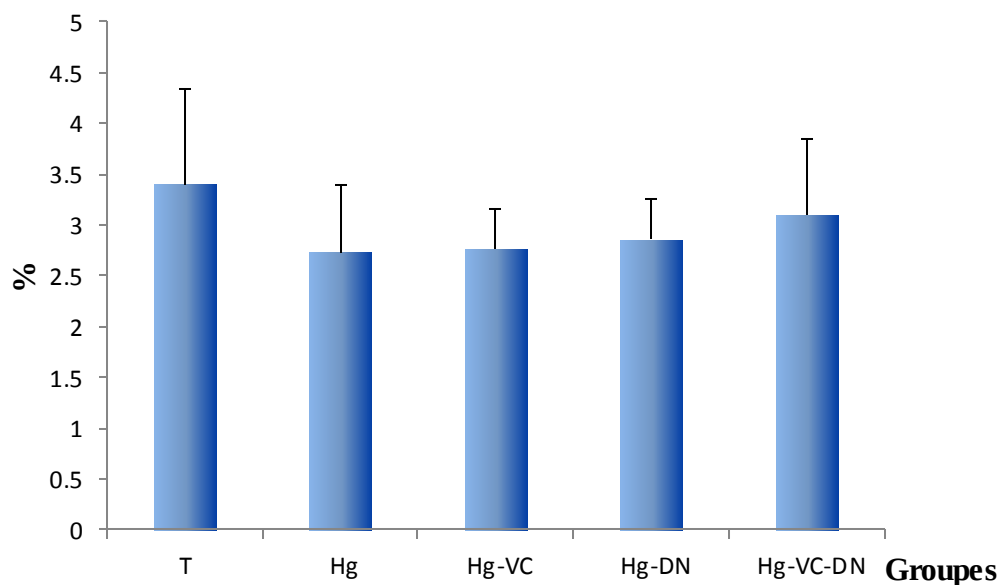


Figure IV-1- Variations de poids relatif du foie (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

Le traitement par HgCl_2 , Vitamine C et la datte Deglet Nour pendant six semaines entraîne une diminution non significative du poids relatif du foie chez les groupes Hg (2.733 ± 0.656), Hg-VC (2.761 ± 0.394) et Hg-DN (2.855 ± 0.41) en comparaison avec le groupe T (3.403 ± 0.93). Tandis que, le groupe Hg-VC-DN révèle une diminution modérée (3.098 ± 0.752) par rapport au groupe T.

Cependant, la comparaison par l'ANOVA entre les cinq groupes ne montre aucune différence significative.

IV-3-2- Poids relatif du rein:

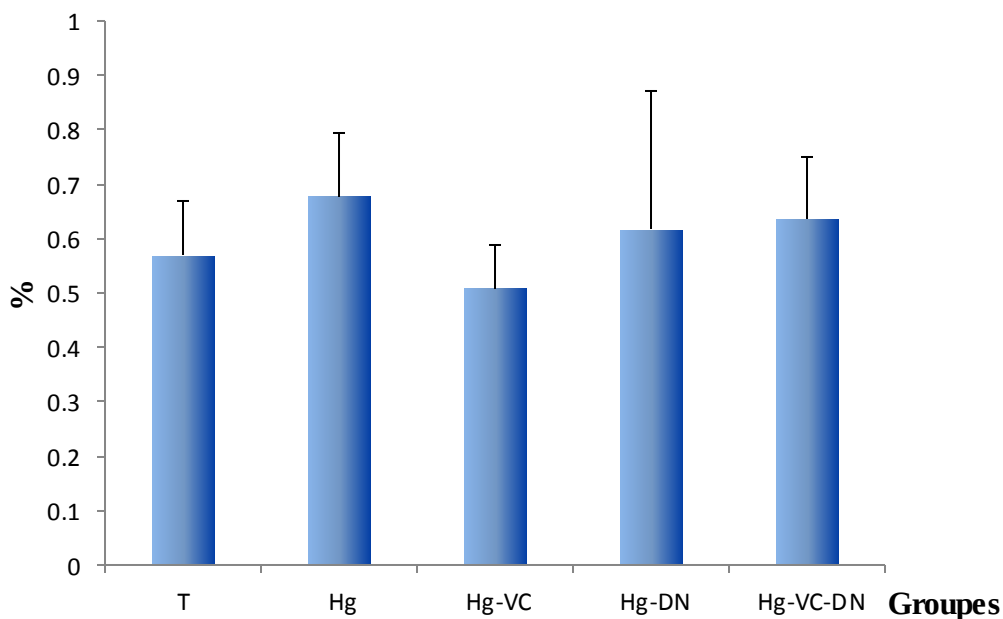


Figure IV-2- Variations du poids relatif du rein (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

Une augmentation non significative du poids relatif du rein, est enregistrée chez le groupe Hg traité par mercure (0.678 ± 0.116) en comparaison avec le groupe T (0.569 ± 0.099). Alors que, les groupes Hg-DN (0.617 ± 0.256) et Hg-VC-DN (0.637 ± 0.114) montrent une augmentation modérée en comparaison avec le groupe T.

Le poids relatif le plus bas est enregistré chez le groupe Hg-VC (0.509 ± 0.081) en comparaison avec les autres groupes.

La comparaison entre les cinq groupes ne présente aucune différence significative.

IV-3-3- Poids relatif du testicule:

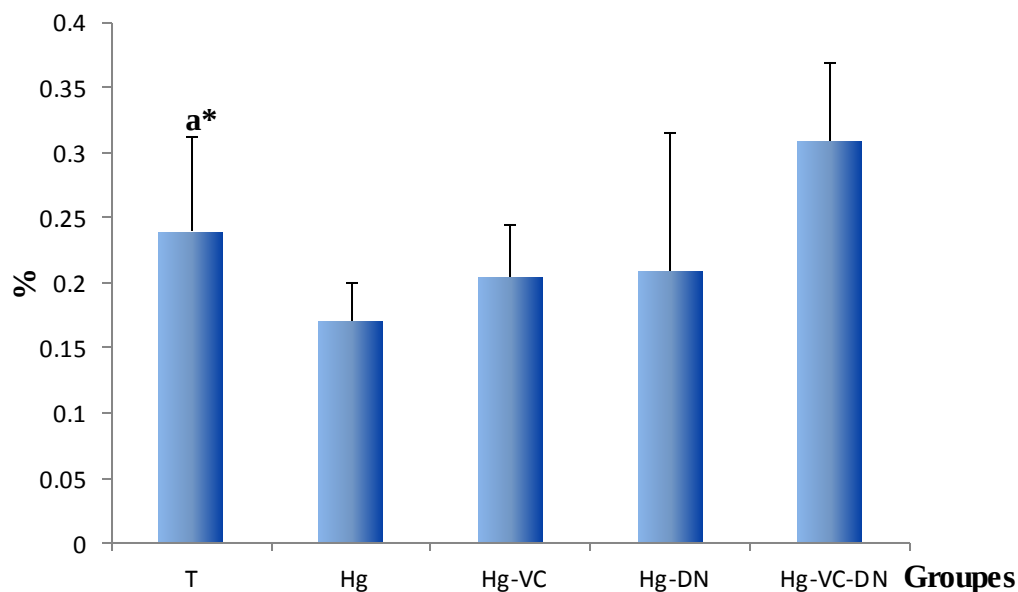


Figure IV-3- Variations du poids relatif du testicule (%) chez le témoin et les groupes traités après 6 semaines du traitement.

a*: une différence significative entre les cinq groupes (test ANOVA).

Le poids relatif du testicule est diminué chez tous les groupes traités, à l'exception du groupe traité à la combinaison Hg-VC-DN par rapport au témoin T.

Une diminution notable est enregistrée chez le groupe Hg (0.171 ± 0.029) en comparaison avec le témoin T (0.239 ± 0.073).

Les groupes Hg-VC (0.205 ± 0.0402) et Hg-DN (0.209 ± 0.106) montrent une diminution non significative en comparaison avec le groupe T. Cependant, une augmentation modérée est enregistrée chez le groupe Hg-VC-DN (0.309 ± 0.059) en comparaison avec le groupe T.

La comparaison multiple par le teste (ANOVA) montre une différence significative ($p < 0.05$) entre les cinq groupes.

IV-3-4- Poids relatif de la rate:

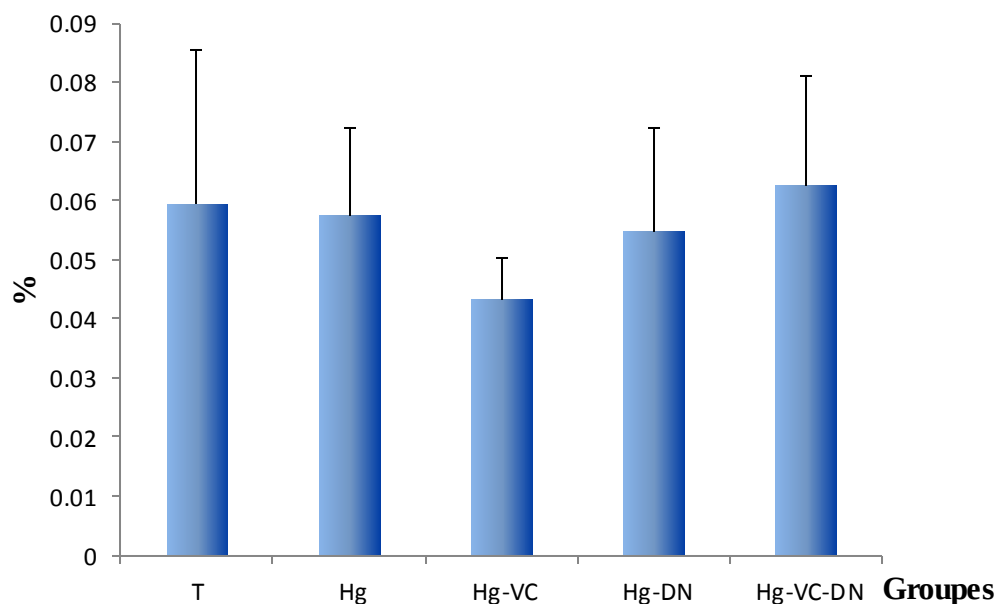


Figure IV-4- Variations du poids relatif de la rate (%) chez le témoin et les groupes traités après six semaines du traitement.

Une diminution non significative du poids relative de la rate est enregistré chez les groupes Hg (0.0575 ± 0.0149) et Hg-DN (0.0548 ± 0.0174) en comparaison avec le groupe T (0.0594 ± 0.026). Tandis que, le groupe Hg-VC (0.0433 ± 0.0071) Hg révèle une diminution notable par rapport au groupe T.

En revanche, le groupe Hg-VC-DN (0.0626 ± 0.0185) montre une augmentation non significative en comparaison avec le groupe témoin T.

La comparaison entre les cinq groupes ne montre aucune différence significative.

IV-3-5- Coupes histologiques du foie:

Chez le témoin T la coupe histologique réalisée sur le foie montre une architecture normale et claire, les lobules sont formés de travées d'hépatocytes (cellules hépatiques) disposées en rayons autour d'une veine centrale ou veine centro-lobulaire, les travées sont séparées par les capillaires sinusoides à travers lesquels circule le sang (Fig. IV.5.1).

Les hépatocytes sont des cellules cubiques ou polyédriques à noyau vésiculeux. Il n'est pas rare de trouver des hépatocytes binucléés. Le cytoplasme est riche en amas basophiles ponctués; ce sont les corpuscules de Berg, amas de réticulum endoplasmique rugueux (Fig.IV.5.2).

En revanche, l'observation microscopique de tissu hépatique chez le groupe traité par le mercure Hg montre que l'architecture de tissu est altérée, les lobules sont moins délimités par rapport au témoin, nécrose sévère des hépatocytes, les canaux biliaires sont nombreux et plus rapprochés. Ainsi, une dilatation notable est enregistrée au niveau des capillaires sinusoides (Fig.IV.5.3).

A fort grossissement, l'organisation des hépatocytes en travées est altérée, les cellules perdent leur forme polyédrique et deviennent moins adhérentes à cause de la dilatation et de l'augmentation du nombre des canaux biliaires et des sinusoides, la plupart de ces derniers sont engorgés du sang. On note également la présence de cellules à noyaux normaux et autres à noyaux pycnotiques. La caryolyse se manifeste également dans certaines cellules. Une dégénérescence membranaire des hépatocytes est également enregistrée chez le groupe Hg en comparaison avec le groupe T (Fig.IV.5.4).

