



الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية
Republique Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة باجي مختار عنابة

Université Badji Mokhtar
Annaba Faculté des Sciences

Département de Biologie

THESE

Présentée en vue de l'obtention d'un Diplôme de DOCTORAT en Biologie Animale

THEME

**EFFETS PROTECTEUR DES EXTRAITS DE *Calotropis procera*
SUR LA TOXICITE INDUITE PAR LE CHLORURE DE
MERCURE CHEZ LE RAT WISTAR**

Présentée par : Mme SIAD BELFARHI Leila

DIRECTEUR DE THESE. Pr. Bairi Abdelmadjide

DEVANT LE JURY

Présidente : HABBACHI Wafa Pr. Université d'Annaba

Examineurs : GUERARA Nouddjoude Pr. Université de Guelma

Examinatrice : FARHATI Habiba MCA. Université d'Annaba

Examineur : Oumeddour Abdelkadar Pr. Université de Guelma

Examinatrice : Tadjine Aicha Pr. Université d'EL Taref

Année Universitaire 2021-2022

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de thèse, le défunt TAHRAOUI Abdelkrim pour tout le support et les encouragements afin de réaliser ce travail, et pour le temps qu'il a consacré à lire et pour les remarques et les améliorations qu'il a apporté à mon travail.

Je remercie également Pr. Bairi Abdelmajid pour avoir accepté de continuer la supervision de mon travail. Je demeure reconnaissante pour tous ses efforts dans l'achèvement de la thèse.

J'aimerais aussi remercier les membres de Laboratoire de Neuroendocrinologie Appliquée de Département de Biologie à l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour leur soutien et collaboration.

Je tiens aussi à remercier tous mes collègues du centre de recherche en Analyses physico-chimiques du CRAPC (Alger).

Dédicace

Sans l'aide de dieu le tout puissant, ce travail n'aurait pas vu le jour.

Je dédie ce travail à mon mari Abdelkrime qui est mon mari, mon frère, mon père, modèle de calme, sagesse, patience et de compréhension.

Je remercie ma chère maman qui a sacrifier sa vie pour nous éduquer et nous instruire et aussi de nous a appris que le savoir est la porte de la libération et la réussite.

Je remercie aussi ma chers sœur Khadija de m'avoir abouti l'aide morale et scientifique et pour tous ses conseils et encouragements.

Je dédie aussi ce travail à ma sœur Merieme pour son esprit vivant et rigolot qui m'a soulagé beaucoup durant la rédaction de cette thèse.

Je dédie ce travail à l'amé de mon père Belfarhi Ali, mathématiciens et physiciens. J'ai été toujours motivée par la lecture des livres qui nous a laissé et qui reflètent son amour pour la science.

Résumé

Notre problématique vise à étudier l'effet protecteur de la plante *Calotropis procera* sur la toxicité de chlorure de mercure. Les molécules actives de la plante la *Calotropis procera* possèdent un mécanisme de detoxification du chlorure de mercure des organes. La plante *Calotropis procera* pourrait être une plante prometteuse contre les effets toxique du chlorure de mercure. Le but est de clarifier, d'une part la toxicité du chlorure de mercure hépatique, rénale et cérébrale et d'autres part les propriétés protectrices de la plante la *Calotropis procera* chez les rats mâles et femelles de la souche Wistar d'après la réalisation de deux expérimentations. La première partie consiste à étudier les effets toxicologique du chlorure de mercure sur les paramètres biochimiques sanguine et au niveau des tissus. La deuxième partie permette à tester les effets de la plante *Calotropis* sur des rats mâles et femelles intoxiquées par le chlorure de mercure en analysant les paramètres biochimique du sang et on suivant l'action de la plante sur les tissus rénaux, hépatique et cérébrales. Les résultats de l'étude hormonale ont démontré que la *Calotropis procera* chez les rats males a restauré le taux d'ACTH et a diminué également les stéatoses hépatiques. Les résultats de l'histologie des reins des rats mâles et femelles ont démontré que l'action de la *Calotropis procera* a renversé la toxicité par un nouveau mécanisme qui échappe au chlorure de mercure par le changement de la structure des glomérules en forme qui ressemble a celle de la glande thyroïde. Les résultats de l'étude histologique du tissu cérébrale des rats femelles traités par le chlorure de mercure a montré des images de pycnoses nucléaires. Le chlorure de mercure affecte directement les noyaux et les nucléoles des cellules nerveuses et provoque leurs rétrécissements. La plante *Calotropis procera* a protégé les noyaux contre l'action du mercure.

Mots clé : Paramètres biochimiques, *Calotropis procera*, foie, mercure, rein, poids, *Calotropis procera*, ACTH, cellularite glomerulaire, lésion discrète.

Abstract

The present research aims to study the protective effect of the plant *Calotropis procera* on the toxicity of chloride of mercury. The active molecules of the plant *Calotropis procera* possess a mechanism for detoxifying chloride of mercury from the organs. The *Calotropis procera* plant could be a promising plant against the toxic effects of chloride of mercury. The goal is to clarify first the toxicity of hepatic, renal and cerebral mercury chloride and second to study the protective properties of the plant *Calotropis procera* in male and female rats of the Wistar strain according to the realization of two experiments. The first part consists in studying the toxicological effects of chloride of mercury on the biochemical parameters of the blood and at the tissue level. The second part tests the effects of the *Calotropis* plant on male and female rats poisoned by mercury chloride by analyzing the biochemical parameters of the blood and following the action of the plant on kidney, liver and brain tissue. The results of the hormonal study showed that *Calotropis procera* in male rats restored ACTH levels and also decreased fatty liver disease. The results of the histology of the kidneys of male and female rats demonstrated that the action of *Calotropis procera* reversed the toxicity by a new

mechanism which escapes to the chloride of mercury by changing the structure of the glomeruli in shape that resembles that of the thyroid gland. The results of the histological study of brain tissue from female rats treated with mercury chloride showed images of nuclear pycnosis. Mercury chloride directly affects the nuclei and nucleoli of nerve cells and causes their narrowing. The plant *Calotropis procera* protected the nuclei against the action of mercury.

Key world : Biochemical parametes, *Calotropis procera*, ACTH, kidney, liver, glomerular cellularity, discrete lesion, thyroid-like condition.

ملخص

تهدف مشكلتنا إلى دراسة التأثير الوقائي لنبات كالتروبسيس بروسير لإزالة سموم كلوريد الزئبق من الأعضاء الكلى الكبد والمخ. تمتلك الجزيئات النشطة في نبات كالتروبسيس بروسير آلية لتطهير وإزالة سمية كلوريد الزئبق يمكن أن يكون نبات كالتروبسيس بروسير نباتاً واعداً ضد التأثيرات السامة لكلوريد الزئبق. الهدف هو توضيح سمية كلوريد الزئبق على الكلى لنبات كالتروبسيس بروسير وفقاً لتحقيق تجربتين. الجزء الكبد والمخ من ناحية ومن ناحية أخرى دراسة الخصائص الوقائية الأولى يتكون من دراسة التأثيرات السامة لكلوريد الزئبق على المعايير البيوكيميائية في الدم وعلى مستوى الأنسجة. الجزء الثاني يسمح لنا باختبار آثار نبات كالتروبسيس على ذكور وإناث الفئران المسمومة بكلوريد الزئبق من خلال تحليل المعايير البيوكيميائية للدم ومتابعة تأثير النبات على أنسجة الكلى والكبد والدماغ. أظهرت نتائج الدراسة الهرمونية أن كالتروبسيس بروسير في ذكور أظهرت نتائج الدراسة الهرمونية أن كالتروبسيس بروسير في ذكور الجرذان أعادت مستويات هرمون وقللت أيضاً من تنكس الكبد الدهني. أظهرت نتائج تحليل أنسجة كلى ذكور وإناث الجرذان أن وظيفة كالتروبسيس بروسير هي عكس السمية من خلال آلية جديدة تتجنب كلوريد الزئبق عن طريق تغيير بنية الكبيبات إلى شكل يشبه الغدة الدرقية. أظهرت نتائج تحليل هرمون قشر الكظر أن نبات كالتروبسيس بروسير عدل معدل هرمون قشر الكظر كما خفضت التنكس الدهني للكبد.

الكلمات المفتاحية: المعايير البيوكيميائية، الكلى، الكبد، المخ، هرمون قشر الكظر، كالتروبسيس بروسير.

Figures et Tableaux

No	Figures	Page
1	Cycle biogéochimique conceptuel du mercure	17
2	Lésions sur le complexe protéine-ADN	20
3	Conception de l'Expérimentation Animale	30
4	Classement du Mercure dans le Tableau Périodique	31
5	Structure chimique de l'uscharin (1) et 2-9-epi-uscharin	33
6	Changement du poids absolu des organes rénaux après administration de chlorure de mercure à 0,20mg kg pendant 20 jours chez des rats Wistar femelles.	48
7	Changement relatif du poids des organes rénaux après administration de chlorure de mercure à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats Wistar femelles	49
8	Variation du poids absolu du foie après administration de HgCL ₂ (0,20 mg/kg) et de la plante Calotropis procera	51
9	Variation du poids relative du foie après administration de HgCL ₂ (0,20 mg/kg) et de la plante Calotropis procera	52
10	Modification du poids corporel des rats mâles après administration de chlorure de mercure à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats mâles.	53

11	Variation du poids absolu du foie des rats wistar mâles	54
12	Variation du poids absolu des reins des rats wistar mâles	55
13	Variation du poids relative des reins des rats wistar mâles	56
14	Modification du taux d'urée sanguine de rats femelles Après administration de HgCL ₂ (0, 20 mg/kg) et de la plante Calotropis procera.	59
15	Variation du taux de glycémie sanguine des rats femelles après administration du HgCL ₂ (0,20mg/kg) et la plante Calotropis Procera	61
16	Variation du tau d'albumine sanguine des rats femelles Après administration du HgCL ₂ (0.20mg/kg) et la plante Calotropis procera.	61
17	Variation du taux du cholestérol sanguine des rats femelles après administration du HgCL ₂ (0,20mg/kg) et la plante Calotropis Procera.	62
18	Variation du taux de la créatinine sanguine des rats femelles après administration du HgCL ₂ (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera.	63
19	Variation du taux des protéines totales sanguine des rats femelles après administration du HgCL ₂ (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera	64

21	Variation du taux des triglycérides sanguins des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis procera	64
22	Variation du taux de la phosphatase alcaline sanguines des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20mg/kg) et la plante Calotropis procera	65
23	Variation du taux de l'acide urique sanguin des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis procera	65
24	Variation du taux de la bilirubine totale sanguines des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis <i>procera</i>	67
25	Variation du taux de la bilirubine directe des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera.	67
26	Variation du taux de la bilirubine indirecte des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera	68
27	Variation du taux du cholestérol des rats males après administration du HgCL2 (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera	71
28	Variation du taux de créatinine des rats males après administration du Hg2CL2 (0,20mg/ Kg) et de la Calotropis Procera	72
29	Variation du taux d'urée des rats males après administration du Hg2CL2 (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera	73
30	Variation du taux d'acide urique des rats males après administration du Hg2CL2 (0,20mg/ Kg) et de la Calotropis Procera	74
31	Variation du taux des triglycérides des rats males après administration du HgCL2 (0,20mg/ Kg) et de la Calotropis procera.	74

32	Variation du taux de la bilirubine totale des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera.	75
33	Variation du taux de la bilirubine directe des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera	76
	Variation du taux de la bilirubine indirecte des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera	77
34	Variation du taux des proteins totaux des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/ Kg) et de la Calotropis Procera.	78
35	Variation du taux de la phosphatase alcaline des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera.	78
36	Variation du taux d'albumine des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera.	79
37	Variation du taux de glycémie des rats males après administration du Hg ₂ CL ₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera.	80
38	Variation d'hormone AdrenoCortico-TrophicHormoneACTH des rats Male et female traités par plante Calotropis <i>procera</i> ; Calotropis <i>procera</i> + chlorure de mercure, chlorure de mercure + Calotropis <i>procera</i> .	81
39	Coupe Histologique des reins des rats males et femelles	82

40	Coupe Histologique du foie des reins males et femelles	84
42	Etude Histologique du tissu cérébrale des Rats males et femelles	85

No	Tableaux	Page
1	Evolution du poids corporel des rats après administration de chlorure de mercure, plante Calotropis procera, plante + mercure et mercure + plante à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats wistar femelles.	46
2	Variation de la concentration plasmatiques d'urée, la glycémie, l'albumine sanguine, la créatinine sanguine, le Cholestérol total, les Protéines Totales Sérique, les triglycérides, L'acide Urique, la Phosphatase Alkaline, Bilirubine Totale, bilirubine directe et indirecte chez les rats femelles témoins ; traités par la plante ; plante+ mercure, mercure et mercure + plante.	57
3	Variation de la concentration plasmatique d'urée, de glycémie, d'albumine sanguine, de créatinine sanguine, de cholestérol total, de protéines sériques totales, de triglycérides, d'acide urique, de phosphatase alcaline, de bilirubine totale, de bilirubine directe et indirecte chez les rats males témoins ; traité par la plante; plante + mercure, mercure et mercure + plante.	68

Liste des Abréviations

ACTH	Hormone adenocorticoïde
GFAP	Protéine acide fibrillaire gliale
GCG-R	Récepteur du glucagon
CE	Cholestérol estérase
CO	Cholestérol oxydase
BUN	Azote uréique du sang
CAL	Calibreur de Bilirubine
POD	Peroxydase
PAP	Amino – antipyrine
NH ₂	Les groupements amines
ABS	Albumine sérique bovine
BCG	Vert de bromocrésol
AKI	Insuffisance rénale aiguë
SH	Thiol

TABLE DES MATIERE

1. INTRODUCTION.....	16
2. MATERIEL ET METHODE.....	29
3. RESULTAS	
3.1. Étude de Variation de Poids.....	45
3.1.1. Caractérisation du Poids.....	45
3.1.2. Variation du Poids Corporel	46
3.1.2.1. Variation du Poids Pondérale des Rats Femelles	
3.1.3 Variation du Poids des Organes	48
3.1.3.1. Variation du Poids des Reins chez les Rats Femelles	48
3.1.3.2. Changement du Poids Absolu du Foie chez les Rats Femelles.....	49
3.1.4.. Variation du Poids des Rats Mâles.....	51
3.1.4.1. Variation du poids des organes des rats mâles	52
3.1.4.1.1Variation du Poids absolu du foie	54
3.1.4.1.2. Changement de Poids Absolu des Reins chez les Rats Males.....	53
3.1.4.1.4. Poids Relatif Reins Rats Mâles	54
3.2. Caractéristique Biochimique des Rats Femelles.....	57
3.2.1. Urée Sanguine	59
3.2.1. Glycémie	60
3.2.3. Albumine.....	61
3.2.4. Cholestérol	62
3.2.5. Créatinine	62
3.2.6. Protéines Totales de Sérum.....	63
3.2.7. Triglycérides	64
3.2.8. Phosphatase Alcaline	65
3.2.9. Acide Urique	65
3.2.10. Bilirubine Totale.....	66
3.2.11. Bilirubine Directe.....	67
3.2.12. Bilirubine indirecte	68
3.3. Caractéristique Biochimique des Rats Males	86
3.3.1. Cholestérol	71
3.3.2. Créatinine	72
3.3.3. Urée.....	72
3.3.4. Acide Urique	73
3.3.5. Triglycérides	74
3.3.6. Bilirubine Totale.....	75
3.3.7. Bilirubine Directe.....	76
3.3.8. Bilirubine indirecte	77
3.3.9. Protéine Sérique	77
3.3.10. Phosphatase Alcaline	78

3.3.11. Albumine.....	79
3.3.12. Glycémie	80
3.3.13. Résultats et Discussion	85

3.4. Etude Histologique et Hormonale de l'Effet Protecteur de la Calotropis procera contre la Toxicité du Chlorure de Mercure

3.4.1. Effet du chlorure de mercure sur les variations d'ACTH chez les rats mâles.....	80
3.4.2. Effet du chlorure de mercure sur les variations d'ACTH chez les rats femelles	81
3.4.3. Etude histologique du rein des rats mâles et femelles.....	82
3.4.4. Etude histologique du foie des rats mâles et femelles.....	83
3.4.2. Résultats de la partie neurologique.....	85
3.4.2.2. Discussion des Résultats	90

3.5. Conclusion.....113

Introduction

Les métaux lourds sont des éléments toxiques trouvés dans l'environnement, la nourriture, les vaccins et dans l'air que nous respirons. Les principales sources de métaux lourds sont la nourriture et les vaccins. Les risques à long terme des métaux lourds sont énormes. Des études ont montré que les vaccins à base d'aluminium sont responsables des déficits neurologiques tels que la maladie d'Alzheimer, la variante guaméenne, ALS - PDC et autisme troubles du spectre chez les enfants(1). Les métaux lourds s'accumulent dans les cellules intestinales, perforant les muqueuses. Cela provoque le passage de tous les éléments toxiques, virus et débris alimentaires.

L'histoire de l'utilisation du mercure remonte au temps ancien. Il était utilisé pour empoisonner Agnès Sorel, la maîtresse de Louis XIV(2). Isaac Newton, aussi succombé au mercure, selon des analyses effectuées sur ses ossements(3). En 1950 une usine chimique située dans la ville japonaise de Minamata était le point de départ de l'une des crises sanitaires d'empoisonnement lié au mercure. Selon les chiffres officiels, 1700 personnes ont trouvé la mort, d'autres personnes ont souffert de lésions du cerveau, incapacités intellectuelles et anomalies congénitales(4). Le taux du mercure a été plus élevée dans les cheveux des victimes 338,4 ppm. Les fœtus ont été également touchés par les effets du mercure qui exprime des symptômes de paralysie cérébrale sévère. Le mercure les a intoxiqués à travers le placenta et ils s'accumulent beaucoup plus dans leur cordon ombilical. Bien que les fœtus aient été affectés par le mercure leurs mères n'ont aucuns symptômes (4).

Le mécanisme de la toxicité du mercure dépend de sa formule chimique et volatilité. Le mercure peut exister sous forme gazeux engendré par la transformation du mercure liquide en formule Hg_0 très volatile qui dépend directement à la température. Elle est très volatile à la température ambiante. La conférence américaine du gouvernement industriel hygiéniste (ACGTH) (5) a établi une limite de 0,05 mg / m³ de mercure Hg_0 dans l'air pendant 40 h par semaine. Une exposition chronique à long terme à des vapeurs de mercure dépassant 0,05 mg/m³ d'air peut entraîner un empoisonnement cumulatif.

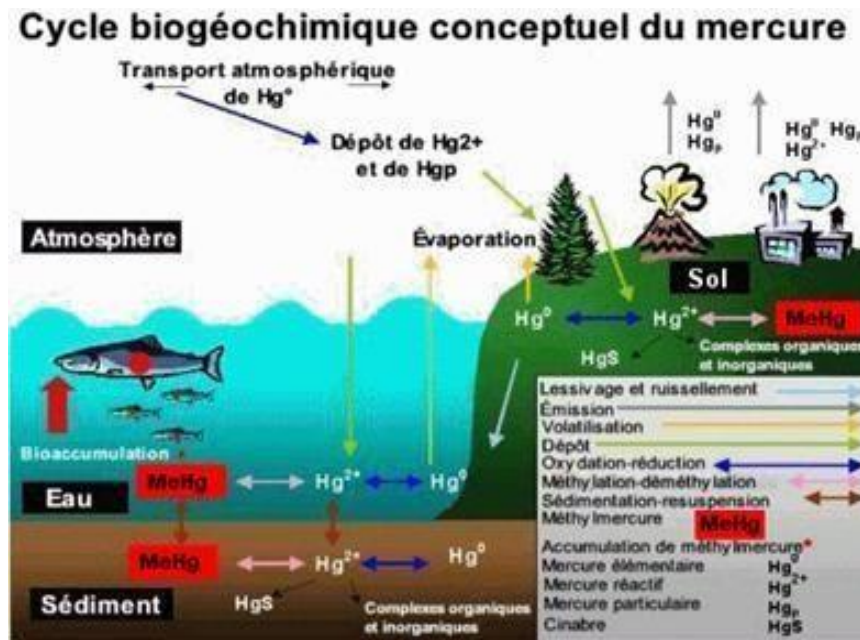


Fig.1. cycle biogéochimique conceptuel du mercure (6)

Le mercure gazeux est appelé également mercure élémentaire ; sous cette formule chimique non oxydé qu'il agit sur le cerveau et provoque des lésions graves. Le mercure sous ces différents états est un poison pour le système nerveux, le système gastro-intestinal GI, les reins, les poumons et le sang. Cette toxicité peut résulter de l'inhalation de vapeur de mercure, ingestion du mercure ou bien l'absorption du mercure à travers la peau (7). L'absorption du mercure élémentaire par voie orale est moins de 0,1 %. Par contre plus 70 % à 85 % de Hg^0 est absorbé par les poumons. A ce niveau, il peut provoquer des pneumonies interstitielles graves. La peau ne circule pas ce type de mercure ; que 3 % d' Hg^0 est absorbé à travers la peau.

Le mercure élémentaire est très soluble et cette caractéristique lui permet sa diffusion rapide à travers les compartiments lipophiles comprenant le passage à travers la barrière hématoïétique et le placenta. Le passage du mercure élémentaire à travers la barrière hématoïétique lui permette d'être retenue dans le cerveau.

Dans la circulation systémique, le mercure élémentaire peut se lier à travers plusieurs tissus,

protéines et les érythrocytes. Dans le sang les érythrocytes et la catalase peuvent lui oxydèrent mercure inorganique.

Dans les reins le mercure peut exister sous formule chimique Hg^{2+} . Cette forme est le résultat de l'oxydation du mercure gazeux Hg^0 en Hg^{2+} . Ce dernier peut endommager les tissus rénaux suite à son accumulation. Le mercure inorganique est trouvé sous 2 états oxydé : mercurous et mercuric. Le chlorure de mercure est l'un des métaux les plus toxiques. Il est utilisé comme antiseptique, intensificateur de photographie, dépolariseur de batteries de médicament, agent de bronzage pour cuir, catalyseur dans la fabrication de divinal comme le chlorure de vinyle et désinfectant. Les voies d'absorption au chlorure de mercure sont le tractus gastro-intestinal GI et la peau. Des études sur des volontaires intoxiqués par le chlorure de mercure ont démontré que 7 % à 15 % de la dose ingérée est absorbée à travers le tractus gastro-intestinal GI (7).

La toxicité du chlorure de mercure dépend aussi de sa solubilité dans l'eau. C'est la raison pour laquelle il s'accumule plus dans les reins. A ce niveau, il a une grande affinité pour les protéines "métalloprotéines" (7). La charge du mercure inorganique est parfois le déclencheur de sa toxicité dans les membranes des cellules nerveuses. Des études ont trouvé que lorsque le chlorure de mercure s'accumule dans le système nerveux central, il interagit avec les lipides cationiques et plasmagènes. Ils ont observé qu'il augmente les liaisons hydrogènes avec les lipides plasmagènes et entraîne une rigidité des membranes avec des températures élevées. Par ce mécanisme, il s'échappe à la haute température qu'il le détruit. Alors ce processus est presque absent avec les membranes contenant les lipides anioniques et zwitterioniques et respectivement (7).

Les astrocytes et les neurones constituent les cellules cibles du chlorure de mercure au niveau du cerveau. Cette neuro-toxicité vers les astrocytes est due à son action contre l'absorption du glutamate par ces cellules (8). Les astrocytes activent également une protéine GFAP « glial fibrillary acidic protein » pour assurer les processus métaboliques et collabore avec les neurones (8). Des études ont trouvé que le mercure exerce sa toxicité via l'induction de l'expression des protéines

GFAP(9).L'aspect clinique de l'intoxication au chlorure de mercure au niveau du cerveau se manifeste par l'altération des mouvements, le sens comme la vision, le touché et une paralysie, la mémoire et la performance d'apprentissage.Des études ont été effectuées sur des souris et des rats jeunes pour comparer les effets neurotoxiques du méthyle mercure et du chlorure de mercure. Ils ont trouvé que le méthyle mercure stimule beaucoup plus la libération de la dopamine par rapport au chlorure de mercure. Cet effet est dose dépendant pour le méthyle mercure.Cependant,pour le chlorure de mercure entraîne la libération de la dopamine uniquement avec des doses élevée. Ces résultats montrent que cette voie de toxicité n'est pas préférable par le chlorure de mercure.Il suit une voie qui implique la sécrétion d'une autre molécule nerveuse la glutamine (10).Certaines études ont démontré que le mercure entraîne un excès extracellulaire des concentrations de glutamate et c'est par cette action qu'il engendre les lésions cérébrales.

Le chlorure de mercure peut avoir des effets graves sur l'ADN humains.Ces effets ressemblent à ceux des rayons X. Le chlorure de mercure a effets également sur la réparation de l'ADN. Il empêche par exemple la réparation des brins d'ADN endommagé par les rayons X. Le manque de réparation des endommages d'ADN provoqué par le chlorure de mercure peut expliquer la carcinogenicité de ce toxique(11). Le chlorure de mercure provoque des lésions des brins d'ADN non du type : alkali-labile site. La fixation du mercure à l'ADN est solide ; ces derniers résistent à l'extraction par high sels ou les chélateurs chimiques. Les conséquences de liaison de chlorure de mercure à l'ADN est sa dégradation en poly nucléotide structure et la libération d'une autre forme du mercure plus dangereuse le Hg 203 (12). Dans le cas d'intoxication par le chlorure de mercure, il produit dans l'organisme une fièvre. Cette dernière tourne sur l'ADN du spermatozoïde d'un côté et en même temps sur le mercure attaché à cet ADN. Les conséquences de liaison de chlorure de mercure à l'ADN est sa dégradation en poly nucléotide (ADN non fragmenté). Ce dernier agit mal sur le sperme et les spermatozoïdes qui perdent leur viabilité. Le sperme contaminé par le mercure et l'ADN non fragmenté va passer dans le rein et entraîne une toxicité et une contamination des reins ; le résultat est le blocage des liquides. Au niveau des reins les spermatozoïdes dont l'ADN est fragmenté et dont

l'énergie et l'ATP n'a pas été libéré dans l'ovocyte est transformé en Messenger cyclique AMP. Les reins vont agir d'un côté par le blocage des tunnels d'excrétion et le blocage d'un sperme contaminé par l'ADN fragmenté par un état d'hypertrophie et augmentation du poids.