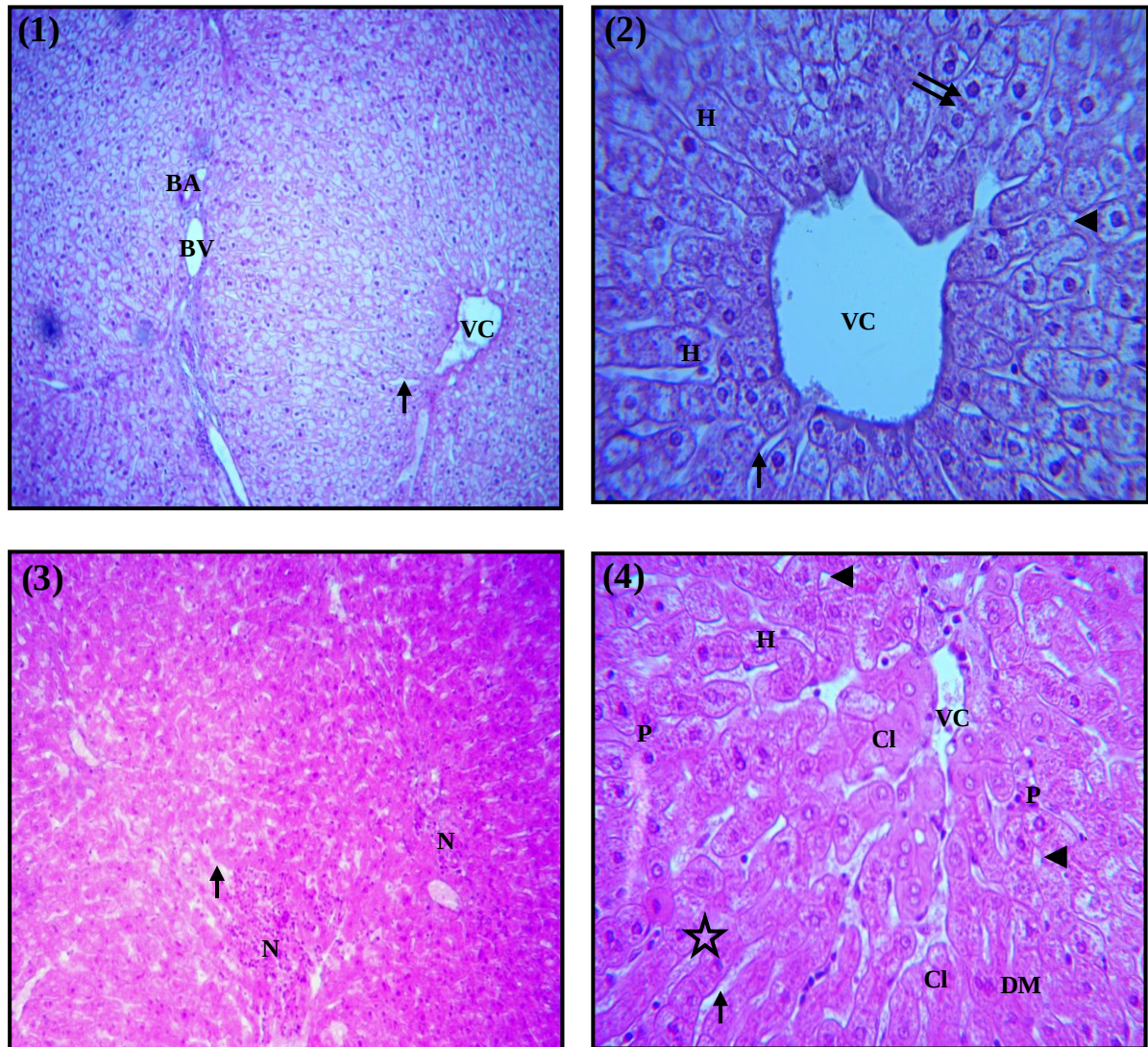


Figure IV-5- Foie de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3 et 4). 1 et 3, Vue générale. x 100, 2 et 4, Hépatocytes. x 400.

BA: branche de l'artère hépatique. **BV:** branche de la veine porte hépatique. **Cl:** caryolyse, **DM:** dégénérescence membranaire. **H:** hépatocyte. **N:** nécrose. **P:** pycnose. **VC:** veine centrale.

◀ Canal biliaire. ← Capillaire sinusoiide. ⇨ Travées hypatocytaires. ☆ Sinusoïde engorgé du sang

La coupe histologique réalisée sur le foie du groupe traité Hg-VC révèle des atteintes tissulaires moins importantes par rapport au groupe Hg.

A faible grossissement, l'architecture tissulaire semble normale et ne révèle aucune anomalie (Fig.IV.6.1).

Toutefois, à fort grossissement, on enregistre de dégénérescence membranaire des hépatocytes entourant la veine centro-lobulaire, une caryolyse, ainsi, la forme polyédrique des hépatocytes est moins claire dans quelques endroits (Fig.IV.6.2).

L'observation microscopique de tissu hépatique de groupe Hg-DN montre des altérations tissulaires moins importantes en comparaison avec le groupe Hg, dégénérescence membranaire des hépatocytes et caryolyse sont les modifications cellulaires les plus claires à faible grossissement (Fig.IV.6.3).

A fort grossissement, on note que la caryolyse est important dans les cellules entourant la veine centro-lobulaire, une dégénérescence membranaire des héparocytes, des noyaux pycnotiques et une caryorrehexie, ont été noté chez ce groupe. Une petite hémorragie à la lumière de la veine centro-lobulaire est également enregistré (Fig.IV.6.4)

L'observation microscopique de foie de groupe Hg-VC-DN révèle une architecture tissulaire normale par rapport au groupe témoin T, la veine centro-lobulaire située centralement est entourée d'hépatocytes normales, ces dernières s'organisent en travées hépatocytaires traversés par des capillaires sinusoides (Fig.IV.6.5).

A fort grossissement, on note la présence des hépatocytes polyédriques claires, les noyaux sont normaux avec l'apparition de caryolyse dans quelques cellules (Fig.IV.6.6).

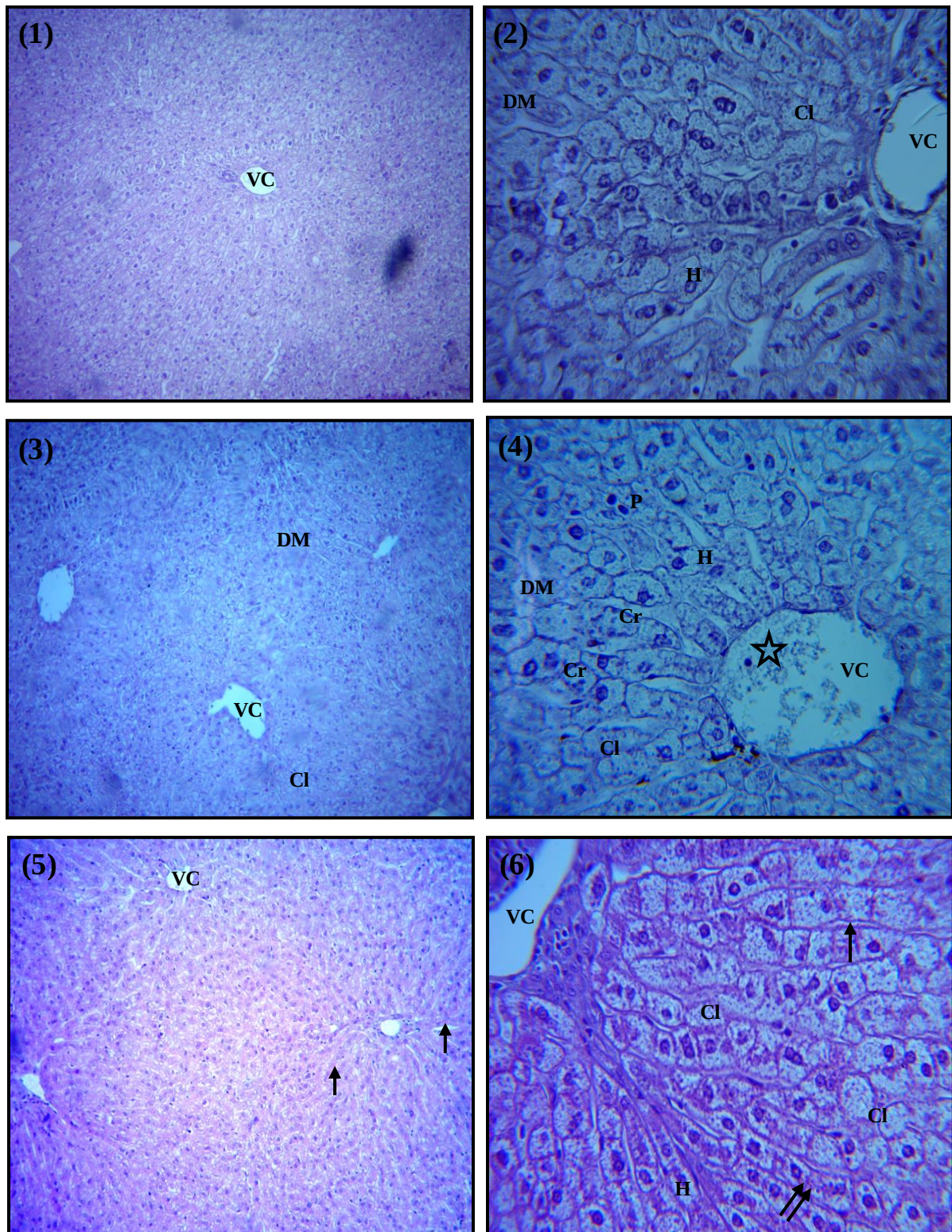


Figure IV-6- Foie de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Vue générale. x 100, 2, 4 et 6, Hépatocytes. x 400.

Cl: caryolyse, Cr: caryorrhexie. DM: dégénérescence membranaire. H: hépatocyte. P: pycnose. VC: veine centrale.

← Capillaire sinusoidale. ↗ Travées hypatoctytaire. ☆ Hémorragie

IV-3-6- Coupes histologiques du rein:

La coupe histologique réalisée sur le rein du témoin T montre une architecture tissulaire normale; le cortex du rein présente les néphrons qui sont les unités fonctionnelles de base du rein. Un néphron est un tubule mince consiste en un amas de capillaires appelés glomérules, qui apparaissent comme des structures denses arrondies, entourés d'un bulbe creux, la capsule de Bowman ou capsule glomérulaire. Ensemble, la capsule de Bowman et son glomérule constituent un corpuscule rénal (Fig.IV.7.1).

La capsule de Bowman amène à un long tubule entortillé; le tubule contourné proximal formé par un épithélium simple et cubique (Fig.IV.7.2).

L'observation microscopique de rein de groupe traité par le mercure (Hg) montre des altérations glomérulaire et tubulaire importantes, les glomérules semblent altérées chez ce groupe par rapport celles du témoin, l'espace de Bowman est rétréci à cause de la dégénérescence cellulaire et les lésions des capillaires glomérulaires (Fig.IV.7.3).

On enregistre également une dégénérescence membranaire des cellules rénales, se traduit par exfoliation de bordure en brosse de l'épithélium tubulaire et dilatation du pôle urinaire et la lumière tubulaire, ainsi, des caryomégalias et nécrose se manifestent également dans l'épithélium tubulaire (Fig.IV.7.4).

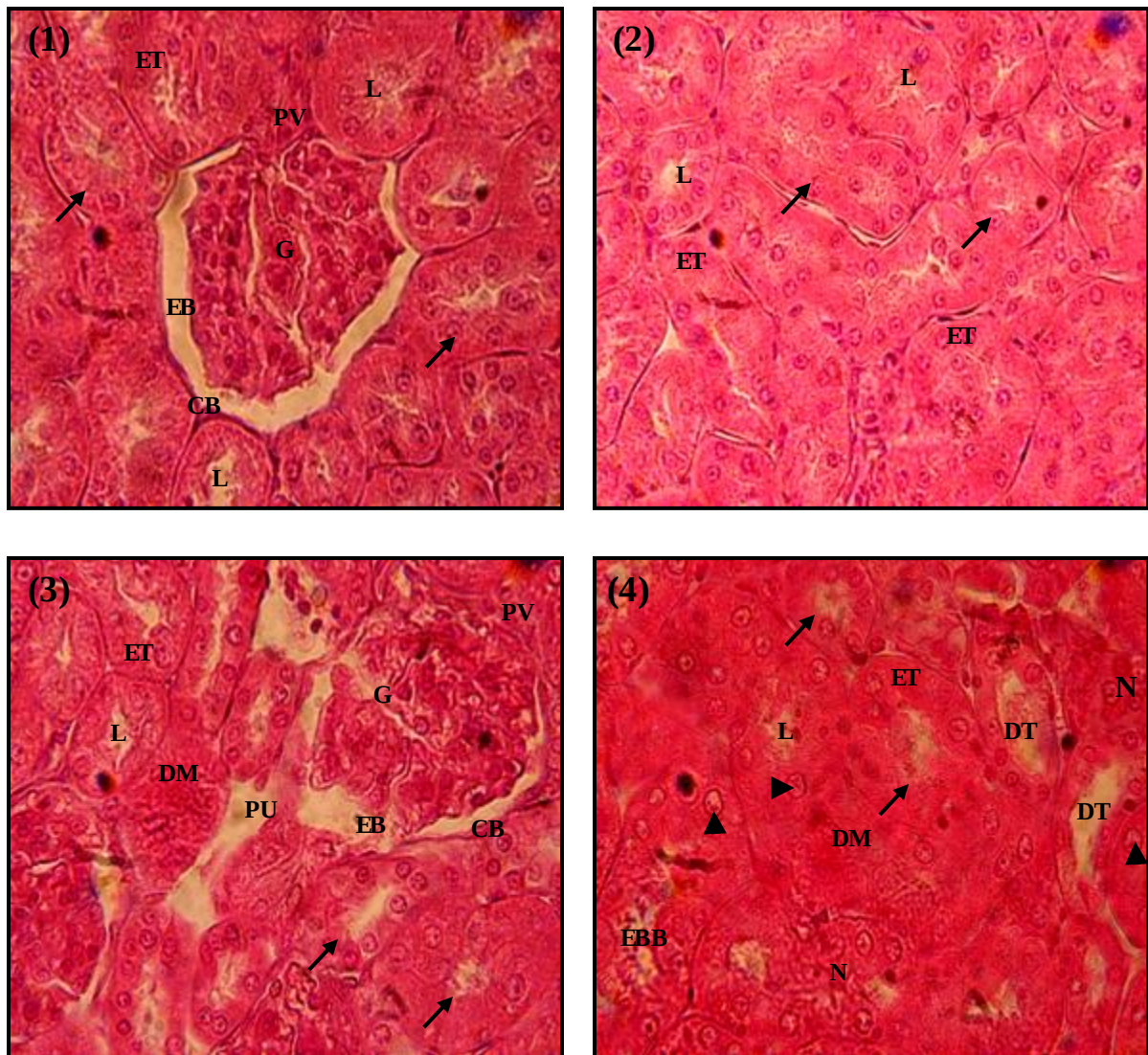


Figure IV-7- Rein de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3 et 4). 1 et 3, Corpuscule rénal. x 630, 2 et 4, Tubules rénaux. x 630.