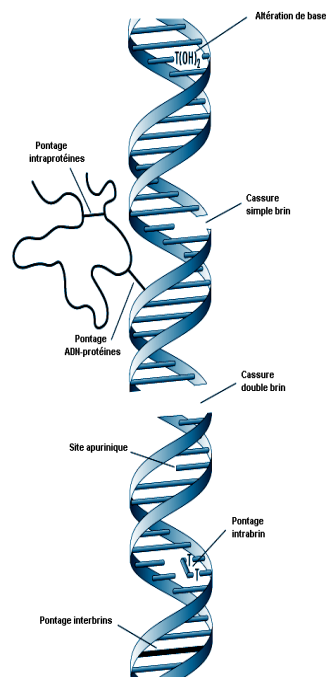


Fig. 2. Lésions sur le complexe protéine-ADN (6)

De nombreuses études suggèrent que chlorure de mercure cible des sites spécifiques du corps. Il s'accumule dans les cordes vocales(13),la glande thyroïde(14).Il agit sur les lipides et les transforme en glucose et en énergie. Il active le métabolisme et augmente l'énergie des cellules pour les affaiblir par la suite. Des études ont montré qu'il est capable de modifier la fonction des mitochondries dans le foie des poissons. La toxicité du chlorure de mercure affecte également le foie et peut entraîner la chute des enzymes hépatiques comme l'alanine aminotransférase,l'aspartate aminotransférase, -glutamyl-transférase et lactate déshydrogénase(15).Le chlorure de mercure peut augmenter également la peroxydation lipidique dans le foie et les reins des rats femelles et diminuer les réserves antioxydantes comme le glutathion(16).Ça peut provoquer également une nécrose hépatique même à faibles doses(17).Le chlorure de mercure s'accumule également dans les reins et provoque des altérations pouvant entraîner des syndromes glomérulo-néphritiques. Des études ont trouvé que l'origine de ces atteintes est biochimique; le chlorure de mercure agit sur les protéines du corps et entraîne leur excrétion dans les urines. Un aspect remarquable dans les effets du mercure sur la fertilité est qu'il touche les générations issues des parents qui ont été exposés au chlorure de mercure. Bien que les parents soient fertiles alors que leurs descendants qui sont stériles. Des facteurs épigénétiques peuvent expliquer ces observations. Eva Brand, Lise Bankir, ont trouvé que des mutations faux-sens (Gly40Ser) dans l'exon 2 du gène du récepteur du glucagon (GCG-R) ont été observées beaucoup plus chez les hommes(18). En effet les hommes présentent le double de ces mutations par rapport aux femmes. D'après ces résultats le chlorure de mercure affecte la fertilité masculine via l'hormone le glucagon. (19) ont trouvé que le chlorure de mercure provoque chez les rats mâles une hyperglycémie, une augmentation du poids des reins ainsi qu'une stabilité des rats mâles par rapport aux rats femelles. Selon leurs résultats, cela est expliqué par un mécanisme de toxicité qui fait intervenir une hormone le glucagon.

Le processus de contamination au mercure affecte également les liquides de l'organisme comme le sang. A ce niveau, il cible sa biochimie représentée par des molécules clés de l'homéostasie du corps humain la créatinine et l'acide urique. Par exemple, Durante P, Romero F, et al, 2010 ont découvert que l'injection à des rats de chlorure de mercure et d'acide urique inhibe l'action du chlorure de mercure à endommager les reins. IL diminue la peroxydation des lipides rénaux, le signal de la nitrotyrosine, la créatinine sanguine et l'azote uréique du sang (BUN)(20).

La plupart des études effectuées sur le chlorure de mercure ont trouvé qu'il provoque des lésions directes (21). Il provoque des nécroses suite à son accumulation dans les tubules rénaux. (22,23). Le de mercure déséquilibre les milieux liquides et la vie des organismes. Cela engendre le méthylmercure dégradé. Cependant la décontamination des ions de mercure ne suit pas cette voie c'est la raison que sa décontamination est un procédé difficile qui nécessite la purification des eaux et l'identification des sources de mercure. Le résultat est la persistance du mercure dans les eaux. Une fois il atteint l'organisme, le système nerveux centrale est sa cible principale qu'il le transforme en mercure inorganique.

D'autres effets de la toxicité du chlorure de mercure ont été étudiés chez certaines femmes enceintes. Ils ont trouvé qu'il utilise l'œil comme porte d'entrée ou il s'attache aux membranes nucléaires des cellules ganglionnaires rétiniennes et endothéliales. Il passe à travers le placenta vers les cellules ganglionnaires rétiniennes fœtales, les cellules gliales du nerf optique(24).

La détoxification du chlorure de mercure est accompli par des chélateurs comme le démercaptan; cependant, ils sont devenus inefficace en raison de la toxicité du chlorure de mercure. En conséquence, le recours à des méthodes naturelles est devenu la solution pour faire face à l'empoisonnement par le chlorure de mercure. Pour détoxifier le chlorure de mercure, il est nécessaire d'utiliser une plante plus toxique qui lui ressemble. Pour ce faire, on a choisi la plante la Calotropis procera du sahara d'Algérie.

La *Calotropis procera* du grec calo qui signifie belle, jolie. Tropis : qui signifie la quille d'un bateau en raison de la forme de ces fleurs. Procera: cera qui signifie la cire de la plante *Calotropis* qui a une apparence cireuse (25).

La *Calotropis procera* est connu comme "aak" en Inde et comme "pomme de Sodome (23). Fleurs de soie (26). Elle est appelé aussi "usher" en anglais et Akundiu indi. Chez les touaregs d'Algérie est connu par Torha. La plante *calotropis procera* a été connue grâce à Robert brown en 1810. C'est une plante de la famille Asclepiadaceae considéré comme une grande famille des plantes de plus de 180 genres et 2200 espèces. Cette famille est considérée par la présence des glandes sécrétrices des liquides pour ces raisons de défenses.

La *Calotropis procera* est un arbuste, qui peut atteindre environ 6 m de haut; caractérisée par de grandes feuilles vertes, de belles fleurs rose violets, des branches remplies à l'intérieur par un liquide blanc qui s'appelle latex C. Le latex joue un rôle de défense important chez la *Calotropis* contre les insectes herbivores, les nématodes et les champignons phytopathogènes (27). A l'usage extérieur le latex de *C.procera* possède une activité anthelminthique (28, 29).

La *Calotropis procera* pousse en Inde, le sud d'Amérique. Elle se trouve sur les grandes roches en Gambie et au Sénégal Kenya. La plante a été trouvée aussi en Asie péninsule, indo-china, Arica Northwest et en Iraq, en Afghanistan, en Iran, au Pakistan, en Jordanie et à Palestine. La *Calotropis procera* a été immigré en Amérique californie, en Brésil, au Caraïbes, au Seychelles, au Mexique, au Taïlande, au Vietnam, en Australie et aux îles de Hawaï.

Cette plante pousse aussi dans les pays arabes comme la Palestine, la Jordanie et l'Iraq. Le sol de ces pays est connu par sa richesse en pétrole, en or, en phosphate, et d'autres minéraux rares qui donnent à cette plante des caractéristiques uniques la distinguent des autres plantes. On la retrouve dans les régions chaudes du Sahara d'Algérie comme Illizi. La *Calotropis procera*

supporte la chaleur de ces villes grâce à son système racinaire qui peut chercher de l'eau sur de longues distances.

Longtemps inconnu, la *Calotropis procera* fait partie intégrante de la médecine traditionnelle universelle. Depuis des siècles ses feuilles et ses racines et son latex ont été utilisés pour guérir de nombreux maux. Par exemple, au nord du Nigeria, les feuilles de *C. procera* sont utilisées contre la toux, l'asthme, la bronchite, l'eczéma, la lèpre, l'éléphantiasis, l'hypertrophie splénique, l'indigestion, l'hépatite (30), la diarrhée, la fistule sinusale, les rhumatoïdes/articulaires, les maladies stomatiques, expectorantes, (31) la jaunisse, les anthelminthiques et les maladies de la peau (32). Les études se sont concentrées sur les propriétés biologiques actives de différents extraits de plantes telles que les propriétés antitumorales, antibactériennes, antifongiques et antioxydantes des plantes sauvages (30,33).

En Afrique, les usages médicinaux de la *Calotropis procera* sont multiples. Chaque organe de la plante a son propre usage. Elle est préparée sous forme d'une tisane soit en infusion ou en décoction à petite quantité pour "désinfecter" l'intérieur du corps purgative ou pour lui donner la force "tonique".

En Palestine, la *Calotropis procera* est utilisée d'une manière à exprimer ses effets et sans risque de toxicité. Kholoud Sami, Hosni Thiab 2017 ont traité la *Calotropis procera* avec l'eau chaude, froide, l'éthanol et le méthanol. Ce type d'extraction a donné un effet anticoagulant de la plante.

La décoction, l'infusion d'écorce de la tige ou de la racine, et la poudre de la racine en eau sont utilisés contre les diarrhées, la dysenterie, les verres intestinaux, les coliques, les troubles de la rate, les maux d'estomac, les problèmes cardiovasculaires, la pneumonie, la fièvre, la jaunisse, l'éléphantiasis et la lèpre. La poudre de la racine séchée est mélangée avec l'eau sont utilisés pour faciliter l'allaitement et l'accouchement des femmes.

En usage externe les cendres de la racine de la plante *Calotropis procera* sont utilisées contre les infections cutanées, les éruptions dermiques, les maladies vénériennes et la lèpre. La *Calotropis procera* est utilisé aussi en poudre avec la capsicume contre le rhumatisme et l'arthrose. L'écorce de la racine de la *Calotropis procera* avec son latex sont utilisés en fumé contre la toux. L'écorce de la tige de la *Calotropis procera* est caractérisé par son effets aphrodisiaque et son rôle dans la fertilité. Les feuilles de la *Calotropis procera* sont aussi douées d'un grand intérêt. Par exemple, au Nigeria le jus extrait des feuilles de la *Calotropis procera* servent à coaguler le lait pour produire le fromage. Le jus des feuilles de *Calotropis procera* est utilisé aussi contre les poisons comme les piqures de scorpion, les plaits infectée par des flèches empoisonné.

Des recherches ont trouvé que la plante *Calotropis procera* est douée d'un grand pouvoir antioxydant en raison de sa faible IC50 et la variété aussi de ces molécules. En effets, cette caractéristique antioxydante qui marque ces feuilles, ces fleurs et ces racines est due à la présence de multiples molécules bioactive. Par exemple, elle contient la calotropine, péricarpe, la calactine, la calotoxine, uscharine, uscharidine, voruscharine et un hétéroside procérosidecardiotoxique, il contient aussi la calotropaine, enzyme proteolytique, le toraxistérol. Outre ces molécules la plante contient aussi les saponines, les stérols, les triterpènes, les coumarines, les tanins, le principal flavonoïde est la rutine quercetine-3- rutinoside. La plante entière est alors riche en résine, en acides gras, en protéase, en hydrocarbure, en acides aminés et en vitamines. Le latex contient des triterpénoïdes α , β amyrine, lupeol, acétate de taraxastéryle, cyclosadole. Elle contient aussi α sitostérol et stigmastérol. Des cystéines proteases comme la calotropaine, la proceraine et la proceraine B.

La plante *Calotropis procera* possède une caractéristique qui la distingue des autres plantes. Elle possède un mécanisme d'immunité de défense fondé grâce à ces molécules les cardénolides. En raison de sa nature défensive de la plante est attaqué par des insectes comme le puceron du laurier rose *Aphis nirii*, les chenilles du petit monarque *Danaus plexippus*, le *Meloidogyne incognita* et *Meloidogyne javanica*. Ces derniers renversent ce mécanisme pour leurs intérêts.

La plante *Calotropis procera* fonctionne en totalité et elle est derrière des mécanismes de défense non seulement pour se protéger dans la nature mais cette plante peut servir aussi l'être humain contre son combat contre les toxiques, les maladies et les infections. Par exemple, Belfarhi L, Tahraoui K et all, ont dévoilé un nouveau mécanisme de régénération du foie et des reins au moyen de la plante *Calotropis procera*. Selon les résultats de leur étude microscopique in vitro ont mis en évidence un mécanisme du chlorure de mercure qui engendre l'augmentation légère de la cellularité glomérulaire et avec un parenchyme rénal normal. Ce mécanisme est non connu avant et la plupart des études (34) sur la toxicologie du mercure ont démontré des lésions directe et visible. Ils ont trouvé aussi suite de l'analyse microscopique de tissus rénaux de rats mâles traités au chlorure de mercure et à la plante *Calotropis procera* montré un parenchyme rénal normal, des glomérules légèrement ischémiques avec un aspect focal pseudo-thyroïdien. Ces observations montrent que les glomérules ont pris la structure de la glande thyroïde. L'aspect thyroïdien qui est apparu dans les glomérules de rats traités avec *Calotropis procera* montre que la plante a une activité qui ressemble à la fonction de la glande thyroïde. Par ces aspects, elle a créé un déplacement des cellules de la glande thyroïde au chlorure de mercure vers les glomérules rénaux. La plante *calotropis procera* agit sur le mercure par un nouveau mécanisme qui dévoile d'une part sa discrète lésion des glomérules et par inversement de ce mécanisme de toxicité qui implique un changement des glomérules en forme de la glande thyroïde pour échapper au chlorure de mercure. Ils ont trouvé également que la plante régénère le foie qui a subi des stéatoses suite à l'intoxication au chlorure de mercure. La *Calotropis procera* a cachait les stéatoses et les centralisait au centre sous l'aspect de la stéatose médio- vacuolaire peri-Centrolobula. Par ce mécanisme elle échappe d'une part du chlorure de mercure pour le stopper de détruire le foie et d'autre part elle régénère et centralise les lésions. Ce nouveau mécanisme d'une plante de nature défensive peut non seulement ouvrir des perspectives dans la détoxification mais aussi dans les métastases du cancer ou le foie subit tellement de lésion qui ne peut plus fonctionner ni éliminer les déchets.

Ce mécanisme de la detoxification peut être attribué aux molécules de la Calotropis procera qui a une relation avec la glande thyroïde. Par exemple, la Rutine est l'un des constituants de la C. procera qui stimule les fonctions de la glande thyroïde par absorption de la thyroïde iodée et la synthèse de T3, T4 hormones. Le Stigmastérol est aussi l'un des principaux composants de la Calotropis procera qui a une relation avec la glande thyroïde. Des études ont montré que le stigmastérol agit sur la triiodothyronine (T3), la thyroxine (T4) indiquant ses propriétés inhibitrices de la glande thyroïde. Cela montre que cette molécule stigmastérol de Calotropis procera a une activité similaire de la glande thyroïde.

La plante Calotropis procera possède également des propriétés neuro-protectrices importantes. Plusieurs études ont démontré que la Calotropis procera peut diminuer les convulsions épileptiques, la maladie d'Alzheimer grâce à sa richesse en molécules comme les flavonoïdes, les stéroïdes, les tannins, les triterpénoïdes, les carbohydrates, les saponins et l'oléandrine.

Les molécules actives de la plante la Calotropis procera possèdent un mécanisme de detoxification du chlorure de mercure des organes. La plante Calotropis procera pourrait être une plante prometteuse contre les effets toxiques du chlorure de mercure.

Dans le but de clarifier, d'une part la toxicité du chlorure de mercure hépatique, rénale et cérébrale et d'autres parts les propriétés protectrices de la plante la Calotropis procera chez les rats mâles et femelles de la souche Wistar deux expérimentations séparées ont été réalisées :

- La première partie consiste à étudier les effets toxicologiques du chlorure de mercure sur les paramètres biochimiques sanguins et au niveau des tissus.
- La deuxième partie permet de tester les effets de la plante *Calotropis procera* sur des rats mâles et femelles intoxiqués par le chlorure de mercure en analysant les paramètres biochimiques du sang et en suivant l'action de la plante sur les tissus rénaux, hépatiques et cérébraux.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Materiel Biologique

2.1.1. Animaux d'élevage

Les animaux utilisés pour les études toxicologiques sont les rats blancs. Le génome de ces mammifères est plus petit que celui de l'être l'humain mais il partage plus de 90 % des gènes avec l'Homme. Selon les résultats du projet "Rat Genome Sequencing project Consortium" les rats partagent des gènes humains connu pour être associés avec des maladies. Pour ce faire on a choisi d'expérimenter sur des rats blancs mâles et femelles de souche russe wistar. Ce sont des mammifères, d'ordre des rongeurs et nocturnes. La puberté survient entre 50 et 60 jours après la naissance. La durée de vie d'un rats en bonne santé est courte entre 2 ans et demi à 3 ans (33). A leur arrivée, ces rattes pesaient en moyenne 180 grammes, et au moment de l'expérimentation, elles pesaient en moyenne 200 ± 20 grammes.

2.1.2. Les Conditions d'élevages

Les rats ont été élevés dans de grandes cages en polyéthylène, tapissées d'une litière à base de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées régulièrement et même la litière on les a changé une fois tous les deux jours. Les rats ont été élevés dans une animalerie climatisée à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une humidité constante (50%) sur un cycle lumière/obscurité de 12h12. La nourriture apportée aux animaux est confectionnée sous forme de bâtonnets constitués de maïs, d'orge, de lait et de compléments vitaminés (GAE : Groupe Agricole de l'Est, Bejaia). L'eau était prête à volonté.

2.1.3. Conception Expérimentale Animale

Après une durée d'adaptations d'un moi, les groupes des rats mâles et femelles dont le poids 250 gramme/ kg /bw ont été répartis en 10 lots de 6 rats, chacun dans l'ordre suivant : Lot 1 : témoin, Lot 2 : plante, Lot 3 : Plante + mercure, Lot 4 : Mercure, Lot 5 : Mercure + Plante (tableau.1). Les rats ont été traités avec une dose de 0,20 mg/kg par voie intrapéritonéale pendant 19 jours. L'extrait végétal (10 ml) a été injecté aux rats par gavage pendant 19 jours (Fig1).

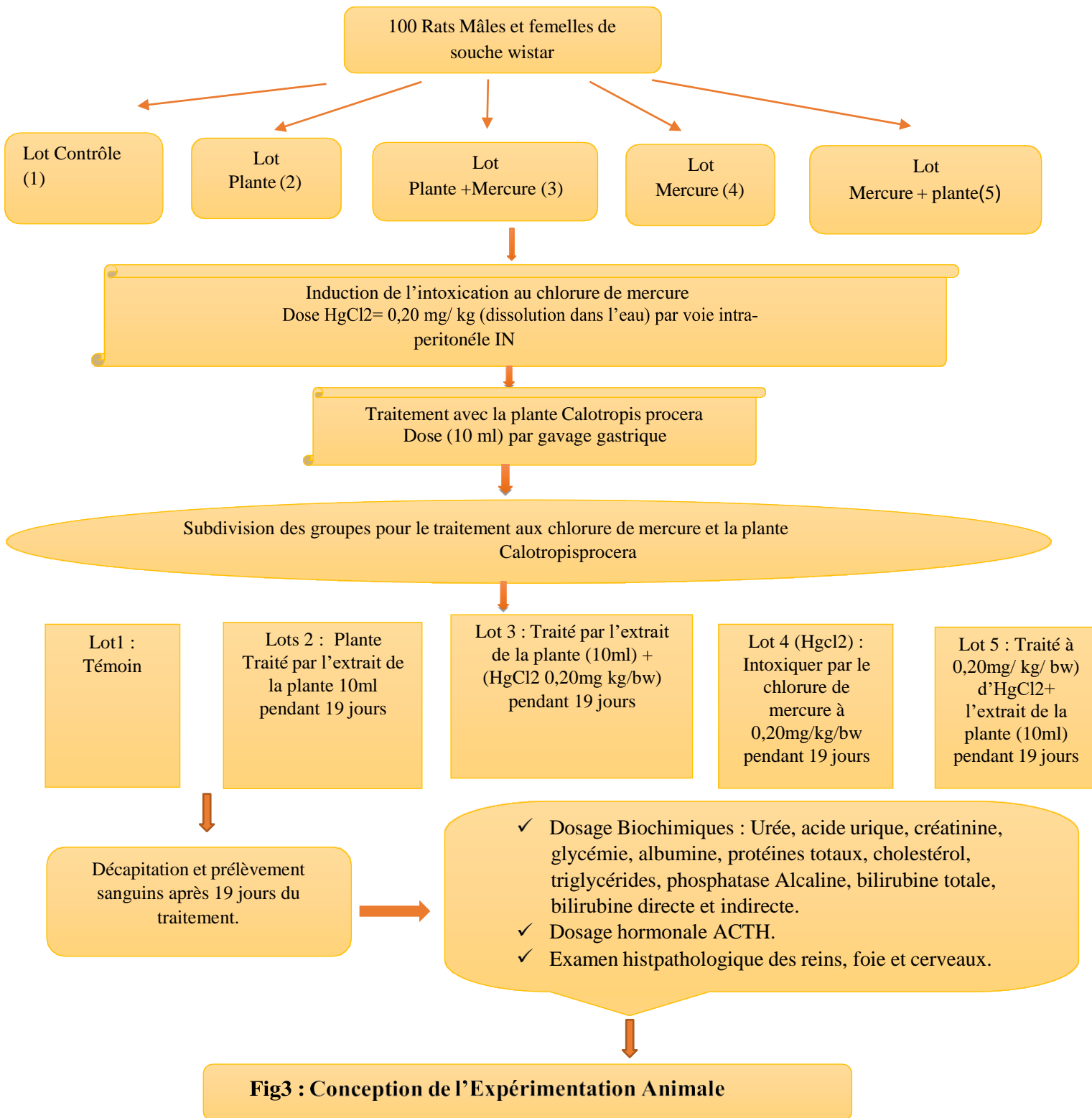


Tableau 1 : Tableau représentant le protocole expérimental

Groupes des rats	Nombres des rats	Treatment
Groupe 1	6	Groupe contrôle traité à l'eau distillée
Groupe 2	6	Groupe plante traité avec 10 ml de la plante c.procera
Groupe 3	6	Groupe plante mercure traité avec 10 ml plante et 0,2mg/ kg HgCL2
Groupe 4	6	Groupe mercure traité par 0,2 mg kg bw HgCL2
Groupe 5	6	Groupe Mercure plante traité par 0,2mg kg bw HgCL2et 10 ml plante C. procera

2.1.4. Préparation des prélèvements

2.1.4.1. Décapitation et prélèvement sanguin

Au bout de l'intervalle expérimental, les animaux ont été gardés à jeun pendant 12 heures et les échantillons de sang ont été prélevés du plexus veineux rétro-orbitaire sous anesthésie à l'éther d'éthylé. Les échantillons de sang de chaque animal ont été ajoutés dans des tubes contenant L'EDTA et le plasma ont été séparés après centrifugation à 4000 rpm pendant dix minutes à 5°C. Les échantillons de plasma clair ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse.

2.1.4.2. Dissection et prélèvement des organes

Après le prélèvement sanguin, tous les animaux ont été sacrifiés par luxation cervicale. Le foie, les reins et les cerveaux de chaque rat ont été rapidement excisés, lavés dans une solution saline isotonique, puis coupés en petits morceaux (0,5 0,5 cm) et fixés dans une solution saline de formol à 10 % pour examen histologique.

2.2. Méthodes

2.2.1. Traitement des animaux

2.2.1.1. Administration du chlorure de mercure

Le chlorure de mercure est un élément chimique de la période (6) du tableau périodique (Fig2). Cette ligne est caractérisée par la présence des éléments toxiques comme le plomb (Pb), le thallium (Ta), le platine (Pt) et l'iridium (Ir). Ils ont des propriétés en commun, mais aussi ils diffèrent en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. Par exemple le mercure est le plus dangereux en raison de sa solubilité dans l'eau et sa diffusion rapide à travers les

compartiments internes de l'organisme. La demi de vie du chlorure de mercure est aussi différente des autres métaux. Il peut s'accumuler dans les reins entre 40 à 60 jours, cependant il peut rester des années dans le cerveau.

	I																Famille										VIII									
1	1	II																																		
2	3	4																5	6	7	8	9											10			
	Li	Be																B	C	N	O	F											Ne			
3	11	12																13	14	15	16	17											18			
	Na	Mg																Al	Si	P	S	Cl											Ar			
4	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36																		
	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr																		
5	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54																		
	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Tb	Te	I	Xe																		
6	55	56	La	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86																		
	Cs	Ba		Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn																		
7	87	88	Ac	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118																		
	Fr	Ra		Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Uut	Fl	Uup	Lv	Uus	Uuo																		

57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr

Fig. 4 : Classement du Mercure dans le Tableau Périodique (34)

2.2.2. Traitement par l'extrait de la plante (Calotropis procera)

2.2.2.1. Présentation des antioxydants la plante (Calotropis procera)

La plante *Calotropis procera* est caractérisée par la présence de multiples molécules bioactives antioxydants qui la distingue des autres plantes. Deux molécules de structure chimique distinguée ont été isolé à partir de la plante ; l'uscharin (1) et le 2'-epi-uscharin (fig 5). Ces derniers agissent par un mécanisme qui inhibe les récepteurs HIF-1. Ces derniers sont impliqués dans le processus cancéreux comme l'immortalisation des cellules cancéreuse ainsi que la prolifération rapide. Cette dernière réussit ce processus juste dans un environnement hypoxique. La *Calotropis* a la capacité de défavorise l'hypoxie des cellules cancéreuse par ces deux antioxydants.

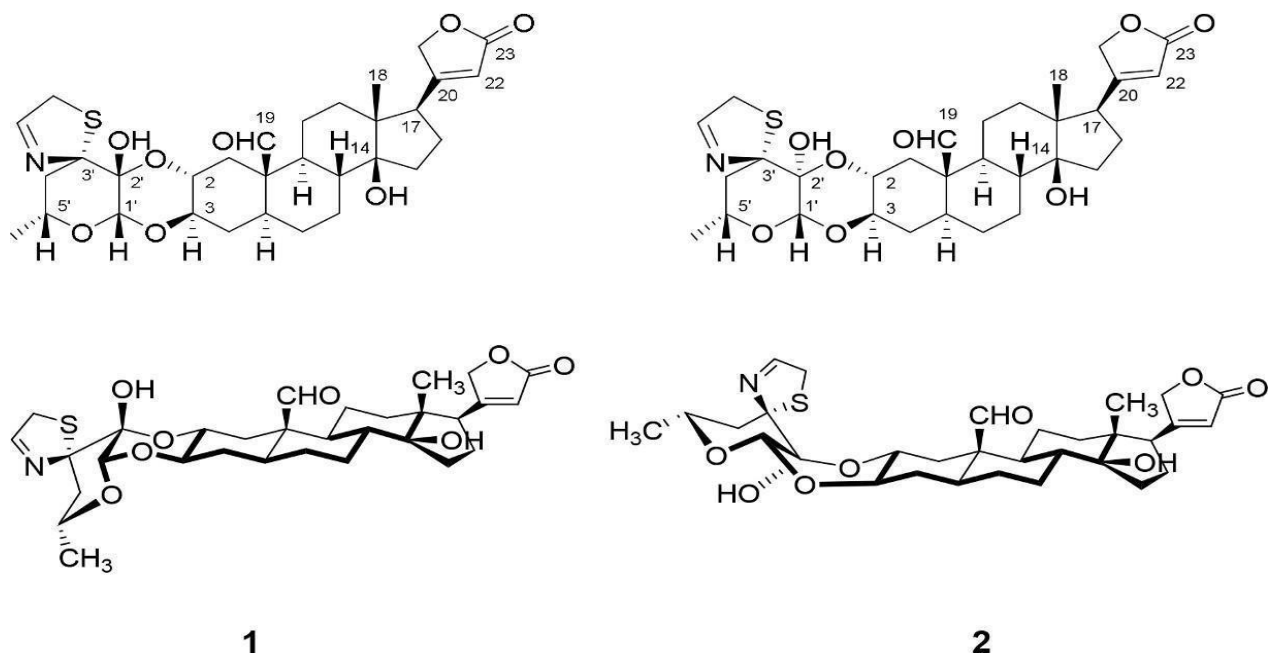


Figure 05 : Structure chimique de l'uscharin (1) et 2-9-epi-uscharin (2)(35).

2.2.2.2. Administration de l'extrait de la plante *Calotropis procera*

La plante *Calotropis procera* est un mélange médicinal des molécules rassemblées ensemble pour fonctionner en synergie. L'extraction de cette plante est différente d'un pays à un autre. Chaque région à sa propre méthode d'extraction et ses secrets de dosage. La composition finale de l'extrait de la *Calotropis procera* est dépend de la méthode de l'extraction. Cette dernière est nécessaire pour avoir un extrait riche en molécules antioxydants. Pour ce faire nous avons procédé à l'extraction de la plante la *Calotropis procera* par deux méthodes. La première méthode est une extraction chimique à base des solvants comme l'éthanol, le butanol et le chloroforme. Les feuilles (2kg) de la plante sont broyées en poudre par broyeur mécanique. La poudre obtenue est macérée dans 1,5 litre d'éthanol (70%) durant 10 jours avec agitation chaque demi-heure. L'extrait éthanolique a été récupéré et évaporé par le rota-vapeur (10g). On a obtenu une fraction hydro-éthanolique. Cette dernière est macérée successivement par l'Éther de pétrole (150 ml), le chloroforme (2,5 litres), l'éthyle acétate (150) ml (36). Les phases organiques sont évaporés et on a obtenu une fraction hydro-alcoolique, une fraction éthyle acétate et une fraction chloroformique. Les extraits ont été mis au réfrigérateur. La seconde

méthode d'extraction que nous avons réalisé est une extraction à froids sans solvants chimiques. On a mis la poudre des feuilles dans un récipient remplie d'eau distillée froids. On a laissé la préparation pendant 72heurs. Après on a récupéré l'extrait et on n'a pas filtré. On a récupéré l'extrait d'une couleur vert foncé. On a mis l'extrait dans des tubes en verres anti-UV.

2.3. Analyse hormonale

2.3.1. Plasma ACTH basal

Les concentrations ont été déterminées par le kit « IMMULATE / ACTH » à l'aide de la minarine.

2.3.2. Examen histopathologique

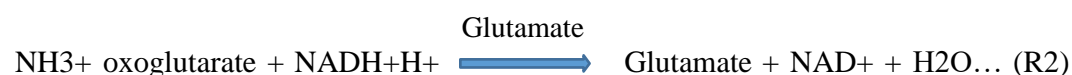
Après fixation des reins, des tissus hépatiques et les cerveaux dans une solution saline à 10 % de formol tamponné, les reins et les tissus du foie ont été séchés dans des grades croissants d'éthanol, clarifiés dans du xylol, puis plongés dans la paraffine. Les reins et les tissus hépatiques imprégnés ont été traités trois fois dans de la paraffine pure pour être établis en blocs. Des coupes (5 µm d'épaisseur) ont été préparées au microtome Leica et colorées par l'hématoxyline et l'éosine (H&E) pour enquête histopathologique(37).

2.4. Dosage des paramètres biochimique

2.4.1. Dosage de l'urée sanguin

2.4.1.1. Principe

L'urée a été mesurée par une méthode enzymatique à l'uréase. La réaction des ions d'ammonium avec le NADH.H⁺ entraîne la formation de nouvelle composante le NAD⁺ (R2) qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde(38).



2.4.1.2. Réactif Utilisée

R1.... Tampon enzyme

Tris pH 7.9 ± 0.1 à 30 C° 100 mmole /L

Uréase ≥ 17000 UL/L

GLDH ≥ 700 UL/L

Oxoglutarate 6.5

R2 ...Coenzyme

NADH ≥ 1.5 UL/L

Standard STD Urée 40mg/dl.

2.4.1.3. Préparation des Réactifs

Mélanger 4 volumes R1 avec un volume de R1

Ajouter exactement 25 ml de R2 dans un flacon R1.

L'urémie est dosée sur plasma hépariné à jeun.

2.4.1.3.1. Mode Opérateur

	Automate	Technique manuelle
Réactif de travail	300 µL	1000 µL
Spécimen (1) ou Standard/Contrôles	3 µL	10 µL
Mélanger. 1 ^{ère} lecture Abs A1 à 30 secondes, 2 ^{ème} lecture Abs A2 à 90 secondes contre de l'eau déminéralisée.		

- Longueur d'onde : 340 nm
- Température 37C°

2.4.1.3.2. Calcule de la concentration

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Sérum et plasma :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (A1 - A2) Dosage}}{\text{Calibrant}} \times \text{concentrations du Calibrant Abs (A1 - A2)}$$

2.4.2. Dosage de la créatinine sanguine

2.4.2.1. Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la réaction de jaffé. C'est une méthode colorimétrique qui s'effectue sans prétraitement de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin. La cinétique de développement de la réaction a été mesurée avec une longueur d'onde de 490 nm à 510nm (39)

2.4.2.2. Réactif utilisée

R1	CREATININE	Réactif 1
Phosphate disodique		6,4 mmol/L
Hydroxyde de sodium		150 mmol/L

R2	CREATININE	Réactif 2
Dodécylsulfate de sodium	0,75 mmol/L	
Acide picrique	4,0 mmol/L	
PH	4,0	

R3 CREATININE Etalon 20 mg/L (177 µmol/L)

2.4.2.3. Préparation des Réactifs

Mélanger 1 volume de R1 et 1 volume de R2

2.4.2.4. Mode opératoire

La créatinémie est dosée sur plasma hépariné à jeun.

Réactif de travail (R1+R2)	1000 µL
Spécimen (3)	100 µL

- Bien mélanger. Réaliser un test cinétique à 37°C (température constante).
- Après 30 sec lire l'absorbance A1 et exactement 120 secs après lire l'absorbance A2 à 490 nm (490-510) contre de l'eau déminéralisée.
- Procéder tube par tube en utilisant comme spécimen de l'eau, puis le calibrant, les contrôles et enfin les patients.

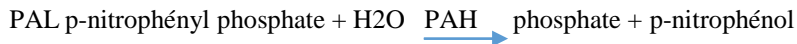
2.4.2.4.1. Calcule de la concentration

$$\text{Concentration} = \frac{(\text{A2} - \text{A1}) \text{ Essai} - (\text{A1} - \text{A2}) \text{ Blanc}}{(\text{A2} - \text{A1}) \text{ Etalon} - (\text{A1} - \text{A2}) \text{ Blanc}} \times \text{Concentration de l'étalon}$$

2.4.3. Dosage de la phosphatase Alcaline

2.4.3.1. Principe

Le substrat phosphate p-nitrophényl est hydrolysé par la Phosphatase Alcaline de l'échantillon, en présence d'ions Magnésium, pour former du p-nitrophénol de couleur jaune qui peut être lu à 405 nm. L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline présente dans l'échantillon(40).



2.4.3.2. Les Réactifs utilisés

Contenu	Concentrations dans le Test
R1. Tampon 2-amino-2-méthyl-1-propanol 0.35 mol/l, pH 10.4 Mg ²⁺ 2.0 mmol	0.35 mol/l, pH 10.4 2.0 mmol
R2. Substrat p-nitrophénylphosphate	10 mmol/l

Mélanger 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2 (exemple : 20 ml R1 + 5 ml R2).

Spécimen Sérum ou plasma recueilli sur héparine Ne pas utiliser les échantillons hémolytiques.

2.4.3.3. Démarrage par le substrat

	Blanc	Echantillon/Calibrant
Échantillon/Calibrant	-	20ul
Eau distillée	20ul	
Réactif 1	1000ul	1000ul

Mélanger incuber pendant 20 minute puis ajouter



Réactif 2	250ul	250ul
-----------	-------	-------

Mélanger, lire l'absorbance après 1 min. et démarrer le chronomètre. Lire à nouveau l'absorbance après 1, 2 et 3 min.

2.4.3.4. Démarrage par l'échantillon

	Blanc	Echantillon/Calibrant
Échantillon/Calibrant	-	20ul
Eau distillée	20ul	
Mono-réactif	1000ul	1000ul

Mélanger incuber pendant 20 minute puis ajouter

Mélanger, lire l'absorbance après 1 min. et démarrer le chronomètre. Lire à nouveau l'absorbance après 1, 2 et 3 min

2.4.3.5. Calcule de la Concentration

Calcul Avec facteur A partir des absorbances, calculer le $\Delta A/\text{min}$ et multiplier par le facteur correspondant indiqué ci-dessous : $\Delta A/\text{min} \times \text{facteur} = \text{activité PAL [U/L]}$

Démarrage par le substrat 405 nm 3433

Démarrage par l'échantillon 405 nm 2757

Avec calibrant

$$\text{PAL [U/L]} = \Delta A/\text{min. Échantillon} \times \text{Concentration. Calibrant [U/L]} \Delta A/\text{min.}$$

Calibrant Facteur de Conversion

$$\text{PAL [U/L]} \times 0,0167 = \text{PAL [\mu kat/L]}$$

2.4.3. Dosage de la Bilirubine Totale et Directe

2.4.3.1. Principe

La bilirubine est transformée par l'acide sulfanilique di azoté en azobilirubine, composée colorée qui peut être mesurée par photométrie. Des deux fractions de la bilirubine dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre qui est fixée à l'albumine, seulement la première réagit directement, tandis que la bilirubine libre réagit après avoir été déplacée de la protéine par un accélérateur. La différence entre les deux mesures de la bilirubine totale (avec l'accélérateur) et la bilirubine directe (sans accélérateur) permet la déduction de la bilirubine indirecte. Les termes de bilirubine «direct» et «indirect» font exclusivement référence aux caractéristiques de la réaction en présence ou en l'absence d'un accélérateur ou solubilisant, et correspondent juste aux deux fractions de bilirubines (39).

2.4.3.2. Réactifs Utilisée

RT : Acide Sulfanilique 29 mmol/L, acide chlorhydrique 0.24 mol/L, Duposol® 3% (w/v).

RD : Acide Sulfanilique 29 mmol/L, acide chlorhydrique 0.24 mol/L.

RN : Nitrate de sodium 11.6 mmol/L.

Réactif auxiliaire :

CAL : Calibreur de Bilirubine. REF. 1912005

2.4.3.3. Préparation des Réactifs et l'Echantillon

A. Réactifs

Mélanger 1 ml de RN + 4 ml de RT (Total) ou 1 ml de RN + 4 ml de RD (directe). Stable 8 jours à 2-8°C. Calibreur. Reconstituer le flacon en ajoutant exactement 1,0 ml d'eau distillée. Mélanger soigneusement et laisser reposer pendant 5-10 minutes avant de l'utiliser. Stabilité dans le noir est de : 8 h à 16-25°C, 2 jours à 2-8°C et 28 jours à -20°C une fois congelée.

B. Echantillons

Sérum frais non hémolytique. Conserver dans l'obscurité jusqu'à utilisation. Les échantillons peuvent être congelés à -15°C, voire moins, dans ce cas la bilirubine est stable pendant 2 mois.

C. Matériel Auxiliaire

Photomètre ou colorimètre capable de lire l'absorbance à 540 ± 20 nm. Incubateur à température fixe, réglé à 37°C. Utiliser la même température pour le calibreur, les contrôles et les échantillons. Pipettes pour mesurer et distribution de réactive et échantillons.

4.3.3.4. Mode Opérateur

➤ **Bilirubine Totale**

Tubes	Réactif Blanc	Echantillon Blanc	Echantillon	CAL
Eau distillée	100ul	-	-	-
Echantillon	-	100ul	100ul	-
CAL	-	-	-	100ul
RT	-	1.0ml	-	-
Réactif du travail	1,0ml	-	1,0ml	1,0ml

Mélanger soigneusement et laisser reposer les tubes 2 minutes à température ambiante. Lire l'absorbance (A) du blanc échantillon à 540 nm contre l'eau distillée. Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 540 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant au moins 60 minutes à température ambiante.

➤ **Bilirubine directe**

Tubes	Réactif Blanc	Echantillon Blanc	Echantillon	CAL
Eau distillée	100ul	-	-	-
Echantillon	-	100ul	100ul	-
CAL	-	-	-	100ul
RT	-	1.0ml	-	-
Réactif du travail	1,0ml	-	1,0ml	1,0ml

Mélanger soigneusement et laisser reposer les tubes pendant exactement 5 minutes à 37°C. Lire l'absorbance (A) du blanc échantillon à 540 nm contre l'eau distillée. Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 540 nm contre le blanc réactif.

4.3.3.4.1. Calcul de la concentration

$$\frac{A \text{ Ech} - A \text{ blanc Ech} \times C \text{ Cal}}{A \text{ Cal}} = \text{mg/dL} = \text{Bilirubine totale ou directe}$$

A Cal

2.4.1. Dosage du cholestérol

2.4.1.1. Principe

Le dosage du cholestérol est réalisé par une méthode enzymatique basée sur l'enzyme cholestérol oxydase décrite par Alain et all. Le cholestérol ester est hydrolysé par le cholestérol estérase et l'H₂O pour donner des acides gras libres et le cholestérol. Ce dernier est oxydé par l'enzyme cholestérols estérase pour donner le Cholesten- 4 one 3 qui réagit par la suite avec le phenol pour donner le quinonéimie selon la réaction ci-dessus (40).



2.4.1.2. Réactifs Utilisée

R1	CHOLESTEROL CHOD PAP	Tampon
	Tampon phosphate	100 mmol/L
	Chloro-4-phénol	5 mmol/L
	Sodium Cholate	2,3 mmol/L

Conservateur Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE.

R2	CHOLESTEROL CHOD PA	Enzymes
	Cholestérol oxydase (CO)	> 100 UI/L
	Cholestérol estérase (CE)	> 170 UI/L

Péroxydase (POD)	> 1200 UI/L
4 - Amino – antipyrine (PAP)	0,25 mmol/L
PEG 6000	167 µmol/L

Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE.

R3 CHOLESTEROL CHOD PAP Etalon

Cholestérol 2 g/L (5,17 mmol/L)

2.4.1.3. Préparation des réactifs

On utilise un objet non coupant pour enlever la capsule. On Verse le contenu du flacon R2 dans R1 et on mélange doucement jusqu'à dissolution. Le Flacon R3 est Prêt à l'emploi.

2.4.1.4. Mode opératoire

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10ul	-
Echantillon	-	-	10ul
Réactif	1000ul	1000ul	1000ul

Le mélange est agité par un agitateur et incubé pendant de 10 minute à 20minute à 37C°. La densité optique est lue à 550nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

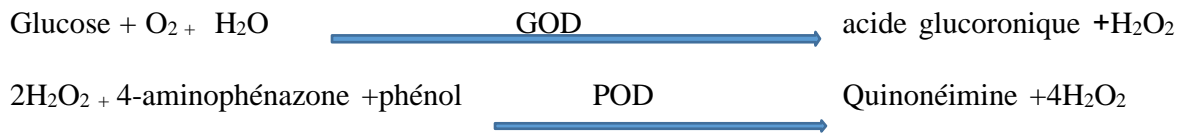
2.4.1.5. Calcul de la concentration

$$\text{Cholesterol (g/l)} = \frac{\text{DO Dosage}}{\text{DO standard}} \times \text{Concentration du standard (g/l)}$$

2.4.2. Dosage de la glycémie

2.4.2.1. Principe

Le dosage de la glycémie est réalisé par une méthode enzymatique basée sur l'enzyme glucose oxydase décrite par (41).



2.4.2.2. Mode opératoire

	Etalon	Echantillon	Blanc Réactif
Etalon	10ul	-	-
Echantillon	-	10ul	-
Réactif	1000ul	1000ul	1000ul

Mélanger puis incuber pendant 25minute à 25 C° ou bien 10minute à 37C°. La lecture de l'absorbance optique à 500nm de l'étalon et de l'échantillon contre le blanc réactif dans les 60 minutes (41).

2.4.3. Dosage des Protéines Totales

2.4.3.1. Principe

Le dosage des protéines est déterminé selon la méthode de Bradford M (1976) basé sur réactif le bleu de Coomassie. Les groupements amines (-NH₂) des protéines réagissent avec le réactif bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de la couleur bleu lors de cette réaction indique la présence des protéines ainsi que leur ionisation en milieu acide (42).

2.4.3.1.2. Mode opératoire

Le protocole se déroule selon les étapes suivantes :

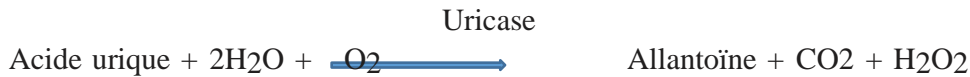
- Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml de réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml).

2.4.4. Dosage de l'acide urique

2.4.4.1. Principe

L'acide urique est dosé selon les réactions suivantes :



2.4.4.2. Réactifs utilisés

Réactif 1	Tampon phosphate pH 7.4	50mmol/l
Solution tampon	Dichloro 2-4 Phénolsulfonate	4 mmol/l
Réactif 2	Uricase	70 U/l
Enzymes	Peroxydase	660 U/l
Réactif 3	Amino-4-Antipyrine	1 mmol/l
Standard	Acide urique	6 mg/dl 60 mg/l 357 mol/l

2.4.4.2.1. Préparation et stabilité des réactifs

Dissoudre le Lyophilisat R2 avec le contenu d'un flacon Tampon R1.

Le réactif est stable : 7 jours à 20-25°C 3 semaines à 2-8°C

L'échantillon : Sérum, plasma recueilli sur héparine Urine diluée au 1/10 dans l'eau distillée

(43).

2.4.4.2.2. Mode Opérateur

Longueur d'onde510 nm (490-550)

Température :20-25°C ou 37°C

Cuve 1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	20 µl	--

Vert de bromocrésol (BCG)	167	μmol/L
Hydroxyde de sodium	50	mmol/L
Polyoxyéthylène monolauryl éther	1,00	g/L
Conservateur		

R2 ALBUMINE Etalon Albumine bovine 50 g/L (725 μmol/L).

2.4.4.2.1. Préparation des réactifs.

Prêts à l'emploi.

2.4.4.2.2. Mode Opérateur

Sérum ou plasma. Le sérum doit être séparé des cellules sanguines dans les 2 heures

Stabilité de l'albumine dans le sérum : (72 h à 2-8° C. 6 mois à -20° C.).

Réactif R1	1000 μL
Blanc, Etalon, Contrôle ou spécimen	5 μL
Bien mélanger. Lire à 630 nm (620-640) contre le blanc réactif après exactement 1 minute ou dans les 3 minutes (7).	

2.4.4.2.3. Calcul de la concentration

$$\text{Résultat} = \frac{\text{ABS essai}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

2.5. Analyses Statistiques des Résultats

Dans la présente étude, les résultats ont été analysés en utilisant les statistiques ANOVA et le test de tukey multi-comparaison. Les différences entre les groupes sont significatives à $P < 0,05$.

3. Résultats

Etudes Biochimique : Effet Protecteur de Calotropis Procera sur la Toxicité du Chlorure de Mercurique via la Voie des Paramètres Biochimiques

3.1. Étude de Variation de Poids

3.1.1. Caractérisation du Poids

Pour déterminer les caractéristiques pondérales des organes des rats, nous avons calculé par groupe traité et par groupe témoin la moyenne arithmétique (X), l'écart type (s), la valeur minimale (min) et maximale (max) pour chaque variable de poids, pour la période de traitement

de 20 jours. Les résultats relatifs à cette analyse sont présentés dans les tableaux (Tab1). Les paramètres statistiques du poids corporel des rats femelles témoins traités au chlorure de mercure, la plante, plante + chlorure de mercure et chlorure de mercure + plante sont donnés dans les tableaux 1 à 5.

Tableau 1. Evolution du poids corporel des rats après administration de chlorure de mercure, plante calotropis procera, plante + mercure et mercure + plante à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats wistar femelles.

Duration	20 days	
weight	Control	247.5±0.7528
	Mercure	235 ±2.3166
	Plante +Mercure	253 ± 1.7224
	Mercure+ Plante	242,5 ±2.1679
	Plante	253,33±1.4142
P	The f-ratio value is 31.3790. The p-value is 2.0525. $p < 0.05$. The result is significant at The p-value corresponding to the F-statistic of one-way ANOVA is lower than 0.05, suggesting that the one or more treatments are significantly different. P 0.000	

3.1.2. Variation du Poids Corporel

3.1.2. 1. Variation du Poids Pondérale des Rats Femelles

Nous décrivons d'abord la procédure de traitement des rats femelles par le chlorure mercurique et la plante C. procera. Au cours de cette expérience, nous avons testé la toxicité naturelle des plantes contre les chlorures de mercure. Le choix de ces plantes (du Sahara) est dû au fait que nous pensons que pour la détoxification des toxiques forts comme les chlorures de mercure, il faut s'appuyer sur une plante toxique. Cela a pris 20 jours et nous avons choisi de tester la plante pour son effet détoxifiant avant injection de chlorure de mercure et après injection de chlorure de mercure. La dose choisie dans cette étude de chlorure de mercure est de 0,20 mg sur un intervalle de temps de 21 jours. Cette durée a permis au chlorure de mercure d'agir même à faibles doses. La dose de la plante calotropis est de 10 ml. Nous avons également choisi d'utiliser une faible dose en raison de la toxicité

de la plante mais de l'injecter pendant 20 jours, la faible dose de calotropis procera pendant la période de 21 jours. Pour réagir efficacement, les plantes naturelles ont besoin d'une faible dose et du temps approprié. La procédure de traitement des rats femelles consiste à injecter par injection intrapéritonale du chlorure mercurique pendant 20 jours. La deuxième étape de cette expérience consiste à évaluer l'effet des plantes calotropis procera avant et après injection de chlorure mercurique. La mesure par équilibre des rats femelles a montré qu'il y a une variation du poids corporel des groupes. L'analyse de la valeur du poids corporel par Anova à sens unique démontre qu'une différence de poids corporel des rats femelles était significativement différente (la valeur p de 0,000 est inférieure à 0,05), suggérant que les traitements sont significativement différents (Fig6). L'analyse statistique par la multi-comparaison du test post hoc tukey démontre clairement qu'il existe une différence significative entre le groupe mercure vs. mercure + plante. La différence se situe également entre les groupes mercure vs. plante+ mercure. Une autre différence se situe entre le groupe mercure vs. plante et les groupes (plante+ mercure vs mercure+ plante).