CB: capsule de Bowman. **DM:** dégénérescence membranaire. **DT:** dilatation tubulaire. **EB:** espace de Bowman. **EBB:** exfoliation de bordure en brosse. **ET:** épithélium tubulaire. **G:** glomérule.

L: lumière. **N:** nécrose. **PU:** pole urinaire. **PV:** pole vasculaire.

◄ Caryomégalie. ← Tubule contourné proximal.

L'observation microscopique du rein de groupe Hg-VC montre une architecture tissulaire normale par rapport au groupe témoin, la structure des glomérules et des tubules proximaux semble également normale (Fig.IV.8.1), à l'exception de l'exfoliation de bordure en brosse de certaines cellules tubulaires (Fig.IV.8.2).

La coupe histologique réalisée sur le rein chez du groupe Hg-DN révèle des modifications tubulaire et glomérulaire traduisant par des glomérulaires altérées et un rétrécissement de l'espace de Bowman (Fig.IV.8.3). Au niveau de tubules proximaux, on enregistre dégénérescence membranaire de l'épithélium tubulaire et nécrose de cellules tubulaires (Fig.IV.8.4). Cependant, ces altérations sont moins importantes par rapport au groupe Hg.

L'étude microscopique du rein chez le groupe Hg-VC-DN ne montre aucune anomalie au niveau glomérulaire (Fig.IV.8.5) et tubulaire (Fig.IV.8.6).

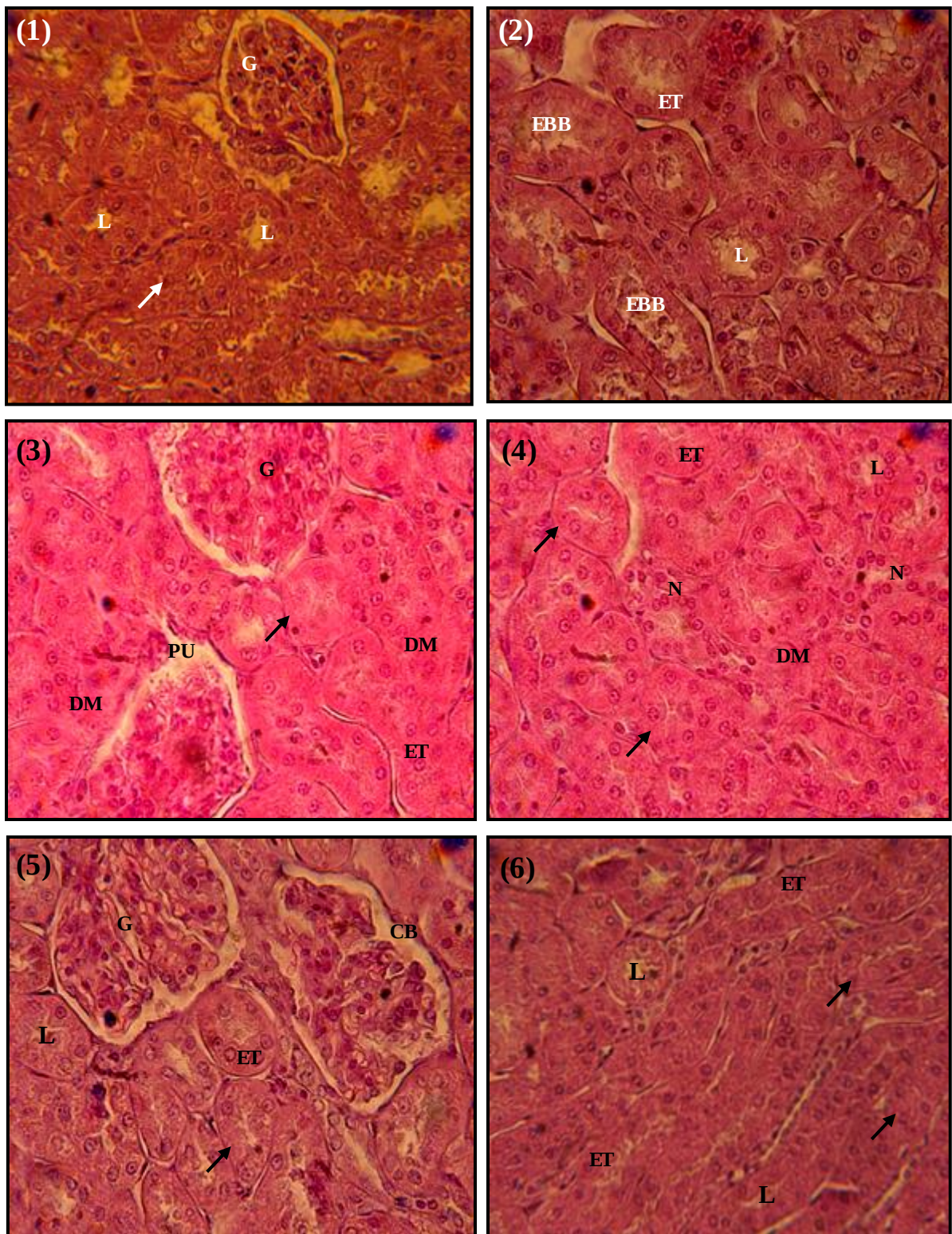


Figure IV-8- Rein de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Corpuscule rénal. x 630, 2, 4 et 6, Tubules rénaux. x 630.

CB: capsule de Bowman. **DM:** dégénérescence membranaire. **EBB:** exfoliation de bordure en brosse. **ET:** épithélium tubulaire. **G:** glomérule. **L:** lumière. **N:** nécrose. **PU:** pôle urinaire.

← Tubule contourné proximal.

IV-3-7- Coupes histologiques du testicule:

La coupe histologique réalisée sur le testicule du témoin T montre que le testicule se divise en une série de compartiments internes appelés: les lobules, qui contiennent des tubes étroitement enroulés; les tubes séminifères (Fig.IV.9.1).

Un tube séminifère est tapissé de cellules parvenues à différents stades de développement, les cellules qui se trouvent contre la membrane basale sont les spermatogonies; les cellules les plus immatures ou germinatives, près de la lumière, on peut voir des couches de cellules progressivement plus mûres; par ordre de maturité: les spermatocytes I, les spermatocytes II, les spermatides et les spermatozoïdes. Enfouies entre les spermatozoïdes en cours de développement dans le tube, se trouvent les cellules de Sertoli, et entre les tubes séminifères se trouvent des amas de cellules interstitielles du testicule; cellules de Leydig (Fig.IV.9.2).

Chez le groupe Hg, la coupe histologique réalisée sur le testicule montrent que le mercure induit une augmentation de diamètre de lumière de certains tubes séminifères accompagnés par un rétrécissement des parois de ces tubes, une absence de spermatozoïdes matures est enregistré dans la plupart des tubes séminifères, de plus, les tubes s'éloignent les uns des autres en comparaison avec le groupe T (Fig.IV.9.3).

Au niveau cellulaire, on enregistre une réduction du nombre de spermatogonies ce qui provoque une hypospermatogénèse, un blocage de la division cellulaire au stade spermatocyte I ou II se manifeste au niveau de la paroi, ce qui induit une absence de spermatozoïdes matures dans la lumière de tube séminifère, une accumulation des spermatozoïdes immatures (spermatocytes II dans la plupart de temps) dans la lumière tubulaire, apparition des espaces vides dans l'épithélium séminifères, une dégénérescence des cellules de Sertoli et de Leydig et une dilatation des vaisseaux sanguins sont également observés chez ce groupe (Fig.IV.9.4).

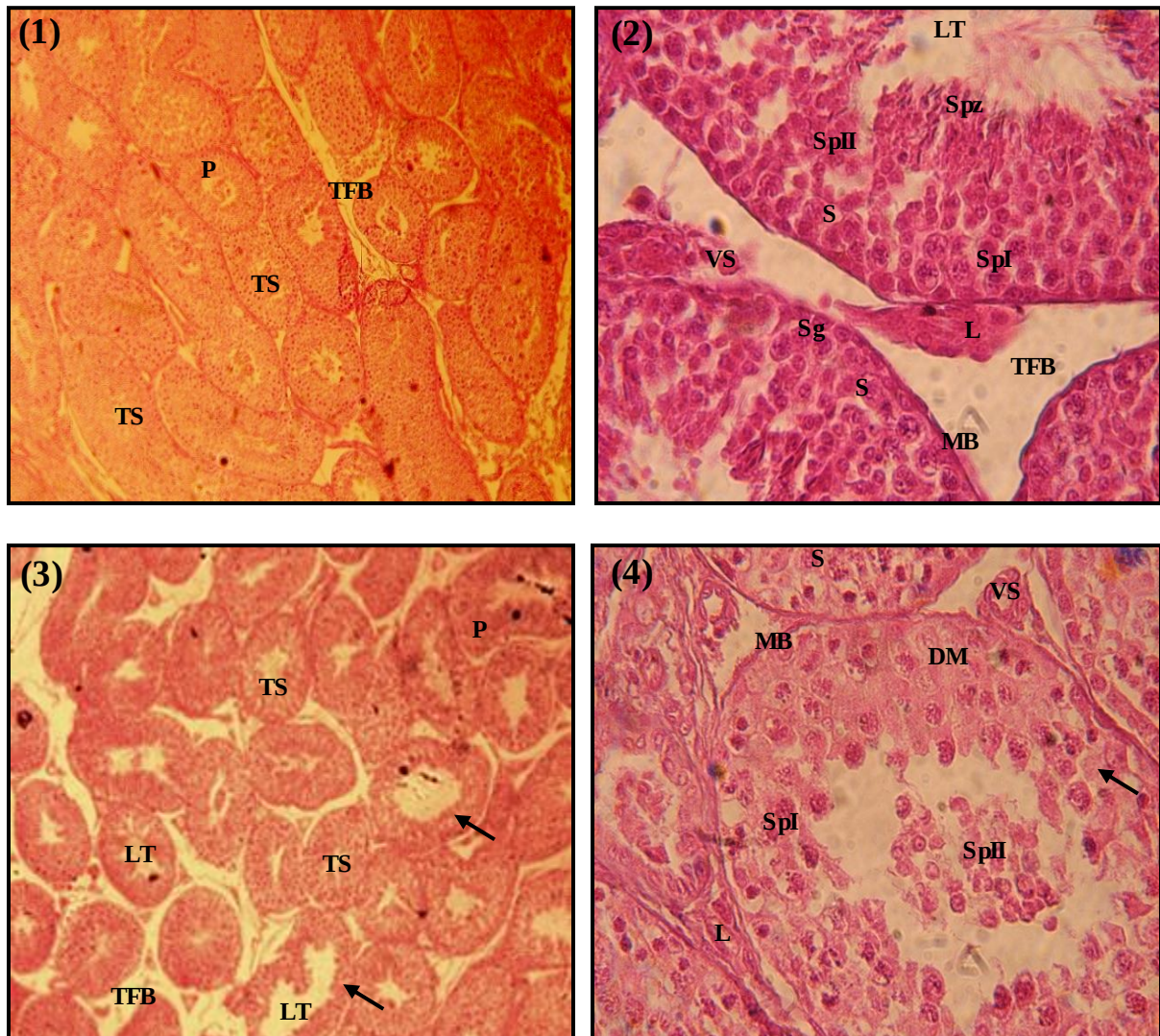


Figure IV-9- Testicule de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3 et 4). 1 et 3, Vue générale de tubes séminifères. x 100. 2 et 4, Spermatogénèse x 630. **DM:** dégénérescence membranaire. **L:** cellule de Leydig, **LT:** lumière tubulaire. **MB:** membrane basale. **P:** paroi tubulaire. **S:** cellule de Sertoli. **Sg:** spermatogonie. **SpI:** spermatocyte I. **SpII:** spermatocyte II. **Spz:** spermatozoïdes. **TS:** tube séminifère. **TFB:** tissu fibreux blanc. **VS:** vaisseau sanguin. → Rétrécissement de la paroi tubulaire.

Le groupe Hg-VC montre des tubes séminifères normaux, les spermatozoïdes matures s'accumulent dans la lumière de la plupart des tubes séminifère, un rétrécissement de la paroi tubulaire est observé dans certains tubes séminifères (Fig.IV.10.1). En revanche, la figure (Fig.IV.10.2) révèle des modifications importantes par rapport au témoin, une perturbation de la spermatogénèse au niveau de quelques tubes séminifères, cela se traduit par un blocage de processus de spermatogénèse à un stade immature, par conséquent, les spermatozoïdes matures sont absents, d'un autre côté, il semble que le nombre de cellules de Sertoli et de Leydig est diminué chez ce groupe par rapport au témoin T.

Les modifications enregistrées chez le groupe Hg-DN sont moins importantes par rapport au témoin T (Fig.IV.10.3). Au niveau cellulaire, la spermatogénèse est bloquée au stade spermatocyte II dans certains tubes séminifères et au stade spermatide dans d'autres, le nombre de spermatogonies est diminué, par contre les cellules de Leydig et de Sertoli semblent normales (Fig.IV.10.4).