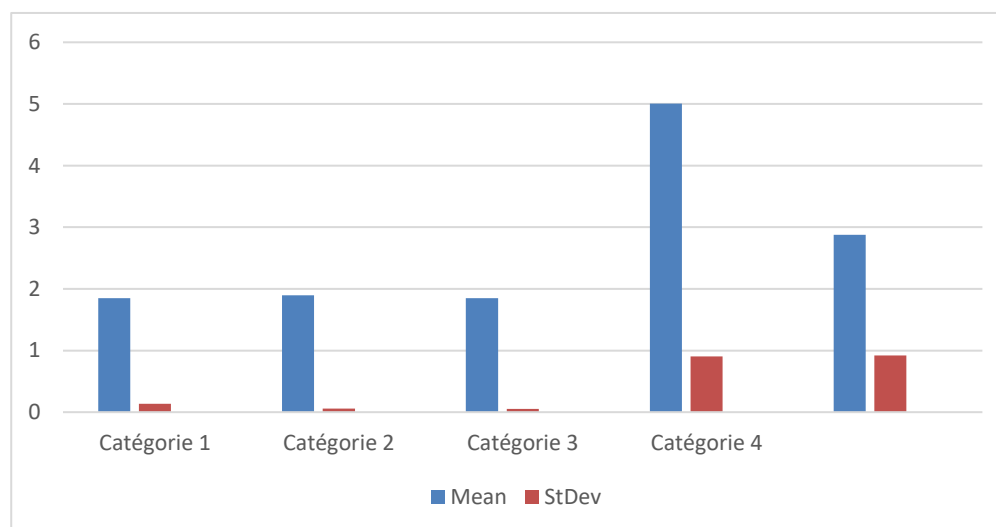


Fig.6. Changement relatif du poids des organes rénaux après administration de chlorure de mercure à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats Wistar femelles

3.1.2. Variation du Poids des Organes

Variation du Poids des Reins chez les Rats Femelles

L'administration de chlorure mercurique à 0,20 mg de poids corporel chez les rats femelles a induit une augmentation significative du poids absolu et relatif des reins. L'analyse des résultats par test tukey montre qu'il existe une différence de poids entre les rats femelles du groupe témoin vs mercure, groupe plante vs mercure. Nous avons également trouvé une différence de poids entre les groupes des rats femelles du groupe mercure vs. le groupe de rats femelles plante + mercure (fig7,8). Les résultats montrent également une différence de poids entre le groupe de rats femelles mercure vs. groupe de rats femelles moipervbcure +plante. Par ailleurs, il a été constaté qu'il existe une différence dans le poids du groupe mercure + plante et plante + mercure.

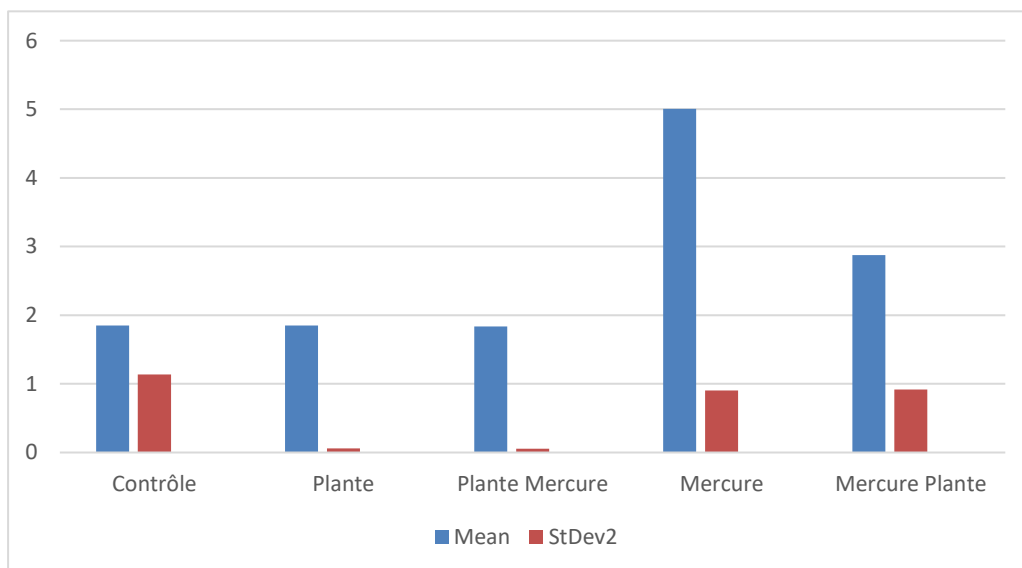


Fig 7. Changement du poids absolu des organes rénaux après administration de chlorure de mercure à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats Wistar femelles

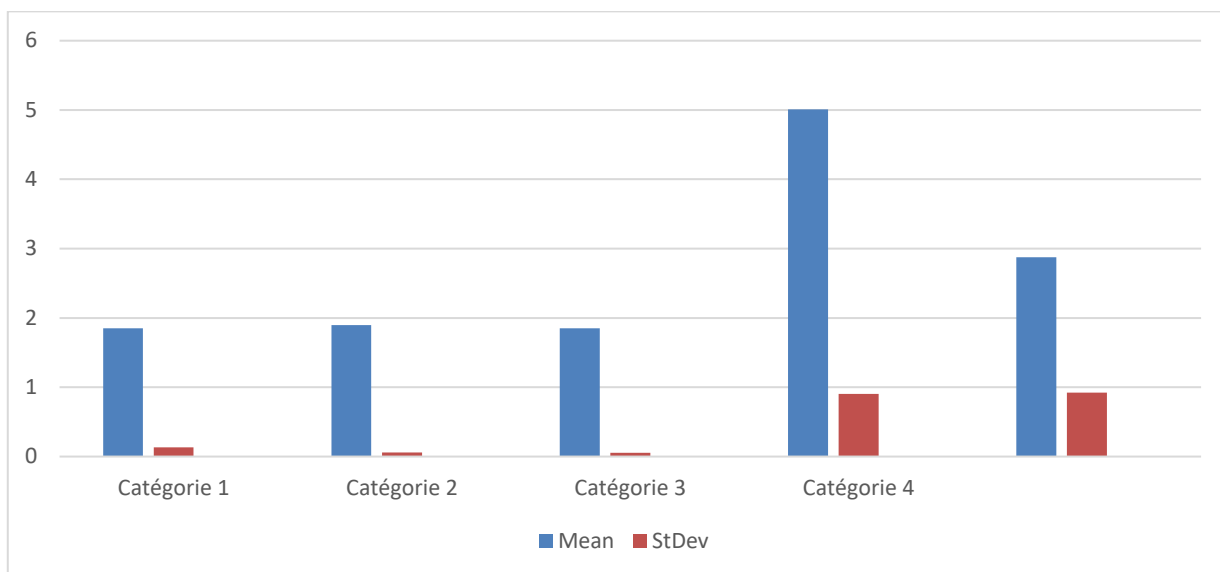


Fig 8. Changement relatif du poids des organes rénaux après administration de chlorure de mercure à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats Wistar femelles

Changement du Poids Absolu du Foie chez les Rats Femelles

Dans notre étude, l'administration de chlorure de mercure à une dose de 0,20 mg/kg de poids corporel chez des rats femelles a entraîné une diminution du poids absolu du foie. Le poids corporel des rats femelles après 20 jours de traitement était significativement différent (la valeur p de 0,000 est inférieure à 0,05), ce qui suggère que le ou les traitements sont significativement différents (tableau 3). Nos résultats montrent des différences de poids entre les groupes $P < 0,05$. L'analyse du test de Tukey a révélé une différence entre les groupes de rats Plante vs Mercure, Plante + Mercure vs Mercure, Mercure + Plante vs Mercure. Le traitement des rats avec la plante a augmenté le poids du foie. Le traitement des rats avec la plante et le chlorure de mercure a augmenté le poids du foie par rapport aux rats traités avec du chlorure de mercure qui a produit une diminution du poids du foie. Le traitement des rats avec du chlorure de mercure et de la plante a également augmenté le poids du foie.

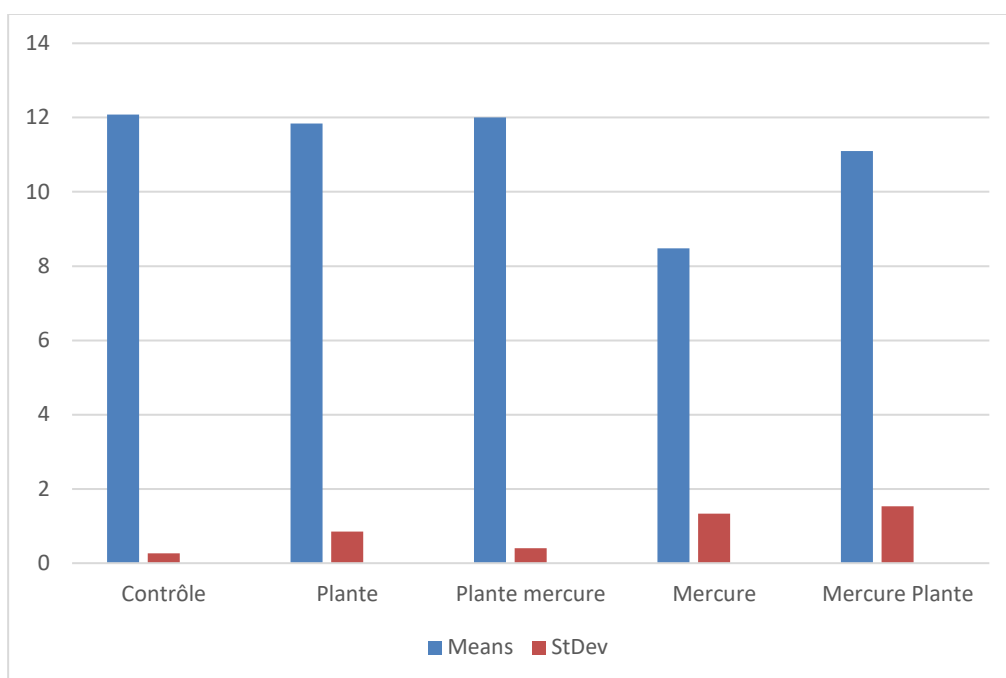


Fig 9. Variation du poids absolu du foie après administration de HgCL₂ (0,20 mg/kg) et de la plante *Calotropis procera* Variation relative du poids du foie chez les rats femelles

L'effet du traitement au chlorure de mercure, extrait de *Calotropis procera*, chlorure de mercure + extrait de *Calotropis procera*, *Calotropis procera* + chlorure de mercure sur le poids corporel des rats femelles après 20 jours de traitement était significativement différent (la valeur p de 0,000 est inférieure à 0,05), ce qui suggère que le un ou plusieurs traitements sont significativement différents. L'administration de chlorure mercurique avec 0,20 mg de poids corporel chez les rats femelles a induit une augmentation significative du poids absolu et relatif des reins. L'analyse des résultats par test tukey montre qu'il existe une différence de poids entre les rats femelles du groupe témoin vs. mercure, groupe plante vs. mercure. Nous avons également trouvé une différence de poids entre le groupe de rats femelles du groupe mercure vs. le groupe de rats femelles plante+mercure. Les résultats montrent également une différence de poids entre le groupe de rats femelles mercure vs. groupe de rats femelles mercure + plante. Il a été constaté qu'il y a une différence de poids de groupe mercure + plante et plante + mercure.

Dans notre étude, l'administration de chlorure de mercure à une dose de 0,20 mg/kg de poids corporel chez des rats femelles a entraîné une diminution du poids relatif du foie (Fig10). L'effet du traitement avec du chlorure de mercure, extrait de *Calotropis procera*, chlorure de mercure + extrait de *Calotropis procera*, *Calotropis procera* + chlorure de mercure sur le poids corporel du rat femelle après 20 jours de traitement était significativement différent (la valeur p de 0,000 est inférieure à 0,05), suggérant que le ou les traitements sont significativement différents (tableau 1). Nos résultats montrent des différences de poids entre les groupes $P < 0,05$. L'analyse du test de Tukey a révélé une différence entre les groupes de rats Plante vs. Mercure, Plante vs. Mercure + Plante, Plante + Mercure et Mercure. Le traitement des rats avec la plante a augmenté le poids du foie. Le traitement des rats avec la plante et le chlorure de mercure a augmenté le poids du foie par rapport aux rats traités avec du chlorure de mercure qui a produit une diminution du poids du foie. Le traitement des rats avec du chlorure de mercure et de la plante a également augmenté le poids du foie (Fig. 10).

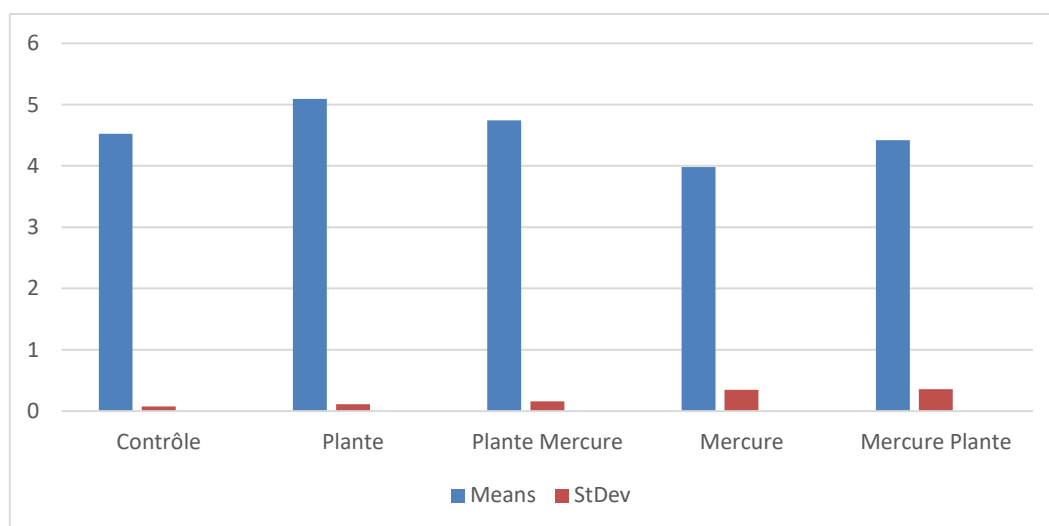


Fig.10. Evolution du poids relatif du foie de rats femelles après administration de HgCL₂ (0,20 mg/kg) et de la plante *Calotropis procera*

3.1.3. Variation du Poids des Rats Mâles

L'administration intrapéritonéale d'une dose de 0,20 mg/kg de chlorure de mercure pendant 20 jours a affecté le poids corporel des rats mâles traités au chlorure de mercure par rapport aux rats témoins. En effet, nous avons constaté une diminution du poids corporel chez les rats mâles traités

au chlorure de mercure par rapport aux témoins. Une différence dans le poids des rats mâles a été trouvée $P 0,000 < 0,05$. Nos résultats montrent que les poids des rats mâles témoins, traités avec la plante, traités avec plante+mercure, mercure+plante et avec du mercure présentent des variations et des différences significatives $p < 0,05$. Nos résultats montrent que les rats traités avec la plante pesaient plus que ceux traité au chlorure de mercure. Le poids des rats traités avec la plante est plus élevé que ceux traités avec « le chlorure de mercure + plante ». Les rats traités avec la plante se sont avérés avoir un poids plus élevé que ceux traités avec « la plante + chlorure de mercure (Fig11).

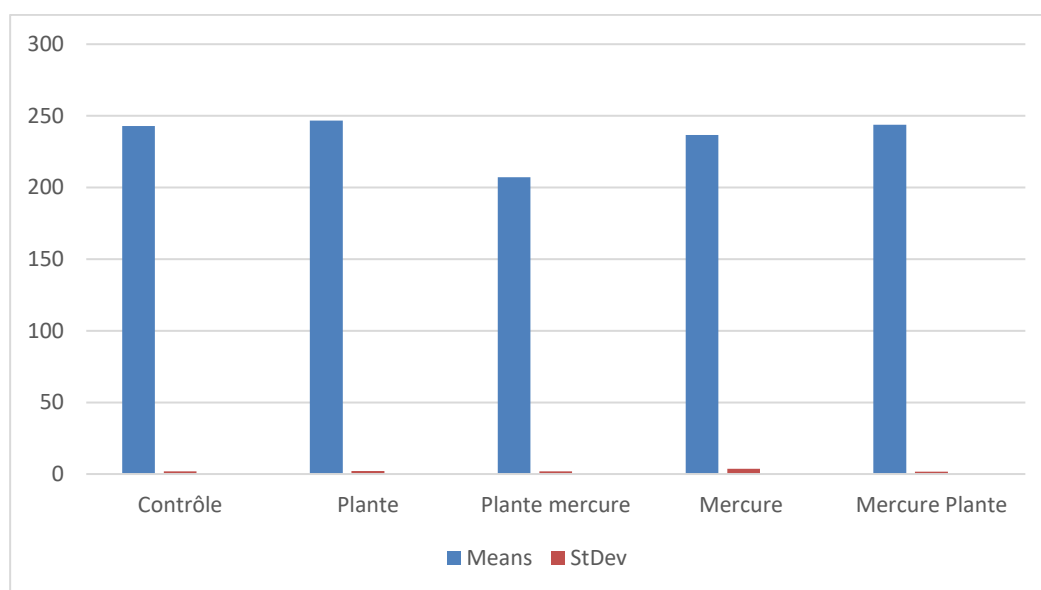


Fig. 11. Modification du poids corporel des rats mâles après administration de chlorure de mercure à 0,20 mg kg pendant 20 jours chez des rats wistar mâles.

3.1.3. Variation du poids des organes des rats mâles.

3.1.4. Variation du poids du foie des rats males

Une différence significative a été trouvée entre le poids absolu du foie des rats mâles $P 0,000 < 0,05$. (Fig 12). Nous avons trouvé une différence dans le poids du foie du groupe mercure vs. plante, mercure vs plante + mercure, mercure vs. contrôle. Les résultats ont également démontré une différence entre plante + mercure, plante vs. contrôle, plante + mercure vs. mercure + plante, plante vs. témoin. Il n'y a pas de différence entre mercure vs. mercure + plante.

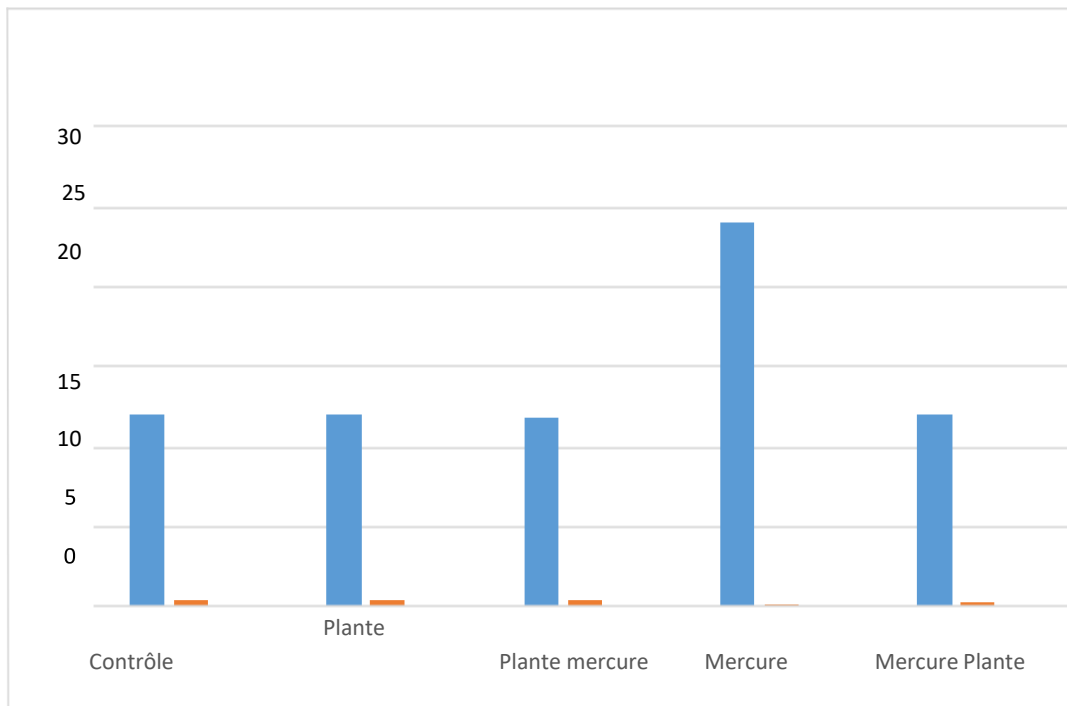


Fig. 12. Variation du poids absolu du foie des rats wistar mâles

Une différence significative a été trouvée entre le poids relatif du foie des rats mâles $P 0,000 < 0,05$. Nous avons trouvé une différence dans le poids relatif du foie de la plante du groupe par rapport au mercure. **Plante contre mercure + plante.** Mercure vs témoin. Les résultats ont également démontré une différence entre plante + mercure vs. plante, témoin vs. mercure, mercure + plante vs. mercure.

3.1.5. Changement de Poids Absolu des Reins chez les Rats Males

L'administration de chlorure mercurique à 0,20 mg de poids corporel chez les rats mâles a induit une augmentation significative du poids absolu des reins. L'analyse des résultats par test Tukey montre qu'il existe une différence de poids entre les rats mâles du groupe témoin vs. Mercure, plantes vs. Groupe mercure. Nous avons également trouvé une différence de poids entre les groupes de rats mâles du groupe mercure vs. Le groupe mâle plante + rat mercure (fig8). Les résultats montrent également une différence de poids entre le groupe des rats mâles mercure vs. Le groupe mâle mercure + rats plantes.

3.1.6. Changement de Poids Absolu des Reins chez les Rats Mâles

L'effet du traitement avec du chlorure de mercure, extrait de *Calotropis procera*, chlorure de mercure + extrait de *Calotropis procera*, *Calotropis procera* + chlorure de mercure sur le poids corporel des rats mâles après 20 jours de traitement était significativement différent (la valeur p de 0,000 est inférieure à 0,05), suggérant que le un ou plusieurs traitements sont significativement différents. L'administration de chlorure mercurique à 0,20 mg de poids corporel chez les rats mâles a induit une augmentation significative du poids absolu des reins. L'analyse des résultats par test Tukey montre qu'il existe une différence de poids entre les rats mâles du groupe témoin vs. mercure, plantes vs. groupe mercure. Nous avons également trouvé une différence de poids entre les groupes de rats mâles du groupe mercure vs. le groupe mâle plante + rat mercure (fig13). Les résultats montrent également une différence de poids entre le groupe des rats mâles mercure vs. le groupe mâle mercure + rats plantes.

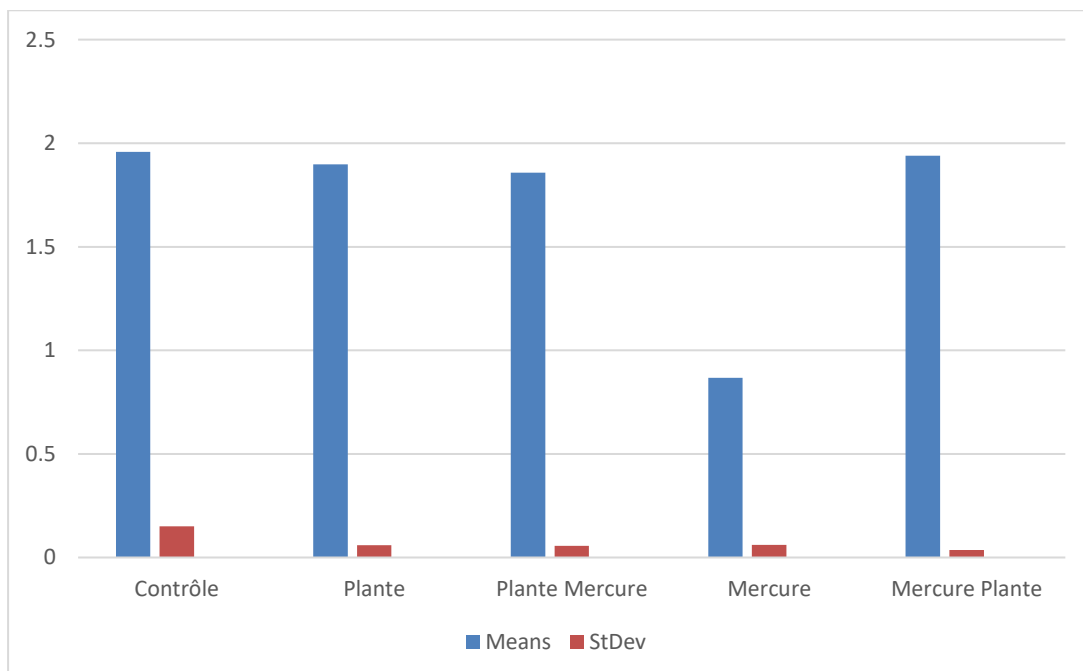


Fig. 13. Variation du Poids Absolu des Reins des Rats wistar Mâles

3.1.7. Poids Relatif Reins Rats Mâles

L'effet du traitement avec du chlorure de mercure, extrait de *Calotropis procera*, chlorure de mercure + extrait de *Calotropis procera*, *Calotropis procera* + corps de chlorure de mercure sur le corps et le poids des rats mâles après 20 jours de traitement était significativement différent (la valeur p de 0,000 est inférieure à 0,05), ce qui suggère que le ou les traitements sont significativement différents. L'administration de chlorure mercurique avec 0,20 mg de poids corporel chez les rats mâles a induit une augmentation significative du poids relatif du rein. L'analyse des résultats par test tukey montre qu'il existe une différence de poids entre les rats mâles dans le groupe mercure vs. plante + mercure, mercure vs. plante, mercure vs. contrôle et mercure vs. plante + mercure (fig14).