La coupe histologique réalisée sur le testicule du groupe Hg-VC-DN montre des tubes séminifères normaux, les amas de cellules de leydig sont clairs, la production des spermatozoïdes a lieu dans presque tous les tubes séminifères et ceci s'explique par la présence des amas de spermatozoïdes matures dans les lumières des tubes séminifères (Fig.IV.10.5). Au niveau de la paroi, il semble que le processus de la spermatogénèse se déroule de façon normale, en commençant par les premières divisions des spermatogonies jusqu'à la formation des spermatozoïdes matures dans la lumière des tubes, entre les spermatozoïdes au cours de développement, se trouvent les cellules de Sertoli qui semblent normales et saines (Fig.IV.10.6).

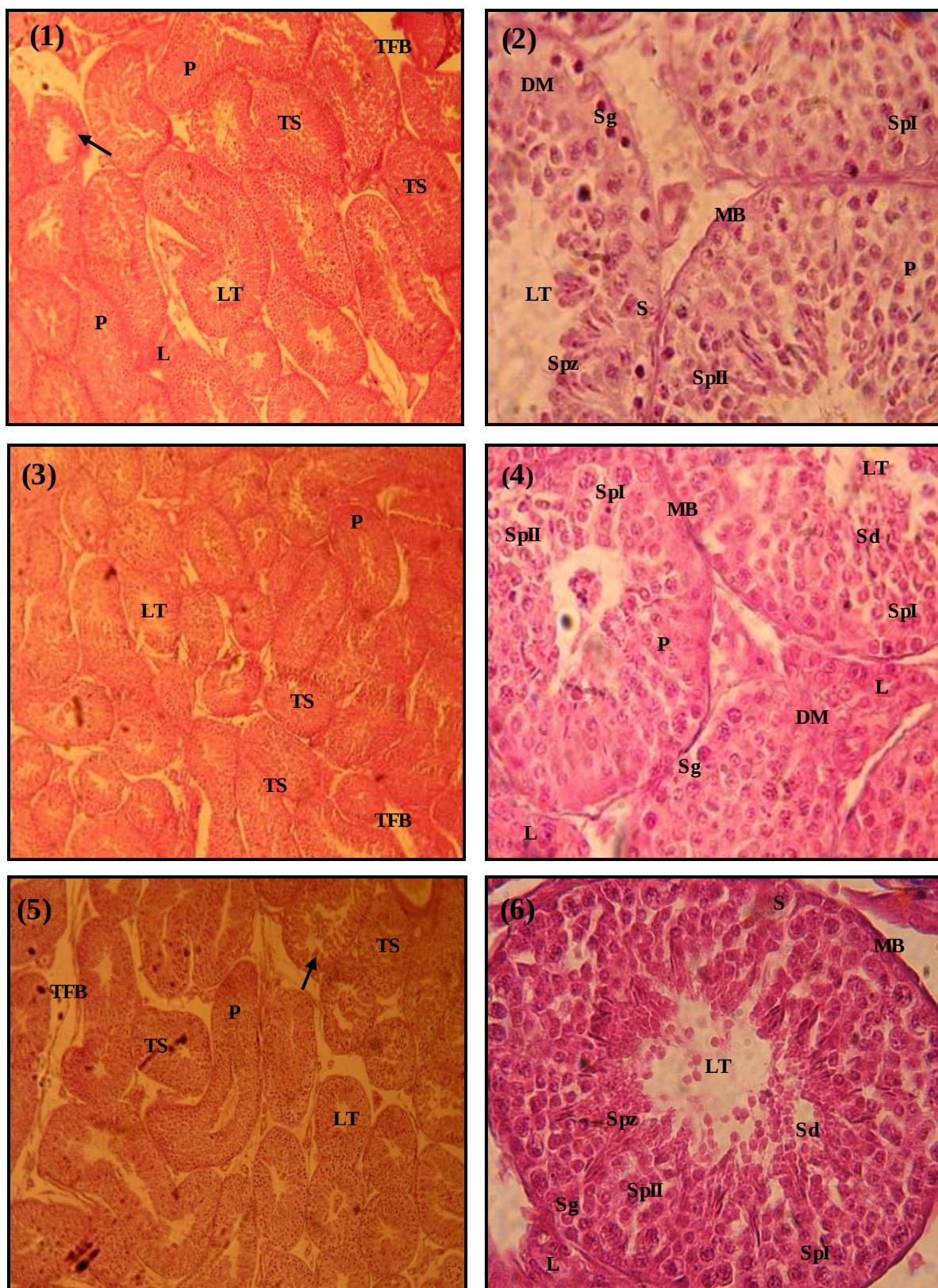


Figure IV-10- Testicule de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Vue générale de tubes séminifères. x 100. 2, 4 et 6, Spermatogénèse x 630.

DM: dégénérescence membranaire. **L:** cellule de Leydig, **LT:** lumière tubulaire. **MB:** membrane basale. **P:** paroi tubulaire. **S:** cellule de Sertoli. **Sg:** spermatogonie. **SpI:** spermatocyte I. **SpII:** spermatocyte II. **Sd:** spermatide. **Spz:** spermatozoïdes. **TS:** tube séminifère. **TFB:** tissu fibreux blanc. **→** Rétrécissement de la paroi tubulaire.

IV-3-8- Coupes histologiques de l'intestin:

La coupe histologique réalisée sur l'intestin grêle du témoin montre que la paroi intestinale est formée d'une tunique appelée la muqueuse qui contient des structures digitiformes appelées les villosités. Ces dernières sont constituées de deux types de cellules; les cellules épithéliales à plateau strié; les entérocytes et les cellules caliciformes sécrétrices et les glandes intestinales de Lieberkühn. La sous-muqueuse contient des glandes appelées glandes de Brunner qui sécrètent de mucus alcalin destiné à protéger les parois de l'intestin grêle. La musculature, la tunique la plus externe, constituée de deux couches des muscles lisses; longitudinale et circulaire (Fig.IV.11.1 et 2).

Toutefois, la paroi de l'intestin grêle chez le lapin traité par le mercure montre que le mercure a des effets néfastes sur les tissus intestinaux, ces effets se manifestent sous forme de desquamation de la flore intestinale ou de la muqueuse et des modifications structurales dans la muqueuse et la sous muqueuse, une diminution du nombre des glandes de Brunner est également observée (Fig.IV.11.3). A fort grossissement, les entérocytes se disparaissent à cause de la dégénérescence des membranes cellulaires, de nécrose constituée par des amas de cellules mortes, les cellules caliciformes sont plus nombreuses ce qui augmente les sécrétions muqueuses. De plus, certaines régions de l'intestin perdent leur plateau strié (Fig.IV.11.4 et 5).

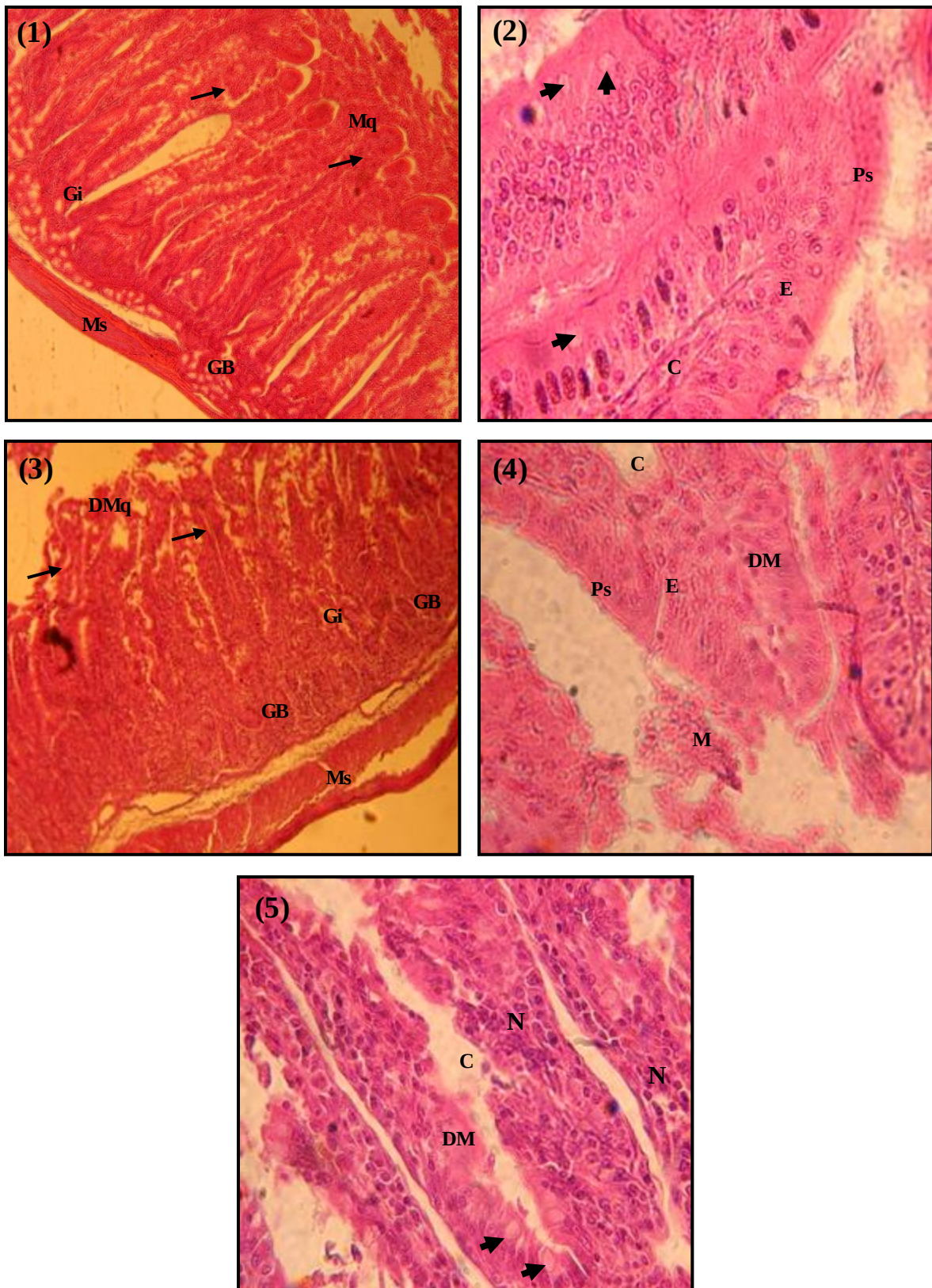


Figure IV-11- Intestin de lapin témoin T (1 et 2) et traité par Hg (3, 4 et 5). 1 et 3, Vue générale. x 100. 2, 4 et 5, Villosités intestinales x 630.

C: chorion, **DM:** dégénérescence membranaire. **DMq:** desquamation de la muqueuse. **E:** Entérocytes, **GB:** glandes de Brunner. **Gi:** glandes intestinales. **M:** mucus. **Mq:** muqueuse. **Ms:** musculature. **Ps:** plateau strié. **N:** nécrose. → Villosité. ➤ Cellule caliciforme.

L'observation microscopique de l'intestin grêle de groupe Hg-VC révèle des modifications de la muqueuse dans quelques endroits, une desquamation de la muqueuse et déformation des villosités, les glandes intestinales et de Brunner ne présentent aucune modification (Fig. IV.12.1). A fort grossissement, dans d'autres endroits, les villosités sont normales, elles sont constituées des entérocytes avec plateau strié et des cellules caliciformes sécrétrices (Fig. IV.12.2).

La coupe histologique réalisée sur l'intestin grêle du groupe Hg-DN manifeste des altérations bien visibles, traduisant par une desquamation de la muqueuse dans quelques endroits, les glandes intestinales de Luberkuhn et de Brunner ne présentent aucune anomalie (Fig. IV.12.3).

Au niveau cellulaire, les entérocytes et les cellules caliciformes semblent également normales (Fig. IV.12.4).

Contrairement aux groupes Hg-VC et Hg-DN, le groupe Hg-VC-DN montre une flore intestinale et des villosités normales avec un grand nombre de glandes de Brunner et de Luberkühn, les cellules de l'épithélium de la muqueuse sont également saines et ne manifestent aucune modifications par rapport au témoin (Fig. IV.12.5 et 6).

Les autres tuniques de la paroi intestinale semblent également saines.