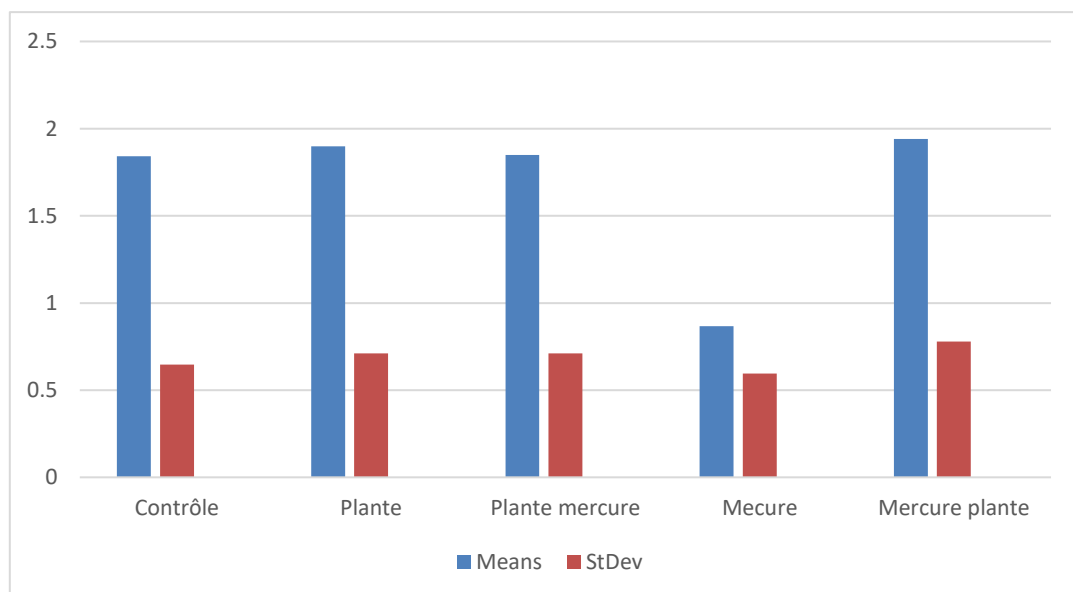


Fig. 14. Variation du poids relative des reins des rats wistar mâles

3.1.7 Caractéristique Biochimique des Rats Femelles

Pour déterminer les caractéristiques des paramètres biochimiques plasmatiques des rats, nous avons calculé pour chaque lot traité et lot témoin la moyenne arithmétique, l'écart type, et la valeur minimale et maximale pour chaque variable pondérale. Les résultats relatifs à cette analyse sont donnés dans le tableau suivant (Tab 9).

Tableau 9 : Variation de la concentration plasmatiques d'urée, la glycémie, l'albumine sanguine, la créatinine sanguine, le Cholestérol total, les Protéines Totales Sérique, les triglycérides, L'acide Urique, la Phosphatase Alkaline, Bilirubine Totale, bilirubine directe et indirecte chez les rats femelles témoins; traités par la plante ; plante+ mercure, mercure et mercure + plante.

Parametrs	Groups	Duration 20 days
Urea	Contrôle	0,25 ± 0,38
	Plante	0,31± 0,44
	Plante+ chlorure de Mercure	0,19± 0,43
	Mercure	0,17 ± 0,33
	Chlorure de Mercure+ Plante	0,18 ± 0,37
La glycémia	Contrôle	0,8883±0,2433
	Plante	1,8817±0,4521
	Plante+ chlorure de Mercure	2,37±1,2507
	Mercure	1,51±0,4521
	Chlorure de Mercure+ Plante	1,4383±0,2475
L'albumine	Contrôle	36,9± 4,7286 P = 0984 > 005
	Plante	28,5333±8,2201
	Plante+ chlorure de Mercure	32±7, 077
	Mercure	31,5±5,5979
	Chlorure de Mercure+ Plante	34,7 ± 7,2427
La créatinine	Contrôle	6,33±1,3663
	Plante	6,1667 ± 1,7224
	Plante+ chlorure de Mercure	6,33 ±1,633
	Mercure	5,67 ± 1,3663
	Chlorure de Mercure+ Plante	5,33±1,0328

Total Cholestérol	Contrôle	0,49± 0,0904
	Plante	0,4983±0,1824
	Plante+ chlorure de	0,52±0,1082

	Mercure	
	Mercure	0,575± 0,0929
	Chlorure de Mercure+ Plante	0,49± 0,0979
Total sérum protéins	Contrôle	69,25 5,1652
	Plante	67,705± 4,5825
	Plante+ chlorure de Mercure	72,4 6,7546
	Mercure	63,83± 8,3529
	Chlorure de Mercure+ Plante	73,17± 3,5962
Triglycérides	Contrôle	2,575 ± 0 6877
	Plante	0,75± 0, 2656
	Plante+ chlorure de Mercure	1,0367 ± 0,2849
	Mercure	1,1033± 0,4021
	Chlorure de Mercure+ Plante	1,3383±0,4661
Urique acide	Contrôle	25,18± 46,49
	Plante	31,34± 52,66
	Plante+ chlorure de Mercure	26,84± 48,16
	Mercure	2,51 ± 23,82
	Mercure+ plante	26,01 ± 47,32
Alcaline Phosphatase	Contrôle	112,0 ± 199,0
	Plante	109,7 ± 248,0
	Plante+ chlorure de Mercure	82,0 ± 267,0
	Mercure	50,00 ± 76,00
	Mercure+ plante	111,0 ± 212,0
Totale Bilirubine	Contrôle	0,348 ± 0,915
	Plante	0,3951 ± 0,9615
	Plante+ chlorure de Mercure	0,508 ± 1,075
	Mercure	0,405 ± 0,972
	Mercure+ plante	0,2035 ± 0,7699
Directe Bilirubine	Contrôle	0,25± 0,1865
	Plante	0,3133 0,2912
	Plante+ chlorure de Mercure	0,81 ±0,5947

	Mercurure	0,27± 0,1562
	Chlorure de Mercurure+ Plante	0,30± 0,1308

3.1.8. Urée Sanguine

L'administration de chlorure mercurique à 0,25 mg/kg de poids corporel chez le rat a induit une réduction significative des taux d'urée dans le sang. Les résultats de l'analyse biochimique du taux d'urée montrent qu'il existe une différence significative entre les groupes de rats femelles traités pendant 20 jours avec du chlorure de mercure, la plante *C. procera*, Plante *C. procera* + mercure et Plante *C. procera* + mercure, $P 0,000 < 0,05$ suggérant que le ou les traitements ont une signification différente. L'analyse par test tukey a révélé qu'il existe une différence entre le groupe plante vs. mercure, mercure + plante vs. mercure, plante + mercure vs. mercure (fig15). Les résultats montrent que la plante *Calotropis procera* a corrigé le taux d'urée, qui était perturbé par le chlorure de mercure.

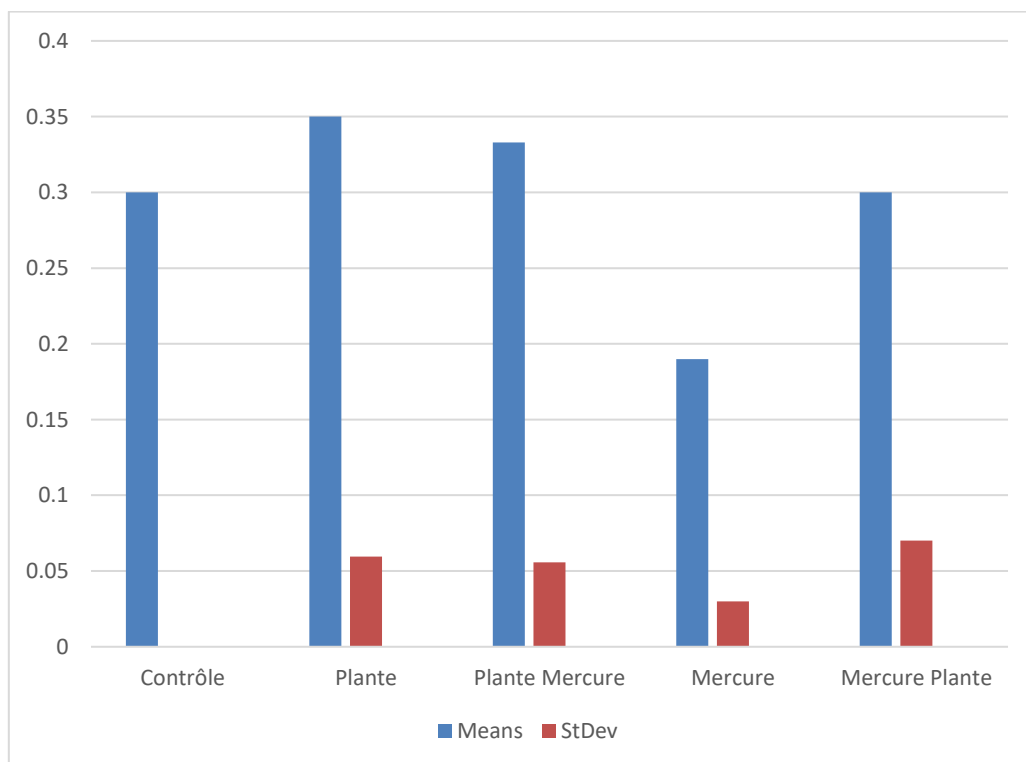


Fig.15. Modification du taux d'urée sanguine de rats femelles après administration de HgCL₂ 0,20 mg/kg) et de la plante *Calotropis procera*.

Les résultats de l'analyse biochimique du taux de sucre dans le sang montrent qu'il existe une différence significative entre les groupes de rats femelles traités pendant 20 jours avec du chlorure de mercure, la plante *C. procera*, Plante *C. procera*+mercure et Plante *C. procera* + mercure $P0,000 < 0,05$. L'analyse par test de tukey a révélé qu'il existe une différence entre le groupe mercure et le groupe témoin. Cependant, les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de différence entre le mercure et le mercure + plante, le mercure vs plante + mercure et mercure vs Plante. Le mercure a augmenté la glycémie et la plante a également provoqué une légère augmentation de la glycémie dans les groupes de rats traités avec plante, plante + mercure, mercure + plante (fig 16). La plante *calotropis* a augmenté le taux de sucre dans le sang et a donné plus d'énergie aux rats empoisonnés par le chlorure de mercure. Ceci a été observé tout au long de l'expérience où nous avons remarqué que le groupe traité au *calotropis* bougeait plus que celui traité au mercure. Nous avons observé de l'énergie et des mouvements remarquables des rats du groupe *C. Procera* convulsant alors les rats après des injections de chlorure de mercure. En particulier, une stabilité des rats et une absence de mouvement ont été observées après injections de chlorure de mercure. L'expérience où nous avons remarqué que le groupe traité au *calotropis* bougeait plus que celui traité au mercure. Nous avons observé une énergie et un mouvement remarquables des rats du groupe *C. Procera* alors convulsant les rats après injections de chlorure de mercure. En particulier, une stabilité des rats et une absence de mouvement ont été observées après injections de chlorure de mercure.

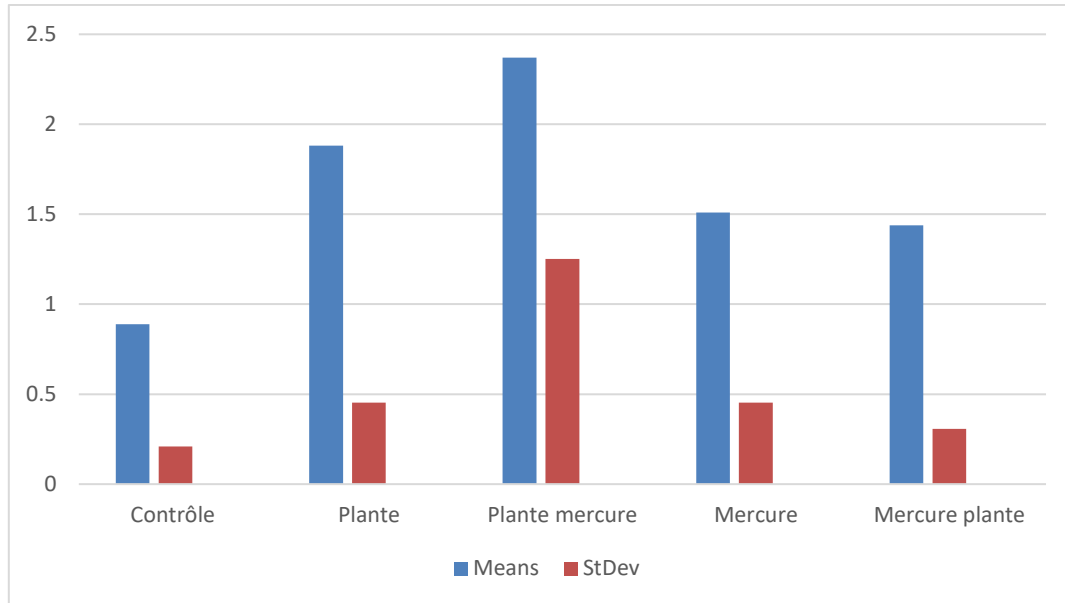


Fig.16.Variation du taux de glycémie sanguine des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20mg/kg) et la plante *Calotropis procera*

3.1.8. Albumine

L'analyse des paramètres biochimiques de l'albumine a montré qu'il n'y avait pas de différence entre les groupes de rats $p < 0,05$. Ceci montre qu'il n'y a pas d'effet sur le niveau d'albumine (Fig 17).

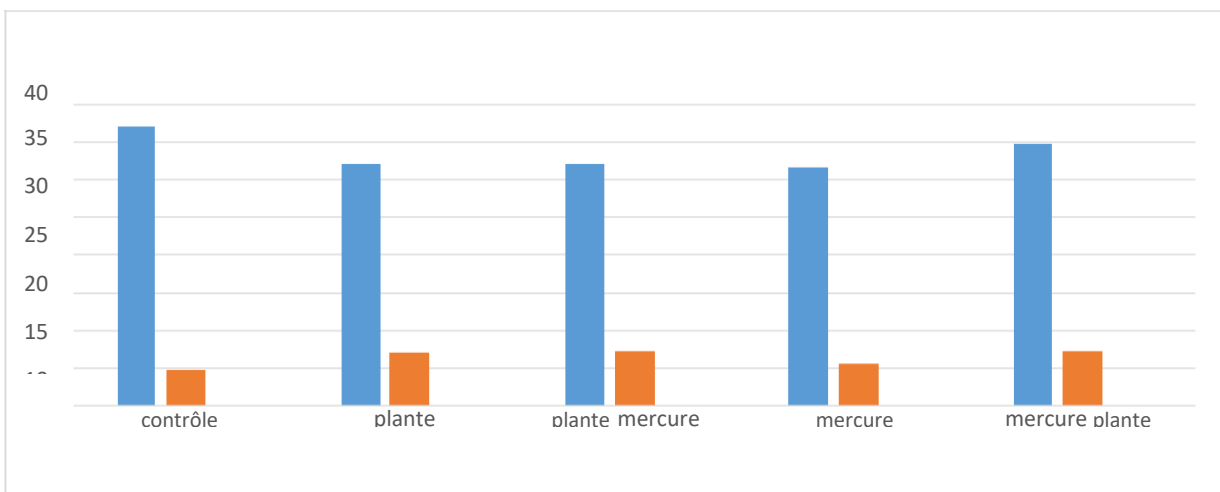


Fig.17.Variation du taux d'Albumine sanguine des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20mg/kg) et la plante *Calotropis procera*

3.1.9. Cholestérol

Nos résultats ont montré que la plante n'avait aucun effet sur les taux de cholestérol. Les résultats ont démontré qu'il n'y avait pas de différence de taux de cholestérol entre les groupes de rats femelles $P 0,750 > 005$ (Fig18).

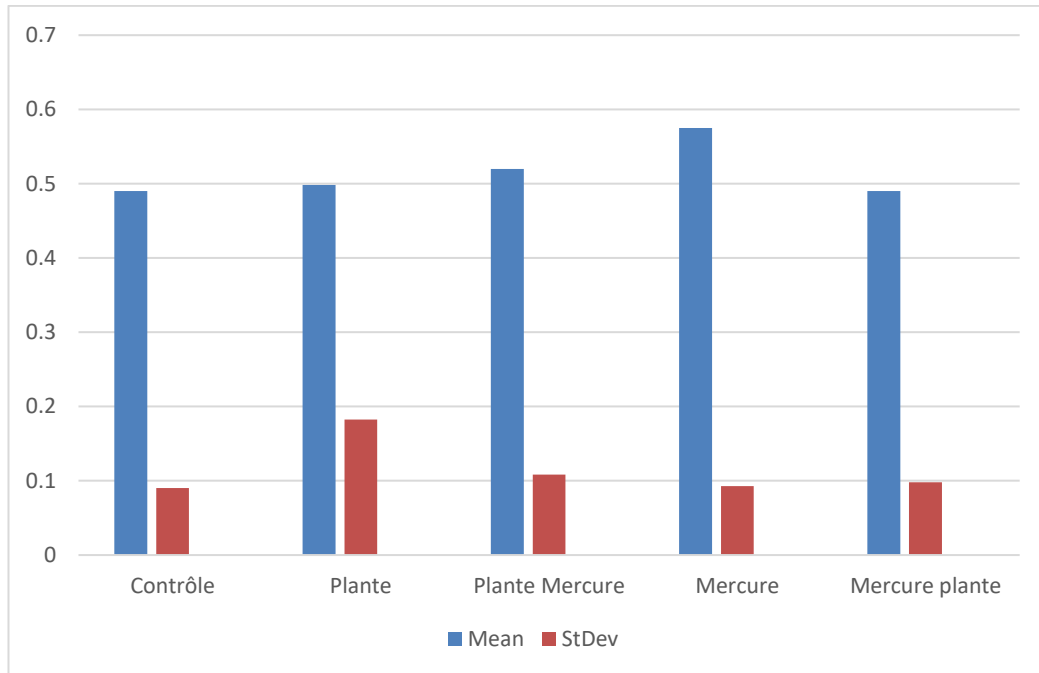


Fig.18.Variation du taux du cholestérol sanguine des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20mg/kg) et la plante *Calotropis procera*

3.1.12. Créatinine

Les résultats de notre étude ont montré que le chlorure de mercure augmentait les niveaux de créatinine. Il y a une différence dans le niveau de créatinine entre les différents groupes de rats mâles $P = \text{valeur } 0,000 < 0,05$. Une analyse multi-comparaison par tests tukeya démontré qu'il existe une différence dans le niveau de créatinine entre le groupe mercure + plante vs. mercure, mercure + plante vs. plante, mercure + plante vs. témoin (Fig 19). Il existe également une différence entre plante vs. mercure + plante, contrôle vs. contrôle, contrôle vs. mercure + plante.

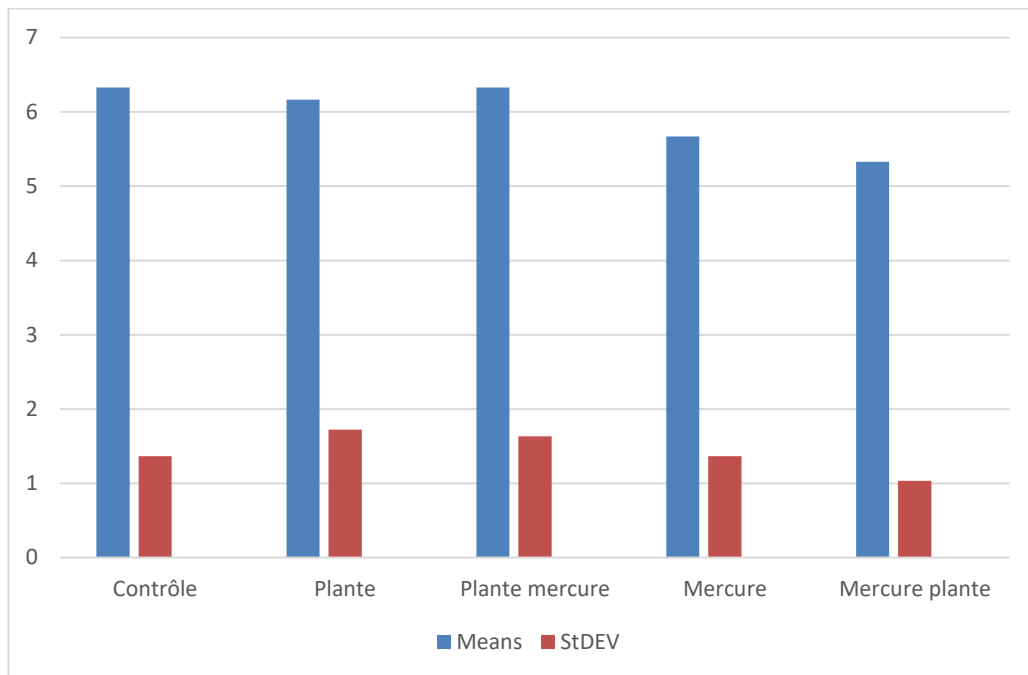


Fig.19. Variation du taux de la créatinine sanguine des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20 mg/kg) et la plante *Calotropis procera*

3.1.13. Protéines Totales de Sérum des Rats Femelles

Le traitement de rats femelles avec le chlorure de mercure à une dose de 0,20 mg kg⁻¹ pc a entraîné une modification des paramètres biochimiques sanguins tels que les protéines sériques. Les résultats de notre étude ont montré que le chlorure de mercure provoquait une baisse du taux de protéines totales ; l'analyse par anova one way a montré qu'il existe une différence dans le niveau de protéines entre les différents groupes de rats mâles $P = \text{valeur } 0,000 < 0,05$. L'analyse multi-comparaison par tests tukey a montré qu'il existe une différence dans le niveau de protéines entre le groupe mercure + plante vs. Mercure, plante vs. mercure, plante + mercure vs. Mercure et témoin vs. Mercure (Fig 20). Cela montre que le chlorure de mercure a provoqué une baisse du taux de protéines sériques. Cependant, l'usine a corrigé cette diminution du taux de protéines sériques.

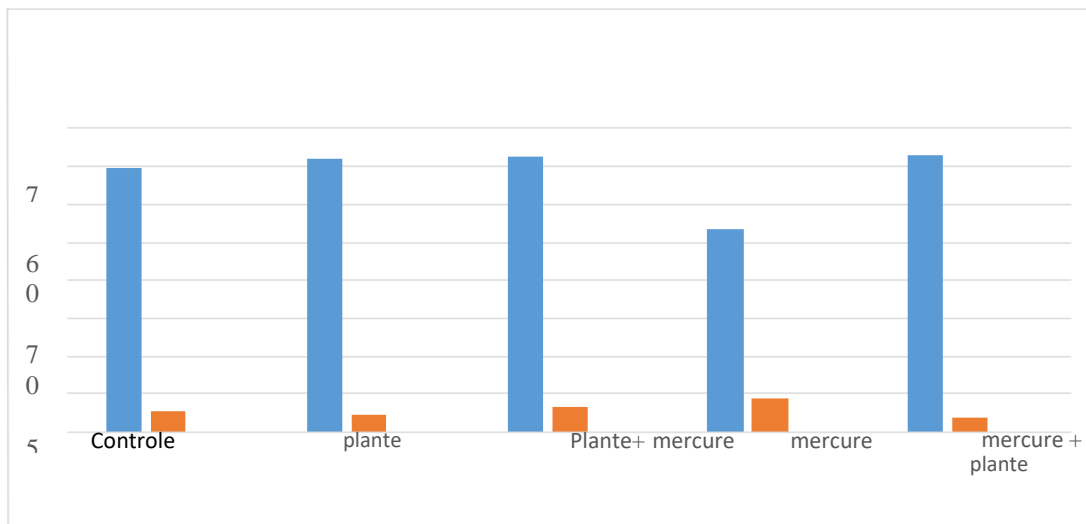


Fig.20.Variation du taux des proteines totales sanguine des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera

Triglycérides

Nos résultats ont montré que la plante n'avait aucun effet sur les niveaux de triglycérides. Les résultats ont démontré qu'il n'y avait pas de différence dans les niveaux de triglycérides entre les groupes de rats femelles $P > 0.05$ (Fig21).

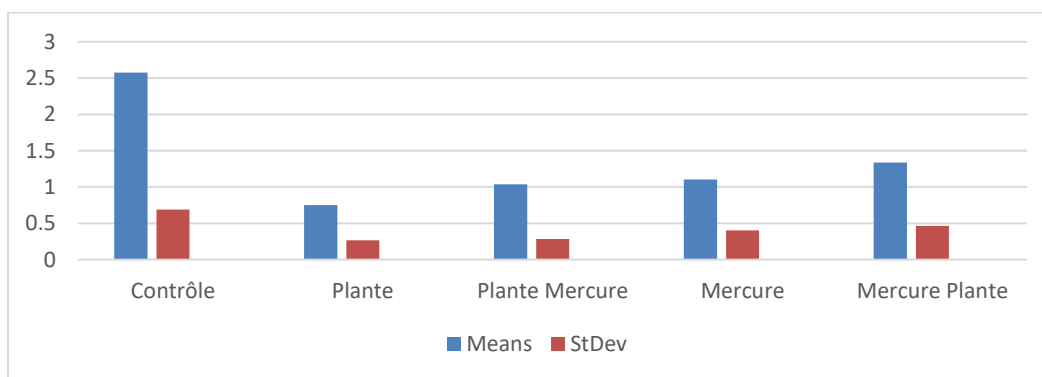


Fig.21.Variation du taux des triglycérides sanguine des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera

3.1.14. Phosphatase Alcaline

Les résultats de l'analyse biochimique du niveau de phosphatase alcaline montrent qu'il existe une différence significative entre les groupes de rats femelles traités pendant 20 jours avec du chlorure de mercure, la plante *C. procera*, Plante *C. procera* + mercure et Plante.*C. procera* + mercure $P 0,000 < 0,05$. Nos résultats ont montré que le chlorure de mercure provoque une diminution du niveau de phosphatase alcaline chez les rats femelles. En fait, nous avons trouvé une différence dans le niveau de phosphatase alcaline dans les groupes traités avec du chlorure de mercure vs. Usine + mercure, chlorure de mercure vs. mercure + usine, chlorure de mercure vs. usine, chlorure de mercure vs. témoin (Fig 22).