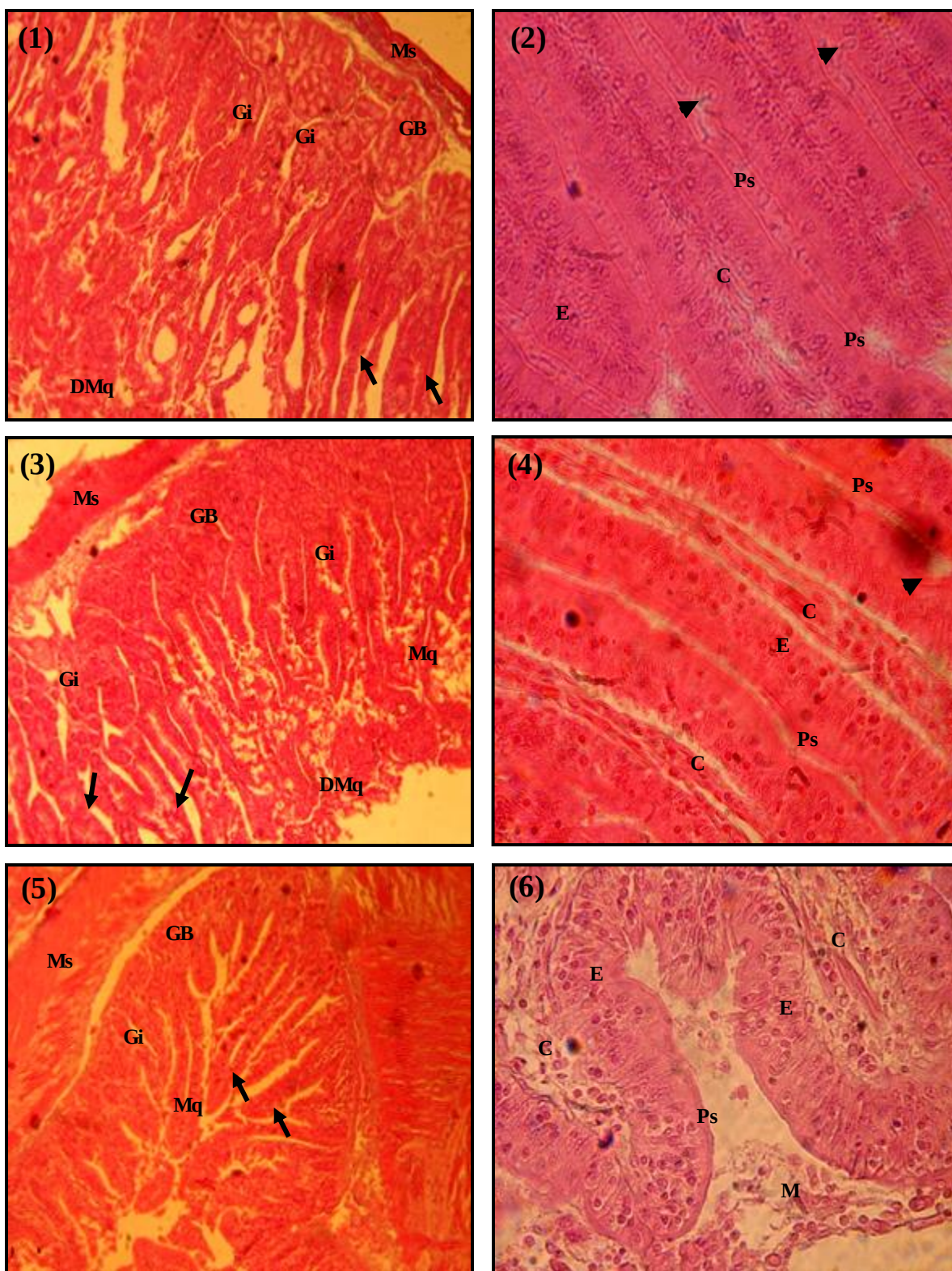


Figure IV-12- Intestin de lapin traité par Hg-VC (1 et 2), traité par Hg-DN (3 et 4) et traité par Hg-VC-DN (5 et 6). 1, 3 et 5, Vue générale. x 100. 2, 4 et 6, Villosités intestinales x 630.

C: chorion. **DMq:** desquamation de la muqueuse. **E:** Entérocytes, **GB:** glandes de Brunner. **Gi:** glandes intestinales. **M:** mucus. **Mq:** muqueuse. **Ms:** musculature. **Ps:** plateau strié.

→ Villosité. ➤ Cellule caliciforme.

IV-4- Discussion:

Chez les lapins mâles, le traitement par mercure pendant six semaines provoque des modifications pondérales et tissulaires, une diminution non significative du poids relatif de foie est enregistrée chez le groupe Hg, ce résultat est en accord avec celui de Franciscato *et al.*, (2011) qui ont montré que l'injection sous-cutané des chiots par l'HgCl₂ pendant 5 jours, entraîne une diminution de poids du foie et une augmentation de poids du rein, Cependant, les travaux de Huang et Lin, (1997); Intitoris *et al.*, (2001) ont montré qu'après une exposition à l'HgCl₂, la concentration du mercure dans le foie, le rein et la rate est significativement élevée, De plus, l'étude de Woggon *et al.*, (1984) a prouvé que le méthylmercure induit une augmentation du poids relatif du foie et du rein, cette augmentation est due à l'accumulation du mercure dans les tissus (Triunfante *et al.*, 2009; Agarwal *et al.*, 2010). Cependant, l'étude de Jonker *et al.*, (1993) a montré que le poids du foie a augmenté de façon significative chez les souris traité par l'HgCl₂ pendant sept semaines. Toutefois, aucun changement histopathologique n'a été observée (Dieter *et al.* 1983). En revanche, une étude récentes a prouvé que la toxicité subaiguë par l'HgCl₂ provoque une diminution du poids corporel avec une accumulation importante de mercure dans le foie et les reins (Kang *et al.*, 2010).

Et à cause de cette accumulation, les résultats obtenus concernant le poids relatif du rein montrent une augmentation significative chez le groupe Hg traité par le mercure en comparaison avec le groupe témoin. Selon les résultats obtenus par spectrophotomètre d'absorption atomique, les reins reçoivent la plus grande quantité de mercure inorganique. Cela peut être dû à l'affinité des ions mercuriques pour les groupements thiol (-SH), ce qui provoque leur accumulation dans les reins (Carmignani *et al.*, 1992). La pénétration de mercure inorganique à travers la membrane glomérulaire se produit par des mécanismes de diffusion active et passive (Endo *et al.*, 1995).

Au niveau cellulaire, le mercure favorise l'oxydation de cellules rénales et perturbe la fonction mitochondriale, la production accrue de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par les mitochondries rénales provoque à son tour des lésions rénales et conduit à une anurie (Miller et Lund, 1991).

D'autre part, l'accumulation du mercure dans le foie et le rein induit la synthèse de la métallothionine qui est une protéine cytoplasmique riche en soufre et peut fixer fortement le mercure, elle joue donc un rôle dans la détoxification en empêchant le mercure de se lier au composants cellulaires (Huang et Lin, 1997). En effet, lorsque les sites de fixation de métallothionine atteignent le niveau de saturation, la toxicité par l'Hg devient intense (Nordberg, 1976), elle entraîne la nécrose cellulaire de rein (Piscatoor, 1963), le dysfonctionnement glomérulaire (Foa *et al.*, 1976; Buchet *et al.*, 1980) et des dommages aux tubules proximaux (Kluwe, 1982).

Dieter *et al.*, (1992); NTP, (1993) ont trouvé que la toxicité rénale par l' $HgCl_2$ entraîne une augmentation significative des poids absolu et relatif des reins chez les rats et les souris, suivie par apparition des nécroses tubulaires, l'intensité des effets nocifs dépend de la dose administrée.

En ce qui concerne le poids relatif du testicule, les résultats obtenus montre une diminution non significative chez le groupe Hg en comparaison avec le groupe témoin, cette diminution confirme l'effet dégénératif de chlorure de mercure sur les tissus et qui peut éventuellement conduire à l'atrophie et la mort des cellules testiculaires (Ramalingam et Vimaladevi, 2002), ceci est en accord avec les résultats de Roy Chowdhurg *et al.*, (1985); Institoris *et al.*, (2001); Orisakwe *et al.*, (2001) qui ont montré que l'administration de l'Hg induit une réduction significative du poids relatif du testicule. Homma-Takeda *et al.*, (2001) ont également prouvé que l'administration subcutanée de chlorure de méthylemercure pendant 14 jours a entraîné une perte de 28% du poids relatif du testicule,

cette réduction peut être due à la dégénérescence testiculaire et atrophie de cellules de leydig (Roy Chowdhurg et Arora, 1982; Mehra et Kanwar, 1980). La toxicité du mercure peut également affecter le processus de spermatogénèse, elle provoque une dégénérescence cellulaire de lignée germinatives et de cellules de Sertoli, et bloquer quelques étapes de la spermatogénèse notamment les phases de maturation ou spermiogénèse, ce qui explique la diminution du poids relatif du testicule.

En revanche, l'étude de Boujbiha *et al.*, (2009) a montré que l'exposition chronique des rats mâles Wistar à l'HgCl₂, a entraîné une augmentation des poids absolu et relatif de testicule, cette augmentation peut être due à l'accumulation du mercure dans les tissus où il peut agir avec les groupements thiols des protéines testiculaires (Webb, 1996), une diminution de poids absolu et relatif des glandes sexuelles accessoires a été également enregistré, par rapport au témoin. En outre, le mercure peut également être déposé dans d'autres organes de l'appareil reproducteur comme l'épididyme et le prostate (Martinez *et al.*, 2016).

Le poids relatif de la rate est diminué légèrement chez le groupe Hg comparant au groupe témoin, ceci est en accord avec les travaux de Hee-Young *et al.*, (2010) qui ont prouvé que les souris traités par l'HgS par gavage pendant 4 semaines n'a pas révélé des signes de toxicité, l'HgS n'a eu aucun effet significatif sur le poids corporel et le poids des organes. Bien que son insolubilité connue, l'HgS a été absorbé par le tractus gastro-intestinal et accumulée dans le foie, la rate et le thymus d'une manière dose-dépendante, et donc pourrait affecter le système immunitaire. En revanche, l'étude de Jadhav *et al.*, (2007) a montré que l'exposition subchronique à un mélange de métaux contenant du mercure entraine une augmentation du poids relatif de la rate. Du point de vue histologique, la rate a révélé une déplétion des cellules lymphoïdes, une atrophie des follicules et une réduction de l'activité folliculaire avec les doses les plus élevées. Dans ce contexte, les travaux de Kim *et al.*, (2003) ont trouvé que le poids corporel des souris exposés a été réduit à une

forte dose de mercure, tandis que le poids relatif de rein et de la rate a été significativement augmenté.

Les résultats concernant le poids relatif des organes expliquent l'effet cumulatif du mercure sur les cellules et les tissus de certains organes, d'une part, et l'effet dégénératif de celui-ci sur d'autres organes, d'autre part.

Les groupes traités à la combinaison Hg-VC montrent une amélioration modérée de poids relatif du foie et une diminution notable du poids relatif du rein par rapport au groupe Hg, cette diminution s'explique par le rôle de la vitamine C dans l'élimination du mercure retenu dans les reins, ce qui diminue le poids relatif du rein, dans ce contexte, une étude récente a montré que le mercure induit une augmentation du poids de rein et une diminution de la concentration rénale en vitamine C, ce qui prouve que cette dernière réagit contre l'effet toxique du mercure (Mesquita *et al.*, 2016). D'autre part, l'amélioration du poids relative du foie peut être due à la chélation du mercure par le GSH hépatique en formant des complexes Hg-GSH éliminés dans la bile, l'activité enzymatique de GSH est intensifiée grâce à l'acide ascorbique qui effectue une fonction antioxydante importante en régénérant la forme réduit du GSH. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Blackstone *et al.*, (1974) qui ont révélé que une supplémentation en vitamine C peut préserver le poids du foie et du rein, ainsi, les groupements thiols ont un rôle direct dans la conservation et la rétention d'acide ascorbique dans les tissus (Grimble et Hughes, 1967).

Le poids relatif de testicule chez le groupe Hg-VC est augmenté par rapport au groupe traité Hg, cette augmentation peut être expliquée par l'effet positif des concentrations supplémentaires en vitamine C sur l'appareil reproducteur. D'après Jacob *et al.*, (1992) la vitamine C est retrouvée à des niveaux élevés dans le liquide épидидymaire et dans le plasma séminal (en concentration huit à dix fois plus élevée que dans le plasma sanguin). Cette concentration élevée a un rôle protecteur contre les ROS et maintient l'intégrité

génétique des spermatozoïdes en prévenant les altérations oxydatives de leur ADN (Fraga *et al.*, 1991). Les testicules sont extrêmement sensibles à une diminution du niveau d'acide ascorbique dans le corps (Chinoy *et al.*, 1986).

Concernant les groupes traités à la combinaison Hg-DN et Hg-VC-DN, l'amélioration de poids relatif de tous les organes est claire et nette par rapport au groupe traité par vitamine C seul, cette amélioration était prévu parce que la diversité des composants antioxydants présents dans la datte lui permet de réunir plusieurs propriétés antioxydantes.

Le sélénium (Se) est un composant essentiel de glutathion peroxydase (GPx); qui est principalement une enzyme antioxydante. Il fournit une protection intégrale contre les effets délétères des métabolites toxiques et des radicaux libres. D'autre part, le zinc peut prévenir les reins contre la toxicité mercurielle (Peixoto *et al.*, 2003; Mesquita *et al.*, 2016). en fait, l'effet préventif du zinc semble être associé à sa capacité de provoquer la synthèse de métallothioneines (Peixoto *et al.*, 2003; Peixoto *et al.*, 2007). Qui sont des protéines de détoxification riche en cystéines capable de séquestrer les métaux toxiques et les radicaux hydroxylés (OH*) qui se produisent sous l'effet de ces métaux (Romero-Isart et Vasak, 2002). En outre, le zinc entre en compétition avec les métaux pour se lier à la membrane cellulaire en diminuant ainsi la production des radicaux (OH*) (Kitchin, 2001). Plusieurs études confirment que l'administration de Zn entraîne une augmentation de taux de GSH dans le foie (Bhasin *et al.*, 2012; Lange *et al.*, 2002). On peut déduire que le Zn peut jouer un rôle extrêmement important dans l'élimination du mercure, et par conséquent, protège l'organisme contre l'effet toxique de ce métal. Toutefois, le mécanisme impliqué dans ce processus n'est pas encore totalement élucidé et nécessite des études complémentaires pour mieux comprendre les interactions entre le Zn et l'Hg.

Concernant l'étude histologique, l'observation microscopique du foie des lapins traités au mercure révèle des altérations accentuées comparant aux autres groupes. Au niveau

cellulaire, le mercure provoque une dégénérescence des membranes cellulaires en catalysant l'oxydation des phospholipides membranaires (Segall et Wood, 1974), ce qui entraîne une production accrue des radicaux libres en provoquant la nécrose des hépatocytes, le mercure entraîne également une dilatation des capillaires sinusoides et l'augmentation et le rapprochement des canaux biliaires, Il peut traverser les membranes cellulaires et se lie aux protéines soufrées en inhibant leur action, ce qui provoque un grave dysfonctionnement du métabolisme cellulaire (Hoffman *et al.*, 2005).