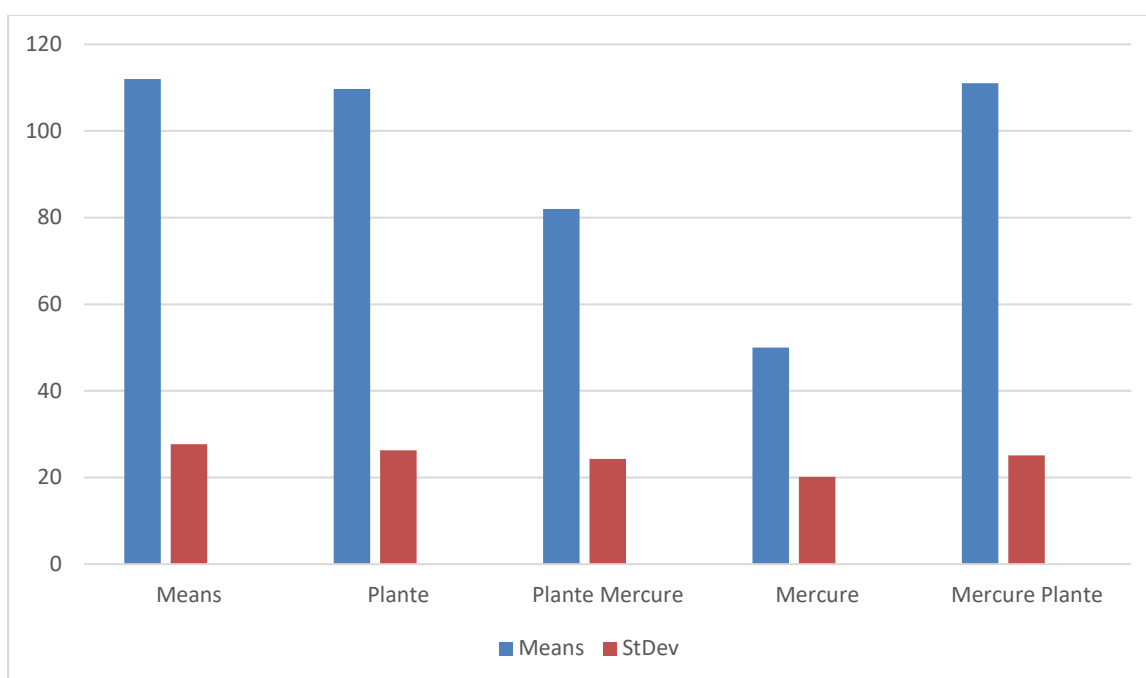


Fig.22.Variation du taux de la phosphatase alcaline sanguine des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20 mg/kg) et la plante *Calotropis Procera*

3.1.15. Acide Urique

Selon nos résultats, l'administration de chlorure de mercure par voie intrapéritonéale à raison de 0,20 mg/kg de poids corporel pendant une période de 20

jours a provoqué une diminution très significative de l'acide urique chez les rats femelles. La plante calotropis procera a corrigé les taux d'acide urique chez les rats femelles. Les résultats de l'analyse biochimique du taux d'acide urique montrent qu'il existe une différence significative entre les groupes de rats femelles traités pendant 20 jours avec du chlorure de mercure, la plante C. procera, Plante C. procera + mercure et Plante. C. procera + mercure $P 0,005 < 0,05$. Le test de tukey multi-comparaison a montré qu'il existe une différence entre le groupe mercure vs. témoin, mercure vs. plante, mercure vs. plante + mercure, mercure vs. plante + mercure (Fig23).

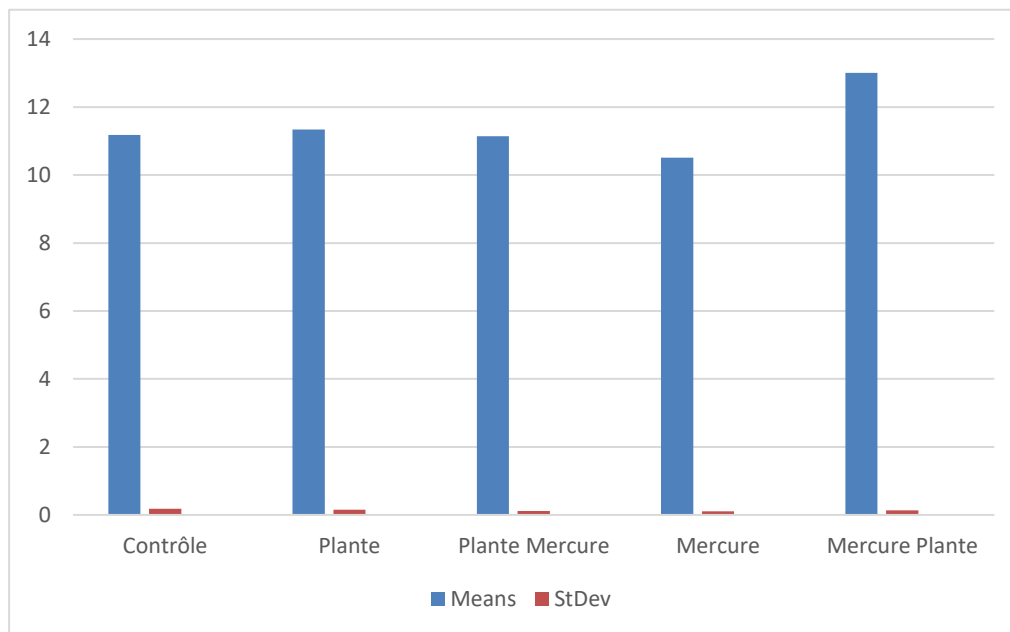


Fig.23.Variation du d'acide urique sanguine des rats femelles après administration du HgCL2 (0,20 mg/kg) et la plante Calotropis Procera

3.1.16. Bilirubine Totale

Nos résultats ont démontré que la plante n'avait aucun effet sur les niveaux de bilirubine totale. Entre le groupe de rats femelles $P = 0,632$. $P > 005$ (Fig 24).

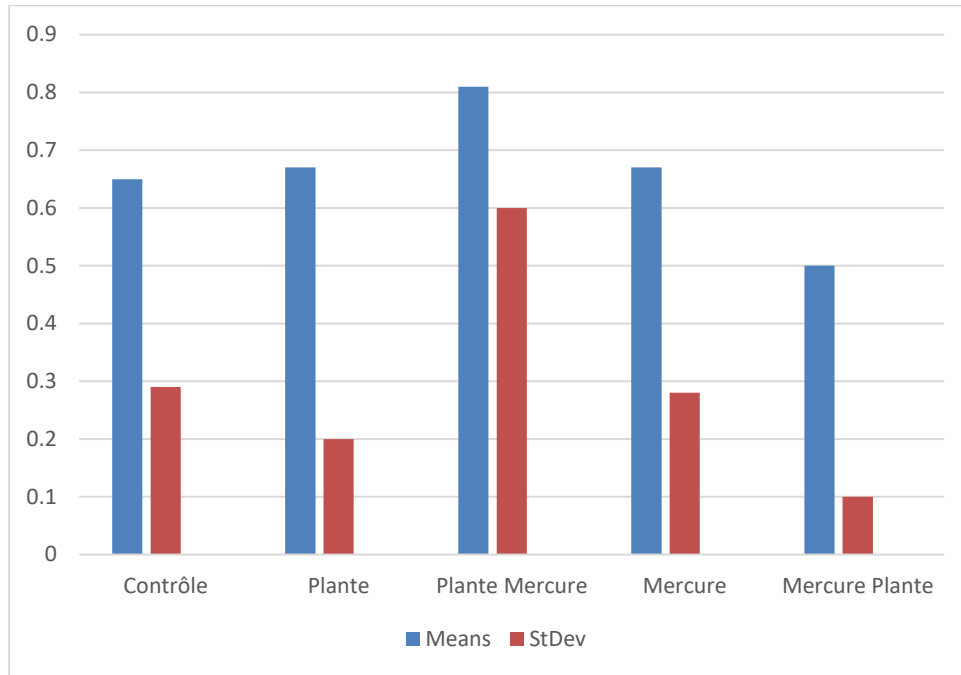


Fig.24. Variation du taux de la bilirubine totale des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20 mg/kg) et la plante *Calotropis Procera*

3.1.17. Bilirubine Directe

Nos résultats ont démontré que la plante n'avait aucun effet sur les niveaux de bilirubine totale. Entre le groupe de rats femelles $P = 0,140$. $P > 005$ (Fig 25).

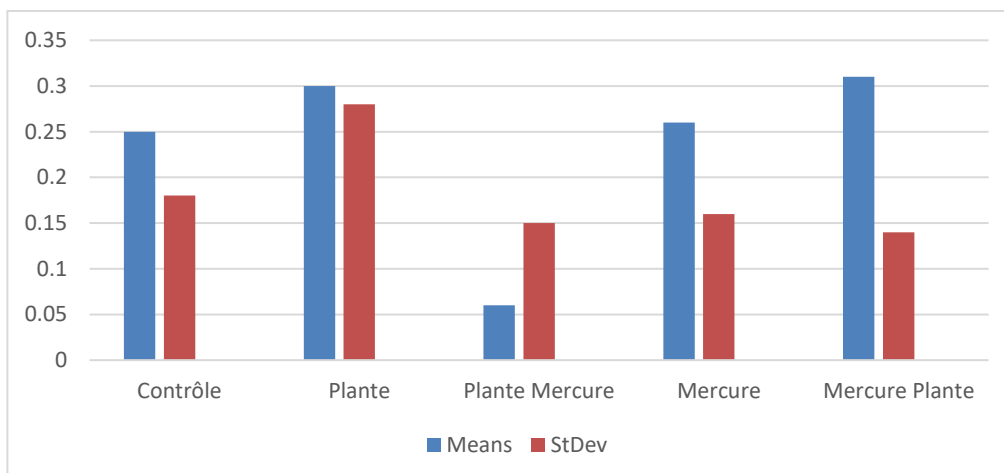


Fig.25. Variation du taux de la bilirubine directe des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20 mg/kg) et la plante *Calotropis procera*

3.1.18. Bilirubine indirecte

Nos résultats ont démontré que la plante n'avait aucun effet sur les niveaux de bilirubine totale. Entre le groupe de rats femelles $P = 0,120$. $P > 005$ (Fig. 26).

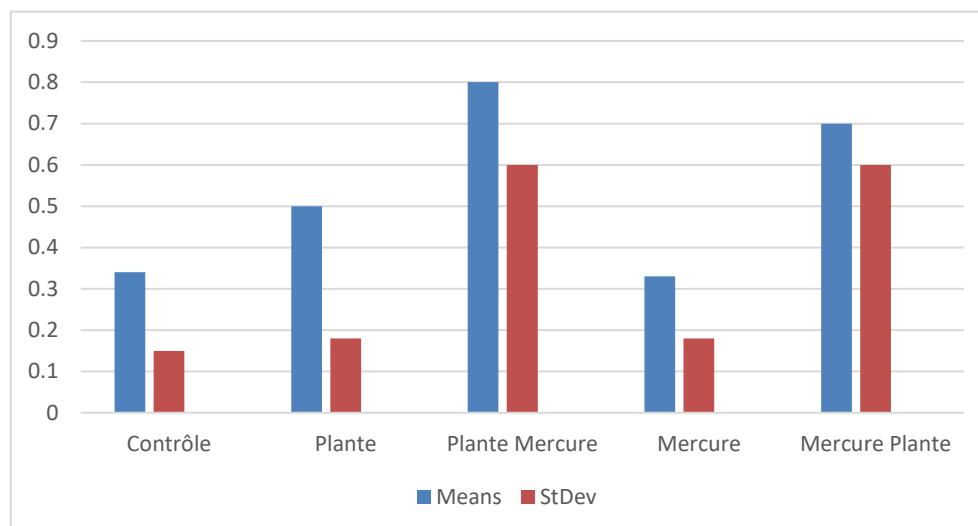


Fig.26.Variation du taux de la bilirubine indirecte des rats femelles après administration du HgCL₂ (0,20 mg/kg) et la plante *Calotropis procera*

3.1.19. Caractéristique Biochimique des Rats Males

Pour déterminer les caractéristiques des paramètres biochimiques plasmatiques des rats mâles, nous avons calculé pour chaque lot traité et lot témoin la moyenne arithmétique, l'écart type, et la valeur minimum min et maximum pour chaque variable de poids. Les résultats relatifs à cette analyse sont donnés dans le tableau suivant (Tab10).

Tableau 10 : Variation de la concentration plasmatique d'urée, de glycémie, d'albumine sanguine, de créatinine sanguine, de cholestérol total, de protéines sériques totales, de triglycérides, d'acide urique, de phosphatase alcaline, de bilirubine totale, de bilirubine directe et indirecte chez les rats mâles témoins ; traité par la plante ; plante + mercure, mercure et mercure + plante.

Paramètres	Groups	Duration 20 days
Urée	Contrôle	12.58±13.9249
	Plante	15.41±19.58

	Plante+ chlorure de mercure	14.66±15.796
	mercure	16.16±17.25
	Chlorure de Mercure+ plante	14.66±16.72
Glycémie	Contrôle	25.25±40.7255
	Plante	15.5833±23.6315
	Plante+ chlorure de mercure	29.25±37.4363
	Chlorure de Mercure+ plante	22.5±30.7172
Albumine	Contrôle	24.0833±17.1648
	Plante	28.1818±18.9832
	Plante+ chlorure de mercure	22.4444±14.2751
	mercure	16.8333±14.0054
	Chlorure de Mercure+ plante	27.2727±21.378
Créatinine	Contrôle	4,000±8,290
	Plante	4,500±7,150
	Plante+ chlorure de mercure	6,000±9,000
	mercure	2,750±4,000

	Chlorure de Mercure+ plante	6,300± 10,000
Cholestérol Totale	Contrôle	0,710 ± 1,560
	Plante	1,3800 ± 1,5300
	Plante+ chlorure de mercure	1,2000 ± 1,5500
	mercure	1,2000 ± 1,5500
	Chlorure de Mercure+ plante	2,570 ± 6,030
Protéines Totales Sérique	Contrôle	70,00 ± 79,00
	Plante	76,40 ± 86,00
	Plante+ chlorure de mercure	77,00 ± 85,00
	mercure	44,00 ±60,60
	Chlorure de Mercure+ plante	70,60 ±86,00
Triglycérides	Contrôle	0,6200±1,0900
	Plante	1,0100±1,3000
	Plante+ chlorure de mercure	1,0300±1,6100
	Mercure	1,520 ±3,500
	Mercure+ plante	0,900 ±1,940
Acide urique	Contrôle	9,290 ±12,500
	Plante	10,000±13,000
	Plante+ chlorure de mercure	9,000±12,000
	mercure	3,000±6,000
	Chlorure de Mercure+ plante	12,000±14,500
Alcaline Phosphatase	Contrôle	160,1 ± 293,2
	Plante	80,7 ± 199,0
	Plante+ chlorure de mercure	124,0 ± 240,0
	Mercure	45,00 ± 95,00
	Mercure+ plante	134,3 ±190,0
Bilirubine Totale	Contrôle	3,800±6,000
	Plante	4,400± 9,000
	Plante+ chlorure de mercure	0,45 ± 7,32
	mercure	11,000±16,000
	Chlorure de Mercure+ plante	1,70±9,01
Bilirubine Directe	Contrôle	1,500 ± 2,200
	Plante	0,350 ± 1,030
	Plante+ chlorure de mercure	0,200 ± 1,120

	mercure	2,700 ± 6,000
	Chlorure de Mercure+ plante	0,120 ± 0,990
Bilirubine Indirecte	Contrôle	0,1400± 0,3000
	Plante	0,300± 1,200
	Plante+ chlorure de mercure	0,1500±0,3000
	mercure	2,520± 3,240
	Chlorure de Mercure+ plante	0,190± 1,830

3.1.19.1. Cholestérol

Le chlorure de mercure s'est avéré augmenter les niveaux de cholestérol chez les rats mâles. La plante *calotropis procera* a rétabli les niveaux de cholestérol chez les rats mâles. L'analyse par Anova à sens unique a montré une différence entre les groupes $P < 0,000$. Le test de tukey a montré qu'il existe une différence entre les groupes : mercure vs. plante, mercure vs. mercure + plante, mercure vs. plante + mercure, mercure vs. contrôle. (Fig 27).

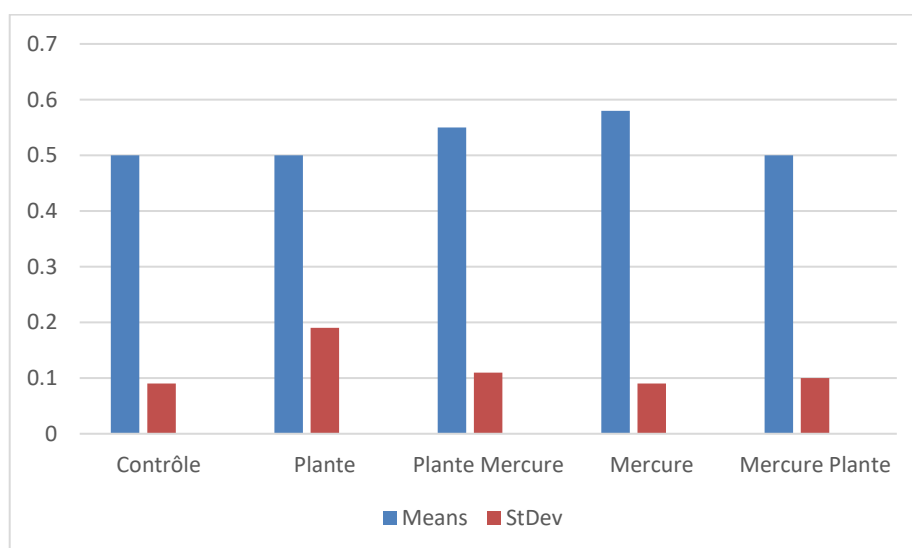


Fig 27. Variation du taux du cholestérol des rats males après administration du HgCL₂ (0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*

3.1.19.2. Créatinine

Les résultats de notre étude ont montré qu'il existe une différence de niveau de Créatinine entre les différents groupes de rats mâles $P = \text{valeur } 0,000 < 0,05$. Une analyse multi-comparaison par des tests tukey a montré qu'il existe une différence de niveau de créatinine entre le mercure + la plante vs. groupe mercure, mercure + plante vs. plante, mercure + plante vs. contrôle. Il existe également une différence entre plante vs. mercure, plante + mercure vs. mercure, plante + mercure vs. plante. (Fig 28).

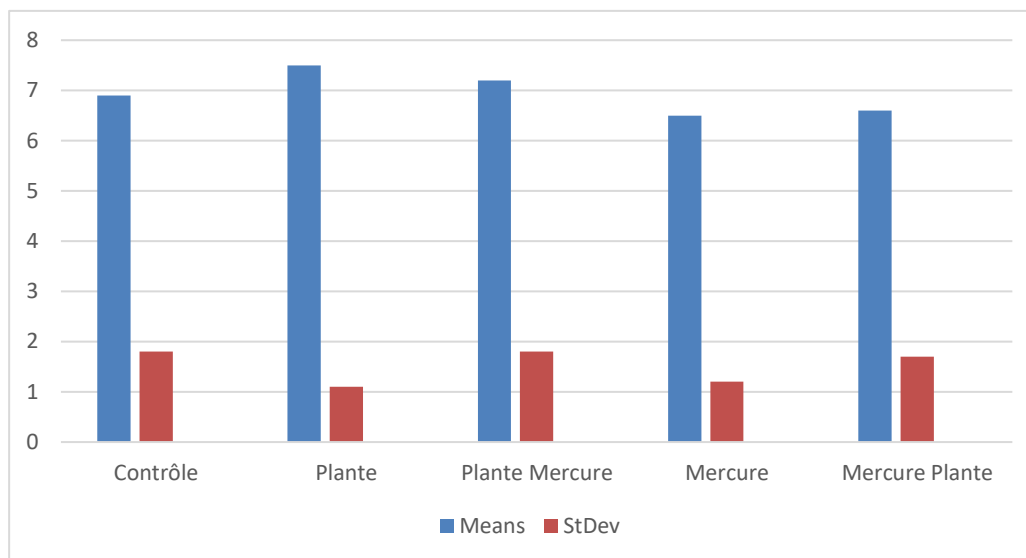


Fig 28. Variation du taux de créatinine des rats mâles après administration du Hg_2CL_2 (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera

3.1.19.3. Urée

Les résultats ont montré que le chlorure de mercure provoquait une baisse des taux d'urée dans le sang. Nos résultats ont démontré une différence significative dans le niveau d'urée sanguine entre les différents groupes de rats mâles $P = 0,000 < 0,005$. L'analyse tukey a démontré qu'il existe une différence dans le niveau d'urée entre le groupe plante vs. mercure, végétal et mercure + végétal. (Fig 29).

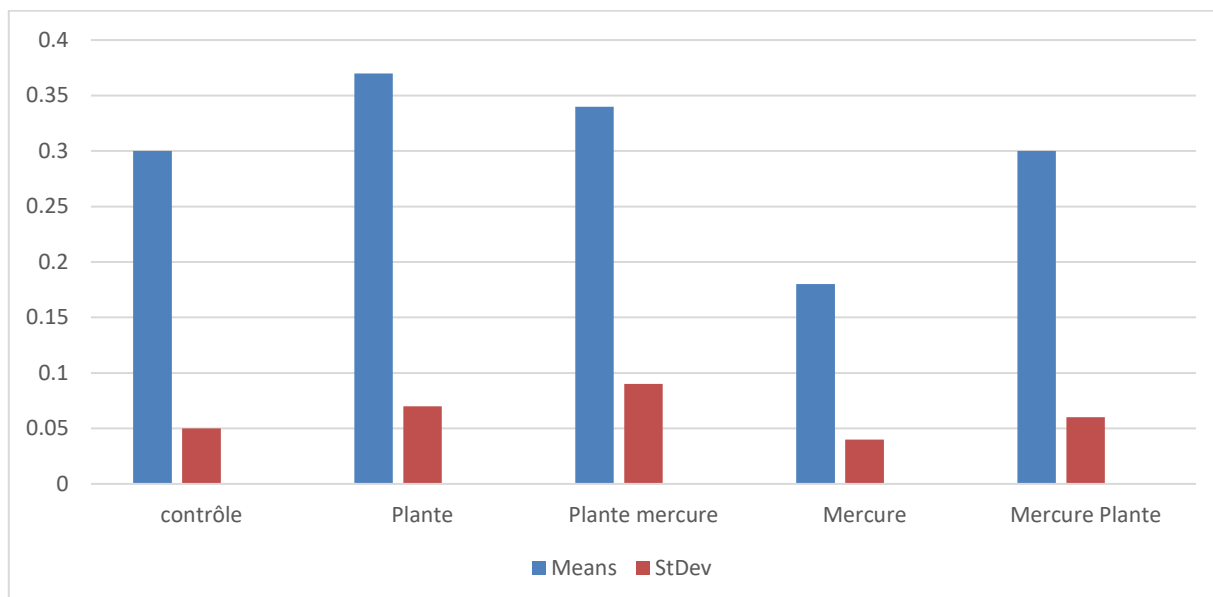


Fig 29. Variation du taux d'urée des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*

3.1.19.4. Acide Urique

Nos résultats montrent que l'administration intrapéritonéale de chlorure de mercure à raison de 0,20 mg/kg de poids corporel sur une période de 20 jours a provoqué une diminution très significative de l'acide urique chez les rats mâles est une différence significative entre les différents groupes de rats mâles $p = 000 < 005$. Des analyses statistiques multi-comparaisons par test de tukey ont démontré les différences suivantes : mercure + plante vs. mercure, plante vs. mercure, témoin vs. mercure, plante + mercure mercure, mercure + plante vs. plante + mercure (Fig 30).

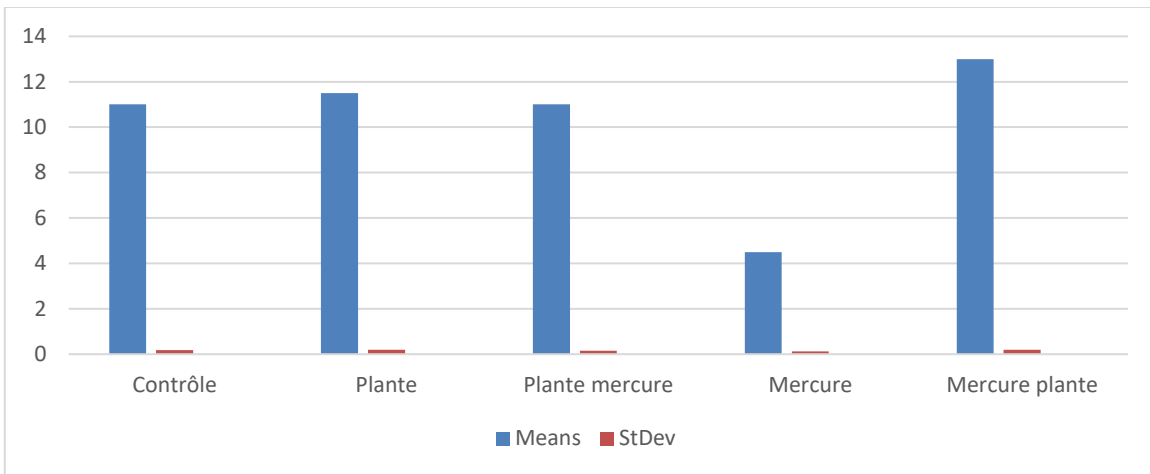


Fig 30. Variation du taux d'acide urique des rats mâles après administration du Hg₂CL₂(0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*

3.1.19.5. Triglycérides

Le résultat de l'analyse biochimique des triglycérides chez le rat mâle démontre que le chlorure de mercure a augmenté la TG. Il existe une différence entre les groupes $P=000$ $P<0,05$. Le test de tukey démontre la différence entre mercure vs. contrôle, mercure vs. plante, mercure vs. plante mercure, mercure vs. mercure plante. Le groupe des rats mâles qui a reçu l'extrait de *calotropis procera* a une teneur en TG significativement réduite par rapport au rat mâle du groupe mercure. Fig.31.

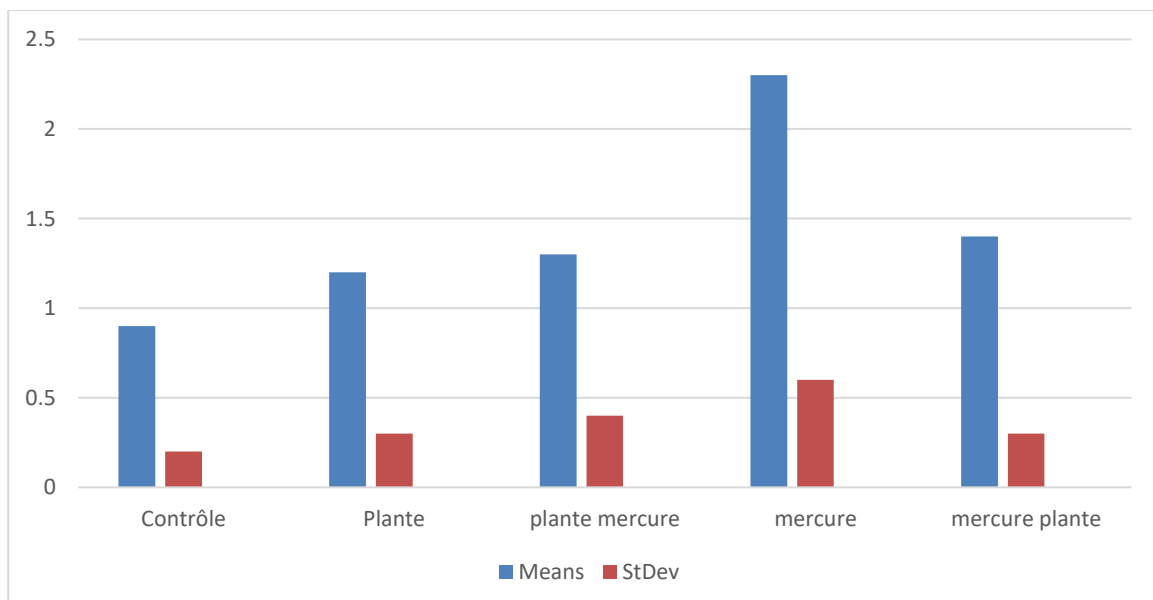


Fig 31. Variation des triglycérides des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*.

3.1.19.6. Bilirubine Totale

Les résultats montrent que le niveau de bilirubine totale est faible chez les rats mâles traités au chlorure de mercure. Le *Calotropis procera* a corrigé le niveau de bilirubine totale. Les analyses du taux de bilirubine par ANOVA à sens unique ont démontré qu'il existe une différence significative entre les différents groupes de rats mâles $p = 0,000 < 0,005$. Des analyses statistiques multi-comparaisons par test de Tukey ont démontré les différences suivantes : mercure vs plante + mercure, mercure vs témoin, mercure vs mercure + plante, mercure vs plante (Fig 32).

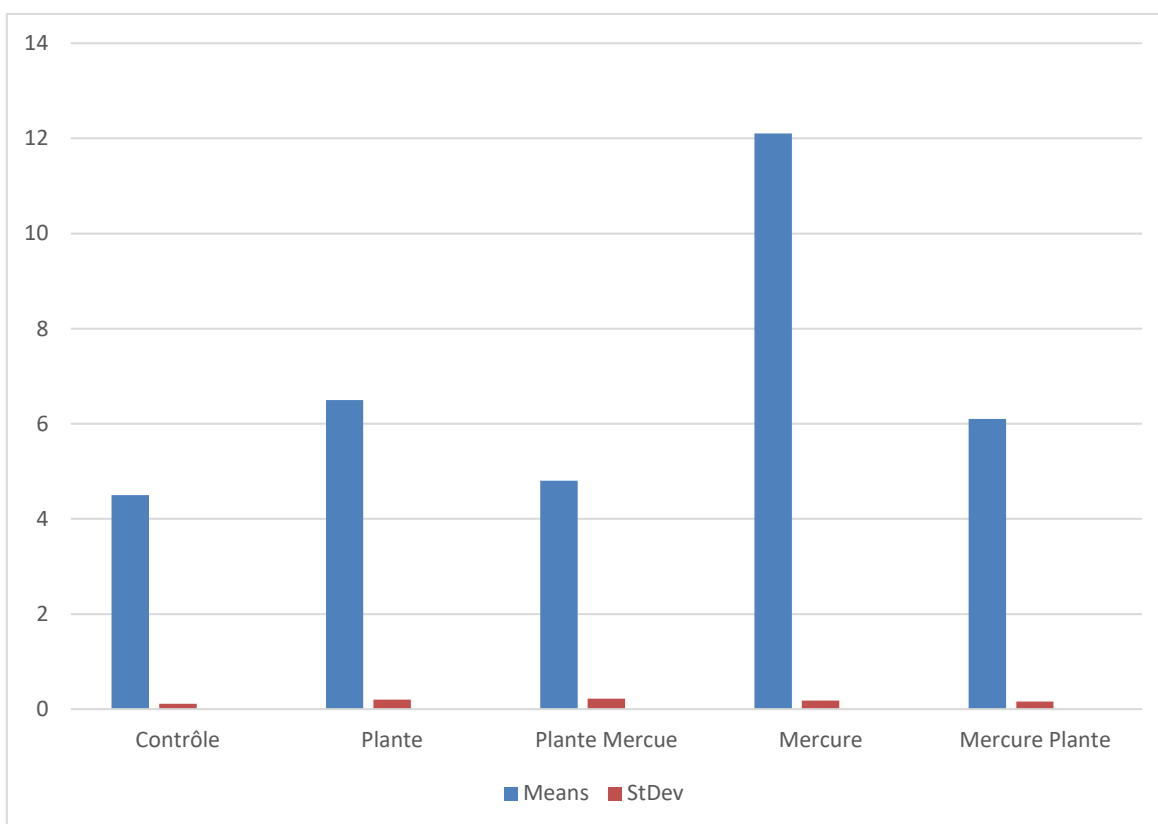


Fig.32. Variation du taux de la bilirubine totale des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*.

3.1.19.7. Bilirubine Directe

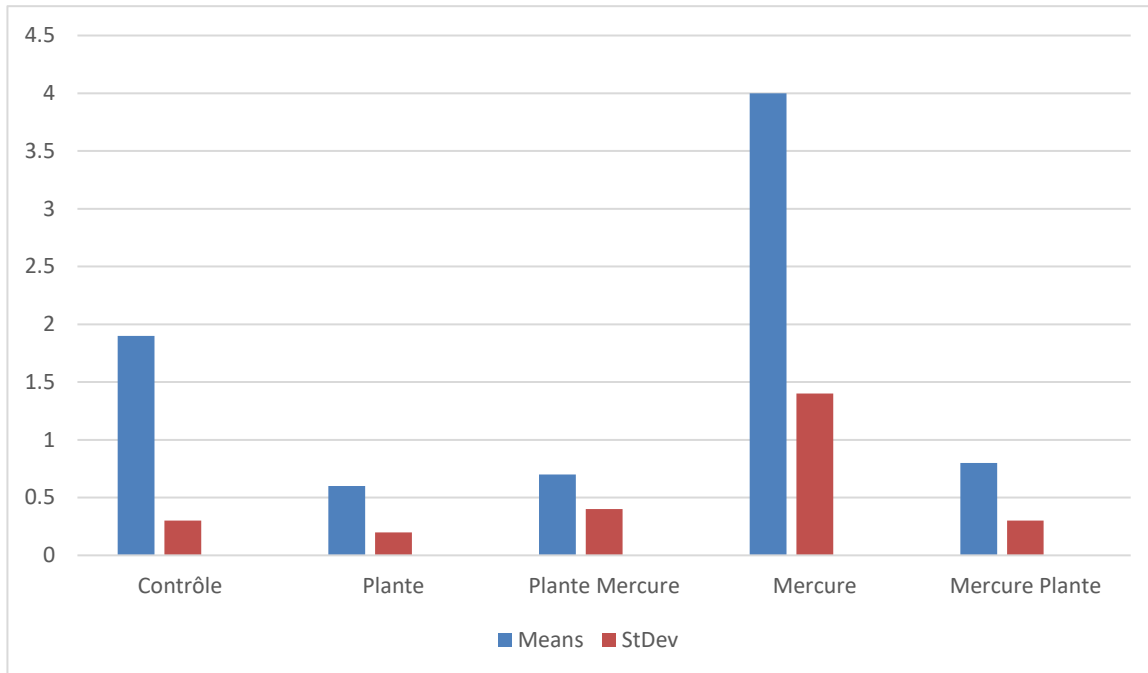


Fig.32. Variation du taux de la bilirubine directe des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis Procera.

3.1.19.7. Bilirubine indirecte

Les résultats quand a trouvé montrent que le niveau de bilirubine indirecte est faible chez les rats mâles traités avec du chlorure de mercure. Le calotropis procera a corrigé le niveau de bilirubine indirecte. L'analyse par anova à sens unique a montré une différence entre les groupes P 0,000. P<005. Le test tukey a montré qu'il existe une différence entre les groupes : mercure vs mercure + plante : mercure vs plante + mercure vs plante + mercure, mercure vs Contrôle (Fig33).

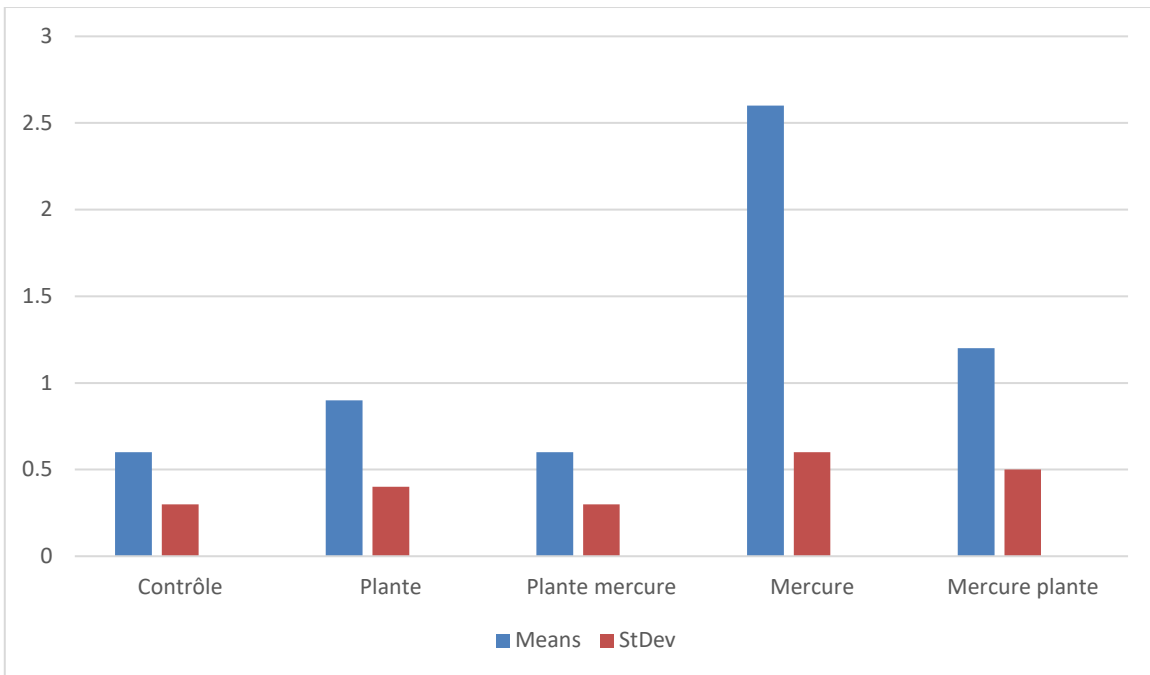


Fig.33. Variation du taux de la bilirubine indirecte des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*.

3.1.19.8. Protéine Sérique

Les résultats ont montré que le niveau de protéines sériques était réduit chez les rats traités au chlorure de mercure. Il existe une différence significative entre les différents groupes de rats mâles $p = 000 < 005$. La plante *calotropis procera* a corrigé le niveau de protéines sériques. Les analyses statistiques multi-comparaisons par test de tukey ont démontré les différences suivantes ; il y a une différence entre le groupe plante + mercure vs. mercure. Plante contre mercure, témoin contre mercure, mercure + usine contre mercure. Contrôle vs. mercure. Plante contre Mercure. Plante + Mercure, Mercure + Plante contre Mercure, Plante contre Contrôle. Usines de mercure vs. contrôle. On note également qu'il n'y a pas de différence entre plante + mercure vs. plante. Plante + mercure vs. mercure + plante. Plante + mercure vs. Plante (Fig. 34).

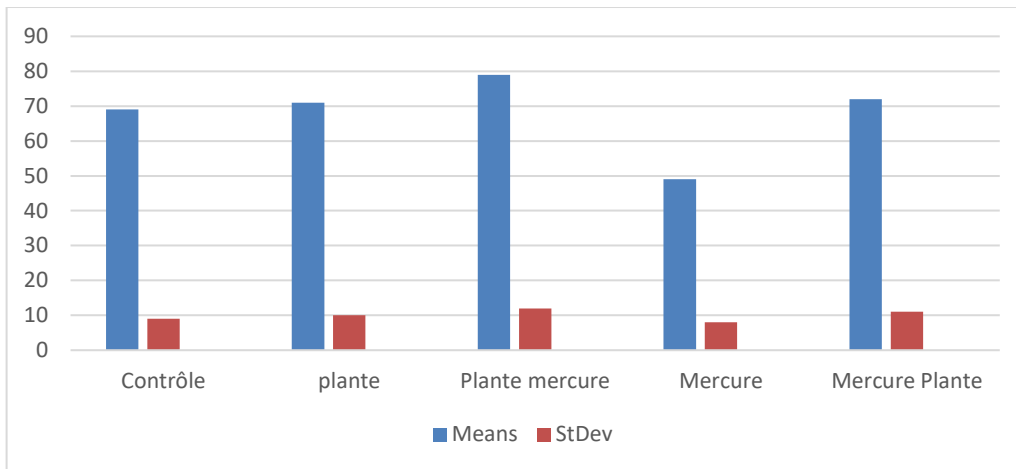


Fig.34. Variation du taux des proteines totaux des rats males après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis procera.

3.1.19.9. Phosphatase Alcaline.

Nos résultats ont montré que le chlorure de mercure provoque une baisse très significative du niveau de phosphatase alcaline chez les mâles. Des analyses du niveau de phosphatase alcaline par un sens anova ont démontré qu'il existe une différence significative entre les différents groupes de rats mâles $p = 000 < 005$. Les analyses statistiques multi-comparaisons par test Tukey ont démontré les différences suivantes : témoin vs. mercure, plante + mercure vs. mercure, mercure + plante, plante + mercure vs. mercure, témoin vs. plante, plante vs. mercure (Fig 35).

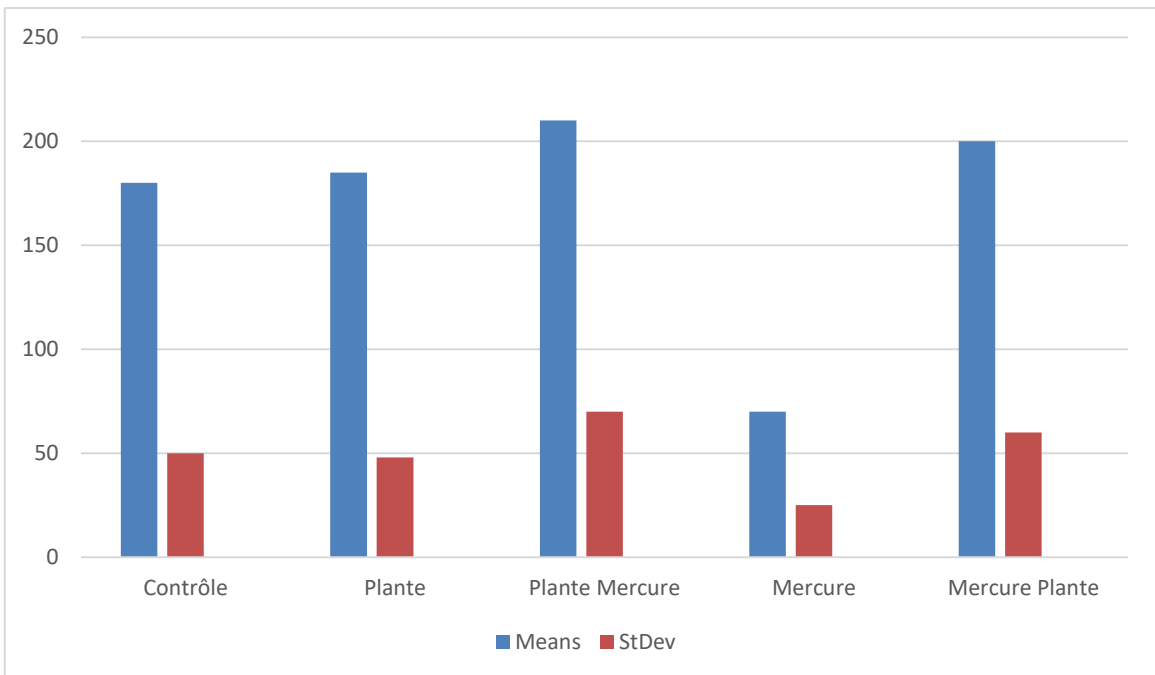


Fig.35. Variation du taux de la phosphatase alcaline des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la *Calotropis procera*.

3.1.19.10. Albumine

Des analyses de paramètres biochimiques tels que l'albumine ont montré qu'il existe une différence entre les groupes de rats mâles $P < 0,000$ $P < 0,05$ rats. Il existe une différence entre les groupes : plante vs. mercure, plante + mercure vs. mercure, mercure + plante vs. mercure, contrôle vs. mercure. (Fig 36)

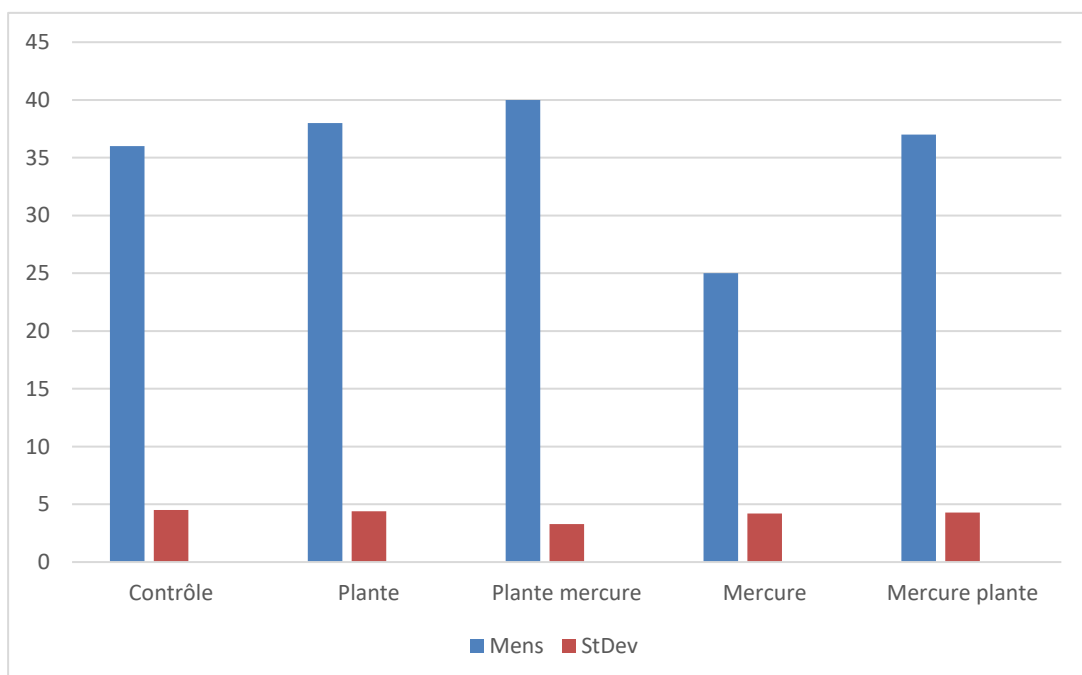


Fig.36. Variation du taux d'albumine des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis procera.

3.1.19.11. Glycémie

Nos résultats ont démontré une différence significative du taux de sucre dans le sang entre les différents groupes de rats mâles $P = 000 < 005$. Des analyses multi-comparaisons par test de tukey ont montré qu'il existe une différence entre les groupes : groupe mercure vs. contrôle, mercure vs **plante**, **mercure vs plante + mercure**, **mercure vs mercure + plante**. Il existe également une différence de taux de sucre dans le sang entre le groupe de rats mâles traités au mercure + plante et le témoin. (Figure 37).

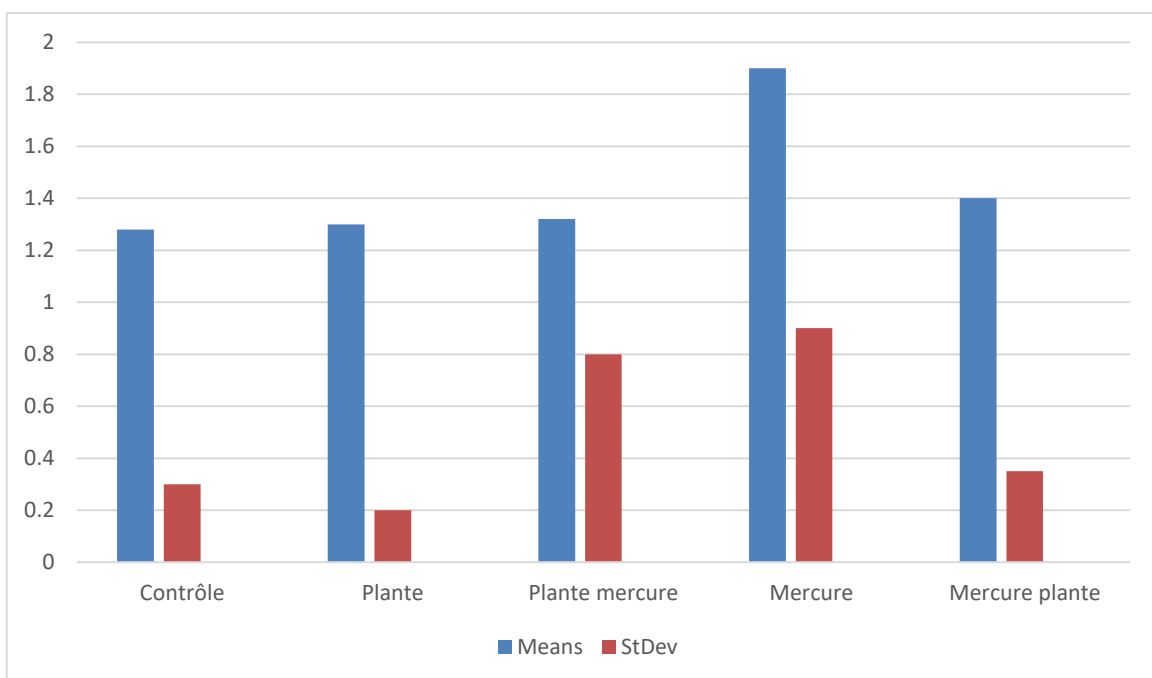


Fig.37. Variation du taux de glycémie des rats mâles après administration du Hg₂CL₂ (0,20mg/Kg) et de la Calotropis procera.

3.2. Etudes Histologique: Effet Protecteur de Calotropis Procera sur la Toxicité du Chlorure de Mercurique via la Voie Histologique et Hormonale

3.2.1. Effet du chlorure de mercure sur les variations et le niveau d'ACTH chez les rats mâles de la souche Wistar.

L'administration de chlorure de mercure par voie intrapéritonéale à 0,20 mg/kg de poids corporel sur une période de 20 jours a causé une diminution de la sécrétion de l'hormone ACTH dans le groupe de rats mâles. Selon nos résultats, le chlorure a provoqué une diminution de la sécrétion d'ACTH chez les rats mâles. Nos résultats ont démontré qu'il existe une différence significative entre les lots de rats traité au chlorure de mercure, la plante, Plante +mercure, Mercure + Plante.

Les valeurs $p < 0,006092$. Le résultat est significatif à $p < 0,05$ voir (fig.3).

3.2.2. Effet du chlorure de mercure sur les variations du niveau d'ACTH chez les rats femelles de la souche wistar

L'administration du chlorure de mercure par voie intrapéritonéale à 0,20 mg/kg de poids corporel sur une période de 20 jours a causé une diminution de la sécrétion de l'hormone ACTH dans le groupe des rats femelles. On a constaté que les niveaux d'ACTH augmentaient dans les groupes traités par *Calotropis procera*, *Calotropis procera* + mercure, mercure + *Calotropis procera*. Nos résultats ont montré qu'il y a une différence insignifiante entre les lots traités au chlorure de mercure. La valeur p est 0,00001. Le résultat est significatif à $p < 0,05$ (Fig. 38).

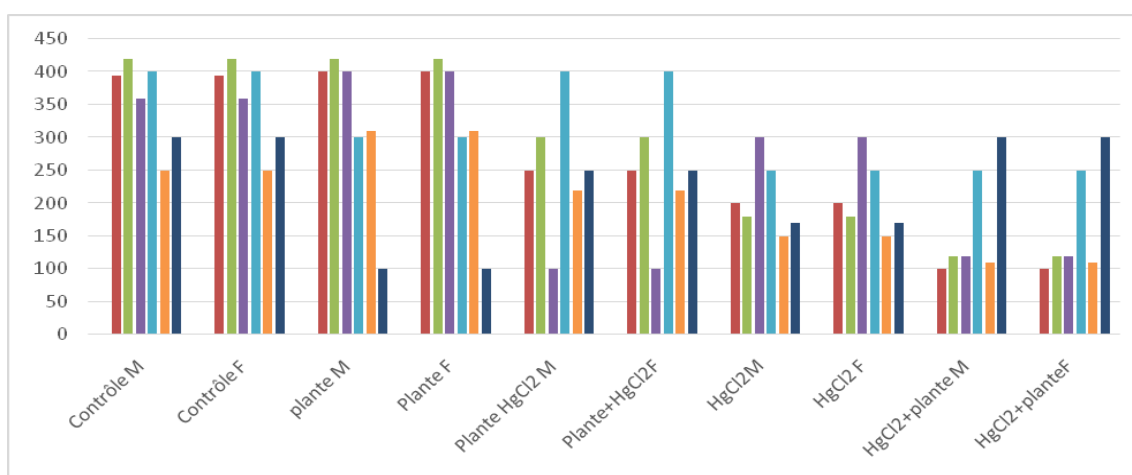


Figure 38 : Variation d'hormone AdrenoCortico-TrophicHormoneACTH des rats Male et female traités par plant *calotropis procera*; *Calotropis procera*+ chlorure de mercure, chlorure de mercure + *calotropis procera*.