Au niveau du noyau, le mercure a un effet génotoxique, il perturbe la synthèse de l'ADN en inhibant les mécanismes de réparation de l'ADN dans la cellule et agit sur les facteurs de transcription, ce qui explique l'apparition des noyaux pycnotique et la caryolyse dans d'autres cellules. Une étude de Wadaan, (2009) a prouvé que le foie est un site majeur du métabolisme du mercure et il peut s'accumuler dans le foie, entraînant des dommages hépatiques sévères. Plusieurs études menées sur l'action histopathologique du mercure sur le foie, ont révélé que le mercure induit la nécrose des hépatocytes et dégénérescence graisseuse périportale (El-Shenawy et Hassan, 2008; De Oliveira Ribeiro *et al.*, 2002), inflammation interstitielle et une hyperplasie des canaux biliaires (Adams *et al.*, 2010). Engorgement des capillaires sinusoides du sang, vacuolisation, la dégénérescence granulaire des hépatocytes, œdème, nécrose focale et la prolifération des fibroblastes (Akhilender *et al.*, 1983) congestion des vaisseaux sanguins et des capillaires sinusoides, et une nécrose des hépatocytes (Ahmed *et al.*, 1991). Des lésions aux espaces de Disse, des zones nécrotiques et une infiltration leucocytaire (Melaa *et al.*, 2007). Une augmentation de la vacuolisation cytoplasmique, et une diminution du nombre des noyaux des hépatocytes par mm² ont été également enregistré chez les poisson (Hussein *et al.*, 2012). D'après Safahieh *et al.*, (1991); Chatterjee *et al.*, (2012). Une faible concentration de mercure induit l'autophagocytose dans les hépatocytes de rat.

Les observations microscopiques du rein de lapin traité montrent des altérations tubulaires et glomérulaires, ces altérations se traduisent par une diminution de l'espace de Bowman, des lésions dans les parois de capillaires sanguins et des cellules glomérulaires, une dégénérescence membranaire des cellules tubulaires, une exfoliation de bordure en brosse et une nécrose tubulaire, une caryomégalie est également observé dans certaines cellules tubulaires. Ces altérations sont dues à l'effet néphrotoxique de mercure qui favorise l'oxydation des cellules rénales et perturbe la fonction mitochondriale rénale, une augmentation de la production de H_2O_2 par les mitochondries rénales est un effet indirect de mercure inorganique sur les cellules rénales (Miller et Lund, 1991). Une étude antérieure a montré que les lésions glomérulaires nécrotiques peuvent être dues à l'accumulation du mercure dans les tissus rénaux (Sin et Teh, 1983). Ainsi, Le stress oxydatif provoqué par le mercure dans les mitochondries a un rôle dans le développement des lésions tubulaires rénales et entraîne une altération des membranes cellulaires (Lauwerys *et al.*, 2007). Le glutathion et la métalloprotéine semblent jouer un rôle dans l'accumulation du mercure et dans l'inhibition de son action toxique, à faibles doses, le mercure stimule la synthèse rénale de glutathion, mais à fortes doses, le glutathion est inhibé. Il semble que les tissus appauvris en glutathion soient plus sensibles à l'action du mercure (Lauwerys *et al.*, 2007). D'autre part, la dégénérescence membranaire s'explique par fait que, les ions mercuriques s'accumulent préférentiellement dans les cellules épithéliales des tubules rénaux et se lient avec les groupements thiols intracellulaires et membranaires (Bridges *et al.*, 2011; Zalups et Bridges, 2010). Ces résultats sont en accord avec les observations de (Kyle *et al.*, 1983) qui ont montré des dommages morphologiques dans l'épithélium des tubules contournés proximaux des reins chez les rats traités par l' $HgCl_2$. De plus, la nécrose tubulaire rénale aiguë a été produite dans la partie droite des tubules proximaux lorsque des doses de chlorure de mercure ont été administrées à des rats

par voie intraveineuse (Muraoka et Itoh, 1980). D'après Paffenberger, (1971). Dans les reins les groupements -SH se lient au mercure en provoquant l'accumulation dans les reins puis l'excrétion rénale, et comme les dommages aux reins s'accroissent au fil du temps, l'élimination du mercure devient moins efficace (Chang *et al.*, 1999; Lorscheider *et al.*, 1995; Campbell et Godfrey, 1994). Le mercure stimule également l'immunité humorale et la production d'anticorps anti-ADN (Cardenas *et al.*, 1993; Schrallhammer-Benkler *et al.*, 1992). Ces perturbations du système immunitaire peuvent être expliquées le rôle du mercure dans les atteintes rénales glomérulaires (maladie auto-immune) observées chez le rat Brown-Norway (Hinglais *et al.*, 1979 ; Hua *et al.*, 1993). Plusieurs études menées sur l'action du mercure sur les reins, d'après Hirano *et al.*, (1986); Kirubakaran et Joy, (1988); Adams *et al.*, (2010); Massanyi *et al.*, (2007); Dieter *et al.*, (1983); Guzzi *et al.*, (2008); NTP, (1993); Yasutake *et al.*, (1991); Magos *et al.*, (1985), la toxicité mercurielle a entraîné une glomérulonéphrite qui se traduit par des lésions tubulaires, vacuolisation et exfoliation de la bordure en brosse des cellules tubulaires, une dégénérescence cellulaire des tubules proximaux avec caryomégalie et cytoplasme vacuolisé, le diamètre des glomérules et des corpuscules rénaux est diminué, et une disparition des amas glomérulaires, les tubules et les cellules tubulaires sont endommagés, une dilatation des tubules avec la présence des cellules aplaties éosinophiles ou des cellules à cytoplasme abondant ou cytomégalique, inflammation interstitielle et nécrose tubulaire et épaississement de la membrane basale tubulaire. D'autres études ont révélé que le mercure provoque une hémorragie et congestion glomérulaire (Ahmed *et al.*, 1991; Oehme, 1972; Zhulenko et Tavirko, 1985), une activité mitotique dans les cellules tubulaires (Wester et Canton, 1992), et une caryolyse avec désintégration et désorganisation des cellules (Khan *et al.*, 2004). En revanche, les recherches de Langworth *et al.*, (1992) n'ont pas prouvé, à

faible doses, les dommages glomérulaires et les perturbations de la réabsorption tubulaire, ainsi, il y a eu aucun signe de l'intoxication mercurielle du système immunitaire.

Les groupes traités à la combinaison Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN montrent des coupes histologiques du foie et du rein normales à l'exception de quelques modifications moins importantes ce qui indique que la vitamine C et les composants antioxydants de la datte Deglet Nour préviennent l'architecture tissulaire du foie et du rein contre le stress oxydatif provoqué par le mercure. D'après Bolkent *et al.* (2006), le Zn réduit les lésions provoquées par les radicaux libres, ainsi, le sélénium fournit une protection contre les dommages des radicaux libres dans les cellules et les tissus. Un rapport d'étude a montré que la sélénoprotéine est largement synthétisée par le foie, et il est synergique avec le glutathion et la catalase en ce qu'il aide à protéger l'intégrité des membranes cellulaires.

En effet, une augmentation de la teneur en métallothionéine hépatique et rénale a été observée chez des rats exposés au zinc (Peixoto *et al.*, 2007), puisque le foie est le principal organe impliqué dans la synthèse de cette métalloprotéine (Peixoto *et al.*, 2003; Tandon *et al.*, 2001). Ainsi, le mercure lié à la métallothionéine synthétisée dans le foie peut être transporté vers le rein où il continue à être déposé. Bien que les rats exposés au zinc ont présenté des niveaux plus élevés du mercure dans les reins en raison de sa liaison à la métallothionéine, ce qui explique l'effet protecteur du zinc. Une autre étude a montré que l'exposition au chlorure de zinc induit une augmentation de la teneur en zinc dans le foie (environ 400%) et le rein (environ 130%) (Peixoto *et al.* 2008). Ce qui indique que le zinc est redistribué par les tissus, puisqu'il s'agit d'un métal essentiel (Fang *et al.*, 2002).

En ce qui concerne la structure du testicule, chez le groupe Hg traité par mercure on observe clairement des altérations tissulaire et cellulaire traduisant par une augmentation des diamètres des lumières tubulaires à cause du rétrécissement des parois, les tubes s'éloignent les uns des autres dus à l'atrophie et la dégénérescence des tubes séminifères

(Prem *et al.*, 1992; Altunkaynak *et al.*, 2015). Au niveau cellulaire, le mercure entraîne une réduction du nombre de spermatogonies, un blocage de division cellulaire notamment au stade spermatocyte I et II, ce qui induit une accumulation de spermatocytes II dans la lumière de certains tubes séminifères ou une absence de spermatozoïdes matures dans d'autres tubes, et une dégénérescence de cellules de Sertoli et de Leydig, ces altérations peuvent être dues aux effets toxiques du mercure principalement par la génération des ROS provoquant des dommages aux différents composants membranaires et cellulaires (Boujbiha *et al.*, 2009). Ces observations sont en accord avec celles de Penna *et al.*, (2009) qui ont montré que le mercure peut induire des modifications morphologiques et ultrastructurales dans les organes reproducteurs mâles, des lésions dégénératives, un manque de cohérence entre des cellules germinatives, un blocage au stade spermatocyte et hypospermatogénèse ont été observés au niveau de l'épithélium séminifère, des vacuoles cytoplasmiques et nucléaires se sont manifesté dans les cellules de Leydig; signes de mort cellulaire, une diminution de l'association des cellules péritubulaires été mise en évidence dans l'épididyme. D'autres études ont montré que l'intoxication mercurielle altère l'architecture testiculaire traduisant par des lésions dégénératives sévères caractérisées par une désorganisation, dégénérescence et diminution du nombre de cellules germinatives ce qui entraîne une apparition des espaces vides dans l'épithélium germinatif. En outre, le mercure inhibe la spermatogénèse ce qui diminue le nombre de spermatogonies, spermatocytes et spermatides. Des cellules de Sertoli hypertrophiées, vaisseaux sanguins dilatés, nécrose des spermatozoïdes et cellules à cytoplasme éosinophile ont été également observé (Orisakwe *et al.*, 2001; Boujbiha *et al.*, 2009; Massanyi *et al.*, 2007; Martinez *et al.*, 2016; Altunkaynak *et al.*, 2015; Liao *et al.*, 2006; Wester et Canton, 1992), Au niveau des noyaux, les cellules de l'épithélium séminifère présentent des noyaux pycnotiques et

des cassures de l'ADN en accélérant le processus d'apoptose (Park et Park, 2007; Agarwal *et al.*, 2003).

Chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN les altérations sont moins importantes par rapport au groupe Hg. Plusieurs études ont montré que le traitement par la vitamine C a un effet positif sur la croissance des gonades. chez l'animal une diminution des performances reproductives associées à de faibles niveaux d'acide ascorbique (Chinoy *et al.*, 1986). La carence induit la dégénérescence de l'épithélium testiculaire germinal. Cela indique que l'acide ascorbique a un effet à la fois sur l'intégrité de la structure tubulaire et sur la fonctionnalité des spermatozoïdes. Autre étude a révélé que les animaux traités par zinc présentent une morphologie normale de tubes séminifères par rapport aux animaux traités par l'Hg, ce qui indique que le zinc fournit une protection complète ou partielle des tubes séminifères (Orisakwe *et al.*, 2001).

La coupe histologique réalisée au niveau des intestins grêles, montre que le mercure a des effets néfastes sur le tissu intestinal, ces effets se manifestent sous forme de desquamation de la muqueuse, une diminution du nombre des glandes de Brunner, disparition des entérocytes à cause de la dégénérescence des membranes, nécrose et une augmentation du nombre des cellules caliciformes. Ces altérations peuvent être expliquées par le fait que le mercure se lie aux groupements thiols des protéines membranaires en induisant une dégénérescence cellulaire au niveau de villosités (Landner et Lindestrom, 1999). lorsque le mercure introduit dans la cellule, il s'accumule dans les lysosomes, les mitochondries et les membranes de cellules épithéliales (Robert *et al.*, 1999) ce qui induit un impact sur l'intégrité membranaire, d'après (De Oliveira Ribeiro *et al.*, (2002) le mercure inorganique a été distribué uniformément dans l'épithélium intestinal, alors que le mercure organique a été trouvé dans des endroits spécifiques sur la surface épithéliale. Le mercure provoque également une destruction des cellules épithéliales de l'estomac et de l'intestin en

entraînant des lésions sévères, la capacité du mercure à se lier au groupements –SH des membranes cellulaires modifie la perméabilité de la muqueuse gastrique (Boadi *et al.*, 1992; Stejskal et Stejskal, 1999; Huggins et Levy, 1997) et perturbe les populations bactériennes dans les intestins, ce qui entraîne le passage des complexes toxiques, incomplètement digérés de l'intestin dans la circulation sanguine (Huggins et Levy, 1997). Dans le même sens, l'étude de Naidu *et al.*, (1983) a révélé que le mercure provoque la rupture des extrémités des villosités, une augmentation des cellules caliciformes et nécrose focale des entérocytes.

Alors que l'étude histologique chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN montre des atteintes tissulaires moins importantes traduisant par une amélioration dans l'aspect cellulaires et tissulaires. La vitamine C et la datte Deglet Nour contribuent donc à la prévention de l'intégrité cellulaire contre la toxicité mercurielle. Une étude de Morand et Milenkovic, (2014) a montré que les polyphénols présents en quantité importante dans le tractus gastro-intestinal et peuvent agir en tant que piègeurs de radicaux libres.

Certains groupes traités par Hg combiné avec la vitamine C ou/et la datte Deglet Nour révèlent une amélioration modérée ou notable par rapport au groupe traité par Hg seul, ce qui indique que la vitamine C qui est un antioxydant puissant et la datte Deglet Nour qui est un aliment caractérisé par sa richesse en composants antioxydants à titre d'exemple les polyphénols, l'acide ascorbique, le zinc, le sélénium ... contribuent à la protection des organes contre les effets cumulatif ou dégénératif du mercure.

IV-5- Références bibliographiques:

- Adams DH, Sonne C, Basu N, Dietz R, Nam DH, Leifsson PS, Jensen AL.** (2010). Mercury contamination in spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*: An assessment of liver, kidney, blood, and nervous system health. *Science Of The Total Environment*. 408(23): 5808-16.
- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA.** (2003). Role of reactive oxygen specie in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 79: 829-43.
- Agarwal R, Goel SK, Chandra R, Behari JR.** (2010). Role of vitamin E in preventing acute mercury toxicity in rat. *Environ Toxicol Pharmacol*. 29 (1): 70-8.
- Ahmed KE, Adam SEI, Idris OF, Wahbi AA.** (1991). Sensibilité des, chèvres nubiennes à l'intoxication par le mercure au Soudan. *Revue Elev Méd vét Pays trop*. 44 (2): 123-9.
- Akhilender Naidu K, Ramamurthi R.** (1983). Histological alterations in liver and intestine of teleost *Sarotherodon mossambicus* in response to mercury toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 7 (6): 566-75.
- Aleo MF, Morandini F, Bettoni F, Tanganelli S, Vezzola A, Giuliani R, Steinberg N, Boniotti J, Bertasi B, Losio N, Apostoli P, Mazzoleni G.** (2002). In vitro study of the nephrotoxic mechanism of mercuric chloride. *La Medicina del lavoro*. 93 (3): 267-78.
- Altunkaynak ME, Akgül N, Yahyazadeh A, Altunkaynak BZ, Türkmen AP, Akgül HM, Aksak S, Ünal B.** (2015). A stereological and histopathological study of the effects of exposure of male rat testes to mercury vapor. *Biotech Histochem*. 90(7): 529-34.
- Aschner M, Aschner JL.** (1990). Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neuroscience and biohavioral reviews*. 14 (2): 169-76.
- Bhasin P, Singla N, Dhawan DK.** (2012). Protective role of zinc during aluminuminduced hepatotoxicity. *Environ Toxicol*.
- Blackstone S, Hurley RJ, Hughes RE.** (1974). Some inter-relationships between vitamin C (L-ascorbic acid) and mercury in the Guinea-pig. *Fd Cosmet Toxicol*. 12: 511-6.
- Boadi WY et al.,** (1992). In vitro effect of mercury on enzyme activities and its accumulation in the first-trimester human placenta. *Environ Res*. 57(1): 96-106.
- Bolkent S, Arda-Pirincci P, Bolkent S, Yanardag R, Tunali S, Yildirim S.** (2006) Influence of zinc sulfate intake on acute ethanol-induced liver injury in rats. *World Journal of Gastroenterol*. 12: 4345-51.
- Boujbiha MA, Hamden K, Guermazi F, Bouslama A, Omezzine A, Kammoun A, El Feki A.** (2009). Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: association with oxidative stress. *Reprod Toxicol*. 28 (1): 81-9.

Bridges CC, Joshee L, Zalups RK. (2011). MRP2 and the handling of mercuric ions in rats exposed acutely to inorganic and organic species of mercury. *Toxicol Appl Pharmacol.* 251(1):50-8.

Buchet JP, Roels H, Bernard A, Lauwerys R. (1980). Assessment of renal function of workers exposed to inorganic lead, cadmium or mercury vapor. *J Occup Med.* 22: 741-50.

Campbell N, Godfrey M. (1994). Confirmation of Mercury Retention and Toxicity using DMPS provocation. *J of Advancement in Medicine.* 7 (1): 80.

Cárdenas A, Roels H, Bernard AM, Barbon R, Buchet JP, Lauwerys RR, Roselló J, Hotter G, Mutti A, Franchini I. (1993). Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. I. Application to workers exposed to mercury vapour. *Br J Ind Med.* 50:17-27.

Carmignani M, Boscolo P, Artese I, Del Rosso G, Procelli G, Felac M, Volpe AR, Givliano G. (1992). Renal mechanisms in the cardiovascular effects of chronic exposure to organic mercury in rats. *Br J Indust Med.* 49: 226-32.

Chang YC, Yeh CY, Wang JD. (1999). Subclinical neurotoxicity of mercury vapor revealed by a multimodality potential study of chloralkali workers. *Immunol.* 117 (3): 482-8.

Chatterjee S, Ray A, Mukherjee S, Agarwal S, Kundu R, Bhattacharya S. (2012). Low concentration of mercury induces autophagic cell death in rat hepatocytes. *Toxicol Ind Health.*

Chinoy NJ, Mehta RR, Seethalakshmi L et al., (1986). Effects of vitamin C deficiency on physiology of male reproductive organs of guinea pigs. *Int J Fertil.* 31: 232-9.

De Oliveira Ribeiro CA, Belger L, Pelletier E, Rouleau C. (2002). Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ Res.* 90(3): 217-25.

Dieter MP, Boorman GA, Jameson CW et al., (1992). Development of renal toxicity in F344 rats gavaged with mercuric-chloride for 2 weeks, or 2, 4, 6, 15, and 24 months. *J Toxicol Environ Health.* 36 (4): 319-40.

Dieter MP, Luster MI, Boorman GA, et al., (1983). Immunological and biochemical responses in mice treated with mercuric chloride. *Toxicol Appl Pharmacol.* 68:218-28.

El-Shenawy SMA, Hassan NS. (2008). Comparative evaluation of the protective effect of selenium and garlic against liver and kidney damage induced by mercury chloride in the rats. *Pharmacol Rep.* 60: 199-208.

Endo T, Sakat M, Shaik ZA. (1995). Mercury uptake by primary cultures of rat renal cortical epithelial cells. *Toxicol Appl Pharm.* 132: 36-43.

Fang YZ, Yang S, Wu G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 18: 872-9.

- Fao V, Caimi L, Amante L, Antonini C, Gattinoni A, Tettamanti G, Lombardo A, Giuliani A.** (1976). Patterns of some lysosomal enzymes in the plasma and of proteins in urine of workers exposed to inorganic mercury. *Ind Arch Occup Environ Health*. 37: 115-24.
- Fraga CG, Motchnik PA, Shigenaga MK, et al.,** (1991). Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Natl Acad Sci USA*. 88: 1103-6.
- Franciscato C, Moraes-Silva L, Duarte FA, Oliveira CS, Ineu RP, Flores EM, Dressler VL, Peixoto NC, Pereira ME.** (2011). Delayed biochemical changes induced by mercury intoxication are prevented by zinc pre-exposure. *Ecotoxicol Environ Saf*. 74(3): 480-6.
- Ghosh A, Sil PC.** (2008). A protein from *Cajanus indicus* Spreng protects liver and kidney against mercuric chloride-induced oxidative stress. *Biol Pharm Bull*. 31 (9): 1651-8.
- Grimble RF, Hughes RE.** (1967). A dehydroascorbic acid reductase factor in guinea-pig tissues. *Experientia*. 23: 362.
- Guzzi G, Fogazzi GB, Cantu M, Minoia, Ronchi A, Pigatto PD, Severi G.** (2008). Dental amalgam, mercury toxicity and renal autoimmunity glomerular disease. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 27: 147-55.
- Hee-Young S, Soyoung L, Seung-Bin P et al.,** (2010). Immunopharmacology and immunotoxicology. 32 (2): 277-83.
- Hinglais N, Druet P, Grossetete J, Sapin C, Bariety J.** (1979). Ultrastructural study of nephritis induced in Brown Norway rats by mercuric chloride. *Lab Invest*. 41(2): 150-9.
- Hirano M, Mitsumori K, Maita K et al.,** (1986). Further carcinogenicity study on methylmercury chloride in ICR mice. *Jap J Vet Sci*. 48 (1): 127-35.
- Hoffman DJ, Spalding MG, Frederick PC.** (2005). Subchronic effects of methylmercury on plasma and organ biochemistries in great egret nestlings. *Environ Toxicol Chem*. 24(12): 3078-84.
- Homma-Takeda S, Kugenuma Y, Iwamura T, Kumagai Y, Shimojo N.** (2001). Impairment of spermatogenesis in rats by methylmercury: involvement of stage and cell specific germ cell apoptosis. *Elsevier Toxicol*. 25-35.
- Hua J, Pelletier L, Berlin M, Druet P.** (1993). Autoimmune glomerulonephritis induced by mercury vapour exposure in the Brown Norway rat. *Toxicology*. 79(2):119-29.
- Huang YL, Lin TH.** (1997). Effect of acute administration of mercuric chloride on the deposition of copper, zinc, and iron in the rat. *Biological Trace Element Research*. 58: 159-68.
- Huggins HA, Levy TE.** (1999). Uniformed Consent: the hidden dangers in dental care. *Hampton Roads Publishing Company*. <http://www.hugnet.com>

Hussein AK, Khaled MA, Mahran, AR, Mahmoud AK. (2012). Bioremediation the toxic effect of mercury on liver histopathology, some hematological parameters and enzymatic activity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Researcher*. 4 (1): 60-9.

Institoris L, Siroki O, Undeger U, Basaran N, Banerjee BD, Desi I. (2001). Detection of the effects of repeated dose combined propoxur and heavy metal exposure by measurement of certain toxicological, hematological and immune function parameters in rats. *Toxicology*. 163: 185-93.

Jacob RA, Pianalto FS, Agee RE. (1992). Cellular ascorbate depletion in healthy men. *J Nutr*. 122: 1111-8.

Jadhav SH, Sarkar SN, Ram GC, Tripathi HC. (2007). Immunosuppressive effect of subchronic exposure to a mixture of eight heavy metals, found as groundwater contaminants in different areas of India, through drinking water in male rats. *Arch Environ Contam Toxicol*. 53 (3): 450-8.

Jonker D, Woutersen RA, van Bladeren PJ et al., (1993). Subacute (4-wk) oral toxicity of a combination of four nephrotoxins in rats: Comparison with the toxicity of the individual compounds. *Food Chem Toxicol*. 31 (2):125-36.

Kang F, Wu K, He H, Wu Q, Liu J, Kang Y, Shi J. (2010). Comparative toxicology study of Cinnabar, Zhusha Anshenwan, methylmercury and mercuric chloride. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 35 (4): 499-503.

Khan MS, Khan SA, Chaudhary ZI, Khan MN, Aslam LA, Ashraf K, Ayyub RM, Rai MF. (2004). Mercury intoxication in grass carp (*ctenopharyngodon idella*). *pakistan vet j*. 24(1): 33-8.

Kim SH, Johnson VJ, Sharma RP. (2003). Oral exposure to inorganic mercury alters T lymphocyte phenotypes and cytokine expression in BALB/c mice. *Arch Toxicol*. 77 (11): 613-20.

Kirubakaran R, Joy KP. (1988). Toxic effects of three mercurial compounds on survival, and histology of the kidney of the catfish *Clarias batrachus* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 15(2): 171-9.

Kitchin KT. (2001) Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol*. 172: 249-61.

Kluwe WM. (1982). Development of resistance to nephrotoxic insult: changes in urine composition and kidney morphology on repeated exposures to mercuric chloride or biphenyl. *Toxicol Environ Health*. 9: 619-35.

Kyle GM, Luthra R, Bruckner JV, MacKenzie WF, Acosta D. (1983). Assessment of functional, morphological, and enzymatic tests for acute nephrotoxicity induced by mercuric chloride. *J Toxicol Environ Health*. 12(1): 99-117.

Landner L, Lindstrom L. (1999). Copper in society and the Environment. Swedish Environmental Research Group (MFG). 2nd revised edition.

Lange A, Ausseil O, Segner H. (2002). Alterations of tissue glutathione levels and metallothionein mRNA in rainbow trout during single and combined exposure to cadmium and zinc. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 131: 231-43

Langworth S, Elinder CG, Sundquist KG, Vesterberg O. (1992). Renal and immunological effects of occupational exposure to inorganic mercury. *Br J Ind Med*. 49:394-401.

Lauwerys R, Haufroid V, Hoet P, Lison D. (2007). Mercure. In: Toxicologie industrielle et intoxication professionnelle. Paris: Elsevier Masson. 309-63.

Liao CY, Fu JJ, Shi JB, Zhou QF, Yuan CG, Jiang GB. (2006). Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity alterations in medaka (*Oryzias latipes*) following sublethal exposure to methylmercury chloride. *Environ Toxicol Phar*. 22: 225-33.

Lorscheider FL et al., (1995). Mercury exposure from silver tooth fillings: emerging evidence questions a paradigm. *FASEB J*. 9: 504-8.

Magos L, Brown AW, Sparrow S et al., (1985). The comparative toxicology of ethyl and methylmercury. *Arch Toxicol*. 57: 260-7.

Martinez CS, Peçanha FM, Brum DS, Santos FW, Franco JL, Zemolin AP, Anselmo-Franci JA, Junior FB, Alonso MJ, Salaices M, Vassallo DV, Leivas FG, Wiggers GA. (2016). Reproductive dysfunction after mercury exposure at low levels: evidence for a role of glutathione peroxidase (GPx) 1 and GPx4 in male rats. *Reprod Fertil Dev*.

Massanyi P, Lukac N, Slivkova J, Kovacik J, Makarevich AV, Chrenek P, Toman R, Forgacs Z, Somosy Z, Stawarz R, Formicki G. (2007). Mercury-induced alterations in rat kidneys and testes in vivo. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 42(7): 865-70.

Mehra M, Kanwar KC. (1980). *Toxicol Lett*. 6: 319.

Melaa M, Randia, MAF, Venturab, DF, Carvalhoc CEV, Pelletierd E, Oliveira Ribeiro CA. (2007). Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 68 (3): 426-35.

Mesquita M, Pedroso TF, Oliveira CS, Oliveira VA, do Santos RF, Bizzi CA, Pereira ME. (2016). Effects of zinc against mercury toxicity in female rats 12 and 48 hours after HgCl₂ exposure. *EXCLI J*. 15: 256-67

Miller DM, Lund BO. (1991). Reactivity of mercury (II) with super oxide: evidence for the catalytic dismutation of super oxide by Hg²⁺ in the brain tissues. *J Biochem Toxicol*. 6: 293-8.

Mitchell A, Fleisher MD. (2001). Le mercure: un tueur du 21eme siècle. *Nutranews: Science, Nutrition, Prevention, et Sante*. 2eme partie.

Morand C, Milenkovic D. (2014). Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques* 42: 47-62.

Muraoka Y, Itoh F. (1980). Sex difference of mercuric chloride-induced renal tubular necrosis in rats--from the aspect of sex differences in renal mercury concentration and sulfhydryl levels. *J Toxicol Sci.* 5(3): 203-14.

Naidu KA, K. Abhinender Naidu AK, Ramamurthi R. (1983). Histological alterations in liver and intestine of teleost *Sarotherodon mossambicus* in response to mercury toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 7(6): 566-75.

Nordberg GF. (1976). Effects and dose-response relationships of toxic metals. *Elsevier Amsterdam.*

NTP. (1993). Toxicology and carcinogenesis studies of mercuric chloride in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). *National Toxicology Program, Research Triangle Park.* 91:3139.

Oehme FW. (1972). Mechanisms of heavy metal toxicities. *Clin Toxicol.* 5: 151-62.

Orisakwe OE, Afonne OJ, Nwobodo E, Asomugha L, Dioka CE. (2001). Low-dose mercury induces testicular damage protected by zinc in mice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 95 (1): 92-6.

Paffenberger R. (1971). Significance to health of mercury used in dental practice. *Reports of Councils and Bureaus. JADA.* 182.

Park EJ, Park K. (2007). Induction of reactive oxygen species and apoptosis in BEAS-2B cells by mercuric chloride. *Tox In Vitro.* 21:789-94.

Peixoto NC, Rocha LC, Moraes DP, Bebianno MJ, Dressler VL, Flores EMM, Pereira ME. (2008). Changes in levels of essential elements in suckling rats exposed to zinc and mercury. *Chemosphere.* 72: 1327-32.

Peixoto NC, Roza T, Flores EMM, Pereira ME. (2003) Effects of zinc and cadmium on HgCl₂-d-ALA-D inhibition and Hg levels in tissues of suckling rats. *Toxicol Lett.* 146: 17-25.

Peixoto NC, Serafim MA, Flores EMM, Bebianno MJ, Pereira ME. (2007) Metallothionein, zinc, and mercury levels in tissues of young rats exposed to zinc and subsequently to mercury. *Life Sci.* 81:1264-71.

Penna S, Pocino M, Marval MJ, Lloreta J, Gallardo L, Vila J. (2009). Modifications in rat testicular morphology and increases in IFN-gamma serum levels by the oral administration of subtoxic doses of mercuric chloride. *Syst Biol Reprod Med.* 55 (2): 69-84.

Piscatoor M. (1963). *Arch Environ Health.* 5: 345-51.

- Prem AS, Vachhrajani KD, Bose M, Dutta KK.** (1992). Action of mercuric chloride during one cycle of seminiferous epithelium in the rat. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 48:865-8.
- Risher JF.** (2003). Elemental Mercury and Inorganic Mercury Compounds: Human Health Aspects. *Concise International Chemical Assessment Document CICAD*. 50: 30.
- Safahieh A, Savari A, Movahedinia A.** (1991). Effect of sublethal dose of mercury toxicity on liver cells and tissue of yellowfin seabream. *Elsevier Ireland*.
- Schrallhammer-Benkler K, Ring J, Przybilla B, Meurer M, Landthaler M.** (1992). Acute mercury intoxication with lichenoid drug eruption followed by mercury contact allergy and development of antinuclear antibodies. *Acta Derm Venereol*. 72(4):294-6.
- Ramalingam V, Vimaladevi V.** (2002). Effect of mercuric chloride on membrane-bound enzymes in rat testis. *Asian J Androl*. 4: 309-11.
- Robert R, Lauwerys, Haufroid V, Hoet P, Lison D.** (1999). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. *Elsevier Masson*.
- Romero-Isart N, Vasak M.** (2002). Advances in the structure and chemistry of metallothioneins. *J Inorg Biochem*. 88: 388-96
- Roy Chowdhury R, Arora AU.** (1982). *Ind. J. Physiol. Pharmacol*. 26: 242.
- Roy Chowdhury A, Vachhrajani KD, Makhija S, Kashyap SK.** (1985). Histomorphometric and biochemical changes in the testicular tissues of rats treated with mercuric chloride. *Biomed Biochem Acta*. 45(7): 949-56.
- Schurz F, Sabater-Vilar M, Fink-Gremmels J.** (2000). Mutagenicity of mercury chloride and mechanisms of cellular defence: the role of metal-binding proteins. *Mutagenesis*. 15 (6): 525-30.
- Segall HJ, Wood JM.** (1974). Reaction of methyl mercury with plasmalogens suggests a mechanism for neurotoxicity of metal-alkyls. *Nature*. 248: 456-8.
- Sin YM, Teh WF.** (1983). Uptake and Distribution of Mercury in Mice from Ingesting Soluble and Insoluble Mercury compounds. *Bull Environ Contam Toxicol*. 31: 605-12.
- Stejskal J, Stejskal VD.** (1999). The role of metals in autoimmune diseases and the link to neuroendocrinology. *Neuro Endocrinol Lett*. 20:351-64.
- Tandon SK, Singh S, Prasad S, Mathur N.** (2001). Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice. *Food Chem Toxicol*. 39: 571-7.
- Triunfante P, Soares ME, Santos A, Tavares S, Carmo H, Bastos Mde L.** (2009). Mercury fatal intoxication: two case reports. *Forensic Sci Int*. 184(1-3): 1-6.

Wadaan MAM. (2009). Effects of mercury exposure on blood chemistry and liver histopathology of male rats. *J. Pharmacol. Toxicol.* 4: 126-31.

Webb JL. (1996). Enzymes and metabolic inhibitors. *New York, Academic Press.* 2: 729.

Wester PW, Canton HH. (1992). Histopathological effects in *Poecilia reticulata* (guppy) exposed to methyl mercury chloride. *Toxicol Pathol.* 20 (1): 81-92.

Woggon H, Klein S, Plass R, Nickel B. (1984). Transformation reactions of special metals in organisms and in the environment. 3. In vivo reactions between mercury II chloride and monomethyltin trichloride in rats. *Nahrung.* 28(9): 995-1002.

Yasutake A, Hirayama Y, Inouye M. (1991). Sex differences of nephrotoxicity by methylmercury in mice. *Nephrotoxicity: Mechanisms, early diagnosis, and therapeutic management. Fourth International Symposium on Nephrotoxicity, Guilford, England.* 389-96.

Zalups RK, Bridges CC. (2010). Seventy-five percent nephrectomy and the disposition of inorganic mercury in 2,3-dimercaptopropanesulfonic acid-treated rats lacking functional multidrug-resistance protein 2. *J Pharmacol Exp Ther.* 332(3): 866-75.

Zhulenko V, Tavirko IP. (1985). Accumulation of mercury (from ethyl-mercuric chloride) in the wool sheep and its concentration in blood. *Veterinariya.* 5: 68-9.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives:

Notre problématique tend à mettre en évidence les retombées d'une agression chimique par l' HgCl_2 sur la santé de lapins mâles *Oryctolagus cuniculus*, et rôle de la vitamine C qui est un antioxydant puissant et la datte Deglet Nour qui est un aliment riche en composants antioxydants dans la détoxification du mercure.

Les résultats obtenus montrent que l'administration de l' HgCl_2 , entraîne une augmentation des taux de fer, phosphore, protéines totales, cholestérol, triglycérides, urée et créatinine. Alors que, les taux sériques du calcium, glucose, TGO et TGP sont diminués.

Le traitement par la vitamine C et la datte Deglet Nour montrent une amélioration par rapport au groupe traité par mercure seul.

L'étude biologique des spermatozoïdes montrent une diminution significative de la concentration, la vitesse, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes. Le taux de testostérone est également diminué par rapport au groupe témoin. Les groupes traité à la combinaison Hg-VC et/ou DN révèlent des changements modérés par rapport au témoin ce qui indique que les dattes et la vitamine C en particulier, ont un rôle majeur dans la protection de spermatogénèse et de la fertilité.

En ce qui concerne les variations pondérales, l'exposition au mercure entraîne une diminution modérée du poids du foie, du rein, du testicule et de la rate. Tandis que, les autres groupes traités montrent une amélioration modérée par rapport au témoin.

L'étude histologique révèle des altérations de l'architecture tissulaire, nécrose, dégénérescence membranaire, noyaux pycnotiques et caryolyse au niveau du foie, des altérations tubulaires et glomérulaires au niveau rénales. Au niveau de testicule le traitement par mercure entraîne un rétrécissement des parois des tubes séminifères, une absence de spermatozoïdes matures et dégénérescence de cellules de Leydig. Des altérations intestinales se manifestent au niveau de la muqueuse intestinale. Cependant, les

Conclusion générale et perspectives

changements sont moins importants chez les autres groupes traités, ce qui indique que les antioxydants sont indispensables pour prévenir les cellules et les tissus contre les dommages oxydatifs provoqués par le mercure.

En conclusion, il est évident que la supplémentation en vitamine C est essentielle à une détoxification systémique du mercure. La datte Deglet Nour possède de innombrables propriétés biologiques parmi lesquelles les activités antioxydantes étudiées dans cette thèse donnant des résultats préliminaires et nécessite des études complémentaires approfondies.

- Portant sur les polyphénols, la vitamine C et E et d'autres antioxydants et visant à mieux comprendre les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire.
- Des études portant sur le dosage des marqueurs du stress oxydatif (GSH, SOD, CAT.....) pour mieux comprendre les mécanismes de défenses antiradicalaires.

Thèse présentée en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat en science
Spécialité: Biologie animale

Intitulé: Rôle des micromolécules des produits naturels dans la détoxification du mercure chez les mammifères: Impact sur le métabolisme des minéraux, le système immunitaire et reproducteur

Résumé: Des lapins domestiques mâles *Oryctolagus cuniculus* ont été exposés à l'HgCl₂ seul (Hg), combiné à la vitamine C (Hg-VC), au palmier dattier (Hg-DN), à la vitamine C et palmier dattier (Hg-VC-DN) pendant une période de six semaines, afin d'estimer le rôle protecteur de ces composants contre l'intoxication mercurielle. Les résultats obtenus ont montré:

La fonction hépatique: Le poids relatif du foie a été diminué modérément chez tous les groupes traités en comparaison avec le témoin, ainsi que, les taux des protéines totales, cholestérol et triglycérides ont été augmentés chez les groupes Hg, Hg-VC et Hg-DN par rapport au témoin, alors que, le groupe Hg-VC-DN a montré une légère modification. En revanche, une diminution de l'activité des transaminases TGO et TGP est enregistrée chez le groupe Hg par rapport au témoin, tandis que, une activité intense de TGO et TGP s'est manifesté chez le groupe Hg-VC-DN. Le traitement par la vitamine C et la datte chez les groupes Hg-DN et Hg-VC a amélioré modérément l'activité de ces enzymes.

La fonction rénale : Une augmentation significative du poids relatif du rein chez le groupe Hg. le groupe traité Hg-VC a montré une diminution modérée par rapport au témoin, des taux d'urée et de créatinine sérique élevés chez le groupe Hg en comparaison avec le témoin, les autres groupes traités ont montré une augmentation modérée par rapport au témoin.

La fonction pancréatique : La détérioration et le mauvais fonctionnement pancréatique a entraîné une hypoglycémie chez le groupe Hg, cependant, une légère amélioration chez les autres groupes traité a prouvé l'effet préventif de la vitamine C et de la datte.

Les taux des minéraux ont perturbé par le mercure, le taux de fer a augmenté, le taux de calcium a diminué modérément, alors que, une augmentation notable de taux de phosphore a été enregistré chez le groupe Hg par rapport au témoin. En revanche, la diminution du taux de phosphore est notable chez les groupes Hg-VC, Hg-DN et Hg-VC-DN par rapport au témoin.

La fonction testiculaire : Les résultats ont montré une légère augmentation du poids relatif de testicule chez le groupe Hg-VC-DN par rapport au témoin. La concentration de testostérone a diminué de façon significative chez le groupe traité Hg et le groupe traité à la combinaison Hg-VC. Le taux d'hormone chez le groupe Hg-VC-DN a été proche de celui du témoin, une diminution de la vitesse, la mobilité et la vitalité a été observée chez le groupe Hg.

L'étude histologique: L'aspect histologique du foie, rein, testicule et intestin traduit les changements et les dommages provoqués par le mercure; dégénérescence membranaire, nécrose des hépatocytes, noyaux pycnotiques et caryolyse au niveau du foie, des altérations tubulaires et glomérulaires au niveau rénales. Au niveau de testicule le traitement par mercure a entraîné un rétrécissement des parois des tubes séminifères, une absence de spermatozoïdes matures et dégénérescence de cellules de Leydig, les altérations intestinales se sont manifestées au niveau de la muqueuse intestinale, la nécrose, des cellules caliciformes abondantes et une desquamation de la muqueuse. Cependant, les changements sont moins importants chez les autres groupes traités.

Mots clés: chlorure de mercure, Stress oxydatif, Deglet Nour, Vitamine C, antioxydant, santé.