NS (significant difference $P < 0, 05$)

3.2.3. Etude histologique du rein des rats mâles et femelles

Les résultats de l'étude histologique du rein des rats femelles contrôle montre un parenchyme rénal normal (Fig2). L'Histologie d'une coupe des reins des rats mâles traité par le chlorure de mercure montre que les reins sont de structure normale avec augmentation de la cellularité glomérulaire. Chez les rats traités au chlorure de mercure + plante calotropis procera, les rats traité par la plante calotropis procera et le groupe des rats traité par la plante calotropis procera + mercure les reins sont de structure normale. D'après les résultats de l'histologie du rein des rats mâles contrôlent ; les reins sont de structure normale. Par ailleurs l'histologie des reins des rats femelles du groupe mercure montre une augmentation de la cellularité glomérulaire et une congestion vasculaire. L'analyse microscopique du tissu rénal des rats mâles traités au chlorure de mercure+la plante Calotropis procera, a démontré un parenchyme rénal normal, légère ischémie glomérules avec un aspect focal pseudo-thyroïdien (limité) (Fig2). Chez les groupes des rats mâles traité par la plante calotrpis procera, plante calotropis+ chlorure de mercure les reins sont de structure normale.

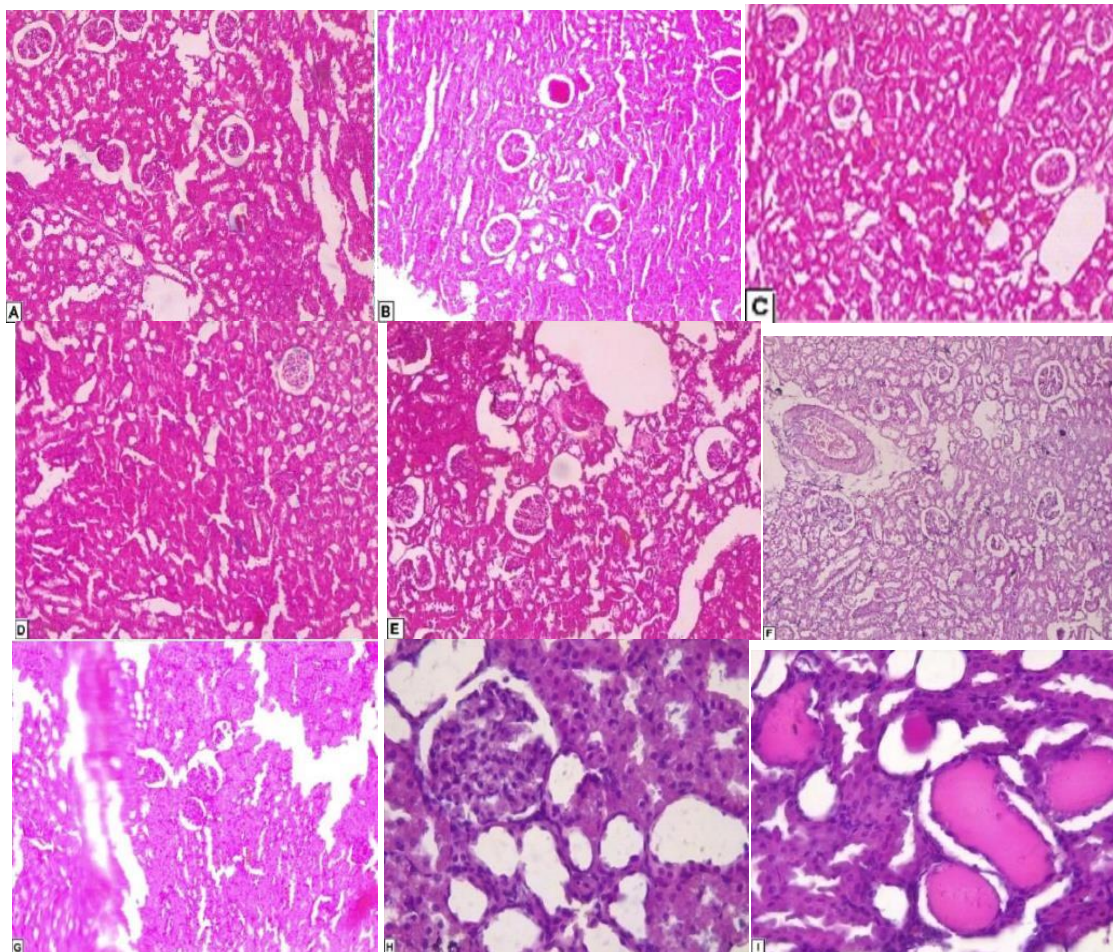


Fig.39. Coupe Histologique des Reins des Rats Males et Femelles

A – Coupe histologique du rein de rat femelle contrôle, parenchyme rénal normal ; **B** – Coupe histologique du rein de rat mercure, parenchyme rénal normal et légère augmentation de la cellulose glomérulaire ; **C** – Coupe histologique de plante rénale de rat femelle + mercure, parenchyme rénal normal ; **D** – Coupe histologique du mercure du rein de rat femelle + Plante, Parenchyme rénal normal ; **E** – Coupe histologique de plante rénale de rat femelle, parenchyme rénal normal ; **F** – Coupe histologique du rein témoin du rat mâle, parenchyme rénal normal ; **G** – Coupe Histologique du Rat Mâle Mercure, Légère augmentation de la cellularité glomérulaire, congestion vasculaire rénale ; **H** – Coupe Histologique Rat Mâle Mercure + Plante, Parenchyme rénal normal. Glomérules légèrement ischémiques. Aspects pseudo-thyroïdiens très focaux (limités) ; **I** – Coupe histologique mercure de rat mâle, légère augmentation de la cellularité glomérulaire, congestion vasculaire rénale

3.2.4. Etude Histologique du Foie des Rats Mâles et Femelles

L'étude histologique d'une section du foie des rats femelles montre un parenchyme hépatique de morphologie subnormal. L'histologie d'une section du foie des rats femelle traités par chlorure de mercure montre une dilatation des sinusoides hépatiques et congestion vasculaire. Chez les groupes des rats femelles traités par le chlorure de mercure+ plante calotropis, plante calotropis, plante calotropis+mercure le parenchyme hépatique est de structure subnormale. L'histologie d'une section du foie des rats mâles contrôle, montre un parenchyme hépatique de morphologie subnormal. L'histologie d'une section du foie des rats mâles traités par le chlorure de mercure chlorure, montre une stéatose macro-vacuolaire diffuse. L'Histologie d'une section des reins des mâles rats traités par la plante+ chlorure de mercure montre une stéatose médio-vacuolaire péri centro-lobulaire. On a observé que la plante calotropis a réduit les foyers de stéatoses au centre. Cependant chez les groupes des rats mâles traités par le chlorure de mercure + plante, l'histologie d'une section du foie montre des stéatoses macro-vacuolar et micro-vacuolar, diffuse.

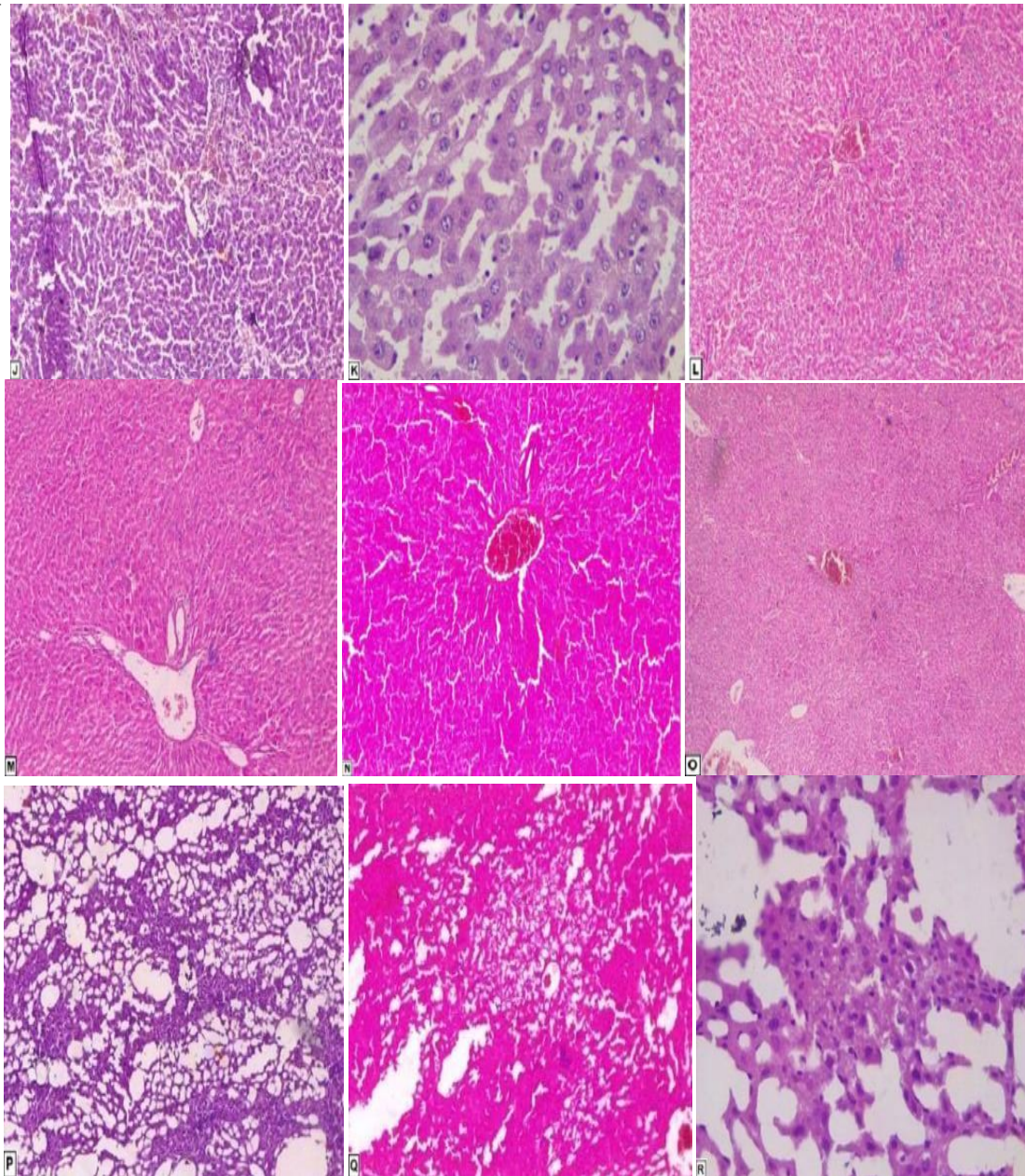


Fig.40. Coupe Histologique Du foie des Rats Males et Femelles

J-Coupe histologique du rat femelle contrôle, parenchyme hépatique de morphologie subnormal, congestion vasculaire. **K**-Coupe histologique du rat femelle traité avec le chlorure de mercure, dilatation des sinusoides hépatiques et congestion vasculaire, **L** coupe histologique de rat femelle traité par la plante et le chlorure de mercure, parenchyme hépatique subnormal, congestion vasculaire. **J**-Coupe histologique du rat femelle contrôle, parenchyme hépatique de morphologie subnormal, congestion vasculaire. **K**-Coupe histologique du rat femelle traité avec le chlorure de mercure, dilatation des sinusoides hépatiques et congestion vasculaire, **L**- coupe histologique de rat femelle traité par la plante et le chlorure de mercure, parenchyme hépatique subnormal, congestion vasculaire. **M**-Rats femelle traité par la plante et le chlorure de mercure, parenchyme hépatique de morphologie subnormale, congestion vasculaire, **N**-Rat femelle traité par la plante, parenchyme traité par la plante, parenchyme hépatique de morphologie subnormal, **P**-Coupe histologique du foie des rats males traité par le chlorure de mercure montre une stéatose macro-vacuolaire diffuse. **Q** – Coupe histologique de rat mâle traité avec la plante + chlorure de mercure, Foyers de stéatose médo-vacuolaire péri-centro-lobulaire. Dilatation des sinusoides hépatiques + aspects congestifs. On note la présence de foyers de stéatose médo-vacuolaire localisés péri-centrolobulaire. Discret péri-centro-lobulaire stéatose mi-vacuolaire. La plante a réduit la stéatose des foyes situées au centre. En outre, la plante protégeait le rat mâle contre la stéatose ; **R** – Coupe histologique rat mâle traité au chlorure de mercure + plante, macro-vacuolaire et quelque peu micro-vacuolaire, stéatose diffuse

3.3. Résultats de la partie neurologique.

3.3.1. Etude histologique du cerveau des rats mâles et femelles

L'étude microscopique du cerveau des rats mâles traités au chlorure mercure a démontré de nombreuses altérations cytoplasmiques et nucléaires avec des noyaux cellulaires densifiés à la chromatine laquée. « Fig39 ».

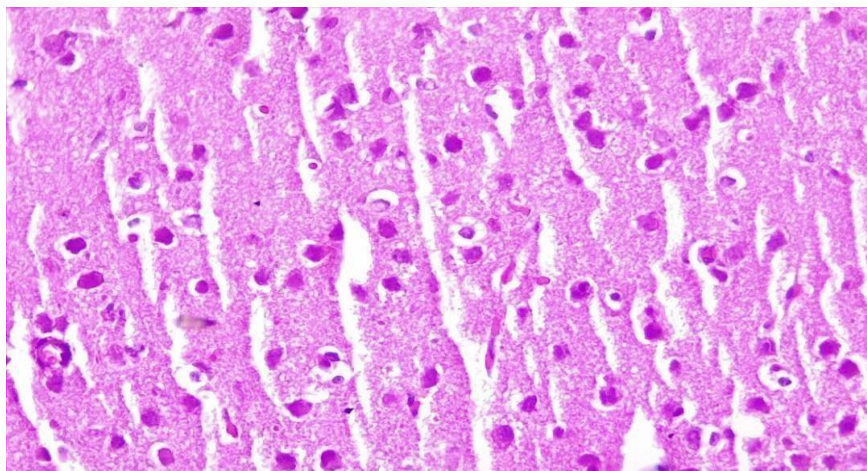


Fig 39. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats mâles traitée au Chlorure deMercure.

Les résultats de l'étude histologique des rats mâles traités par le chlorure de mercure et la plante calotropis procera ont démontré que la plante a protégé totalement le tissu cérébral contre la toxicité du chlorure de mercure.(Fig 40).

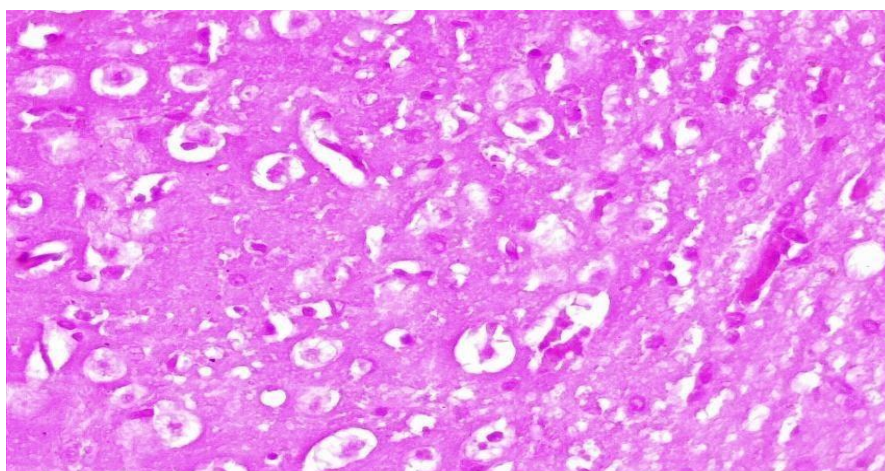


Fig 40. Coupe Histologique du tissu cérébrale des rats males traitée au Chlorure deMercure et la Plante Calotropis procera.

L'examen histopathologique des coupes du tissus cérébrale des rats males traités avec la plante calotropis procera et le chlorure de mercure a montré au sein de la couche plexiforme ou moléculaire quelque images de caryolyse sur fond d'œdème.

Ailleurs les contours cytoplasmiques sont respectés. Les noyaux cellulaires sont conservés «Fig 41 ».

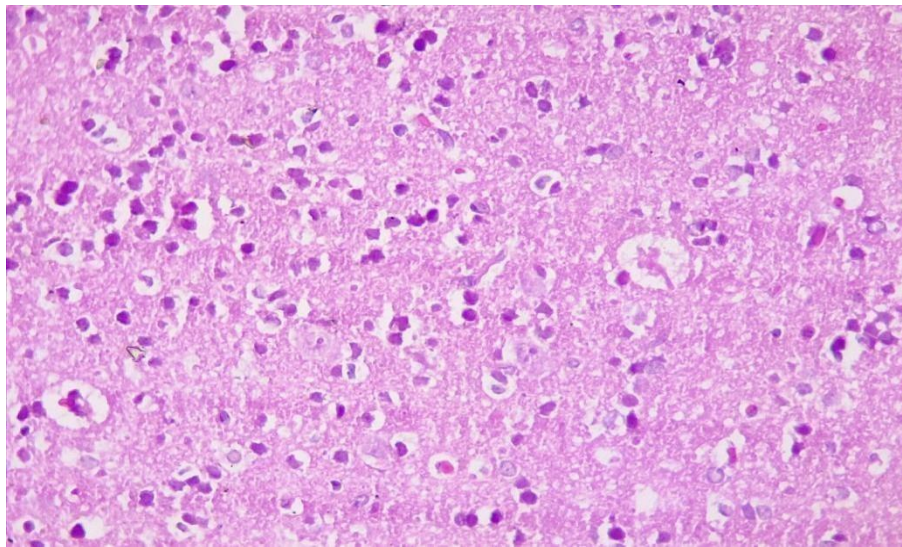


Fig 41. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats males traitée par la PlanteCalotropis procera et le chlorure de mercure

L'analyse histologique des coupes des tissus cérébraux des rats males traités avec la plantes calotropis procera montre que les noyaux sont bien conservés «Fig 42 ».

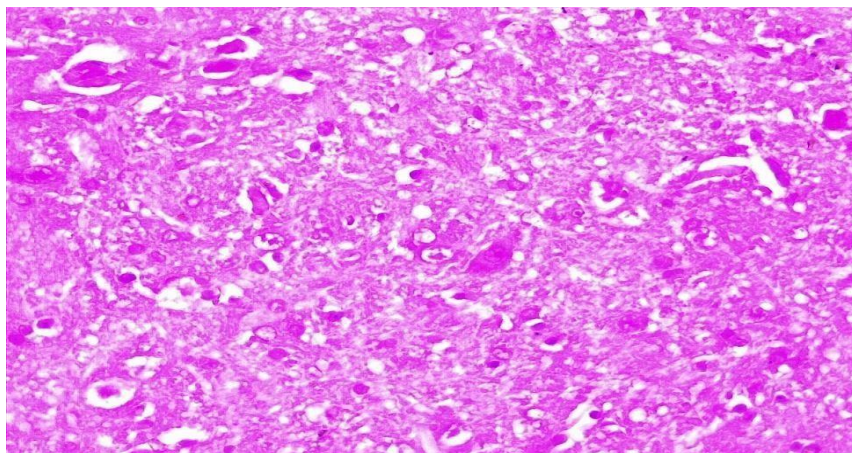


Fig. 42. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats males traités par la Plante Calotropis procera.

L'examen histologique du tissu cérébrale des rats males contrôle montre un tissu cérébrale de morphologie subnormale« Fig 43 ».

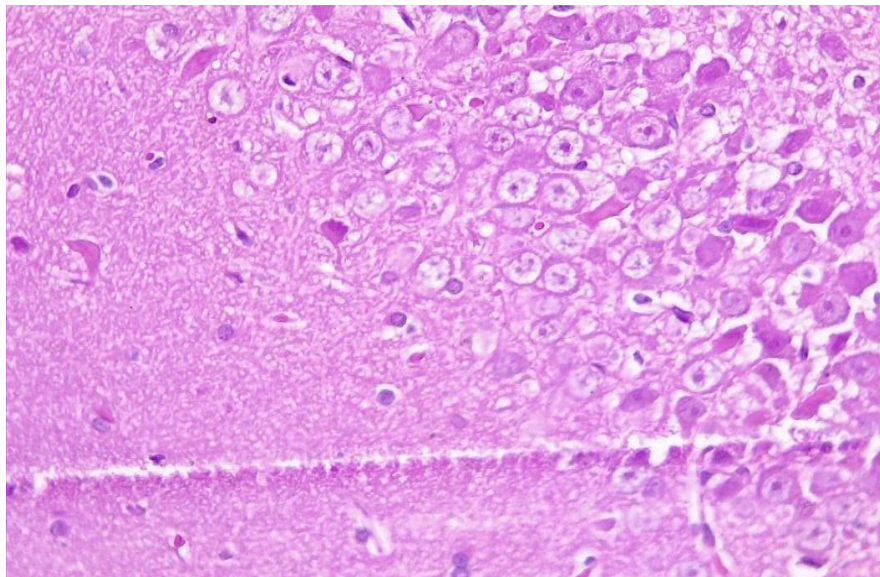


Fig. 43. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats males controle

L'investigation microscopique du tissu cérébrale des rats femelles traités par le chlorure de mercure a démontré des images éparées de pycnose nucléaire et d'assez nombreux noyaux cellulaires, à la chromatine laquée «Fig 44».

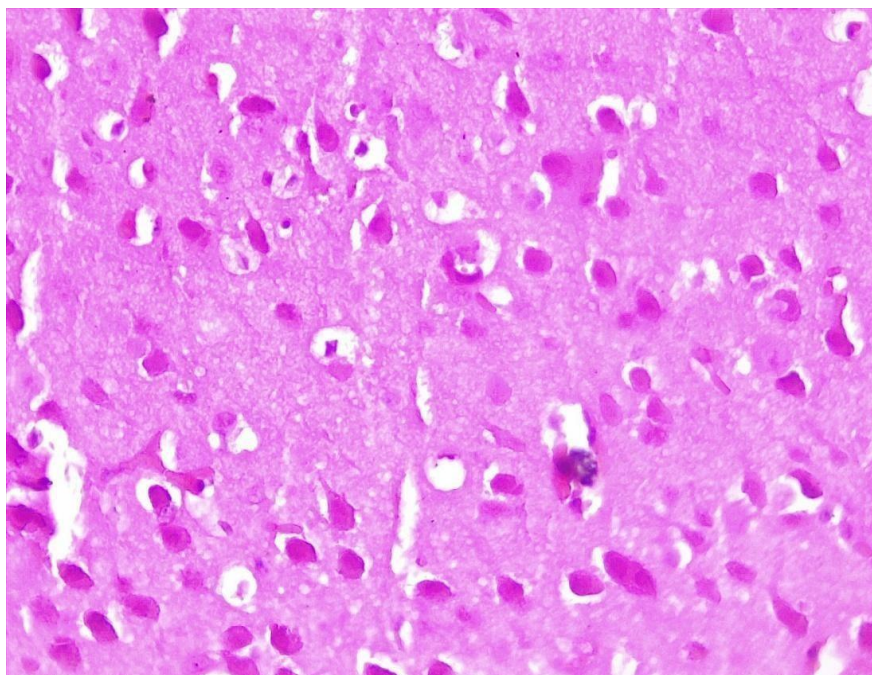


Fig 44. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats Femelles traitée par le Chlorure de Mercure.

L'analyse histo-anatomique du tissu cérébrale des rats femelles traités la plante calotropis procera et le chlorure de mercure « Fif 45 » a démontré des noyaux et des noyaux aux contours cytoplasmiques bien conservés.

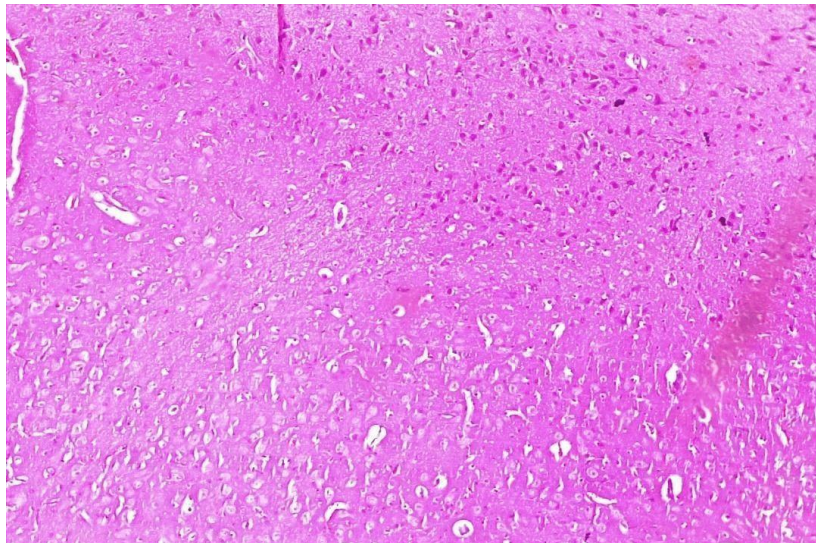


Fig 45. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats Femelles traitée au Chlorure de Mercure et la Plante Calotropis procera.

L'analyse microscopique du tissu cérébral nerveux des rats femelles traités par le chlorure de mercure et la plante calotropis procera a démontré des images de pycnose et de noyaux cellulaires densifiés, à la chromatine laquée. En d'autres endroits du tissu cérébral, les noyaux cellulaires sont bien conservés (Fig 46).

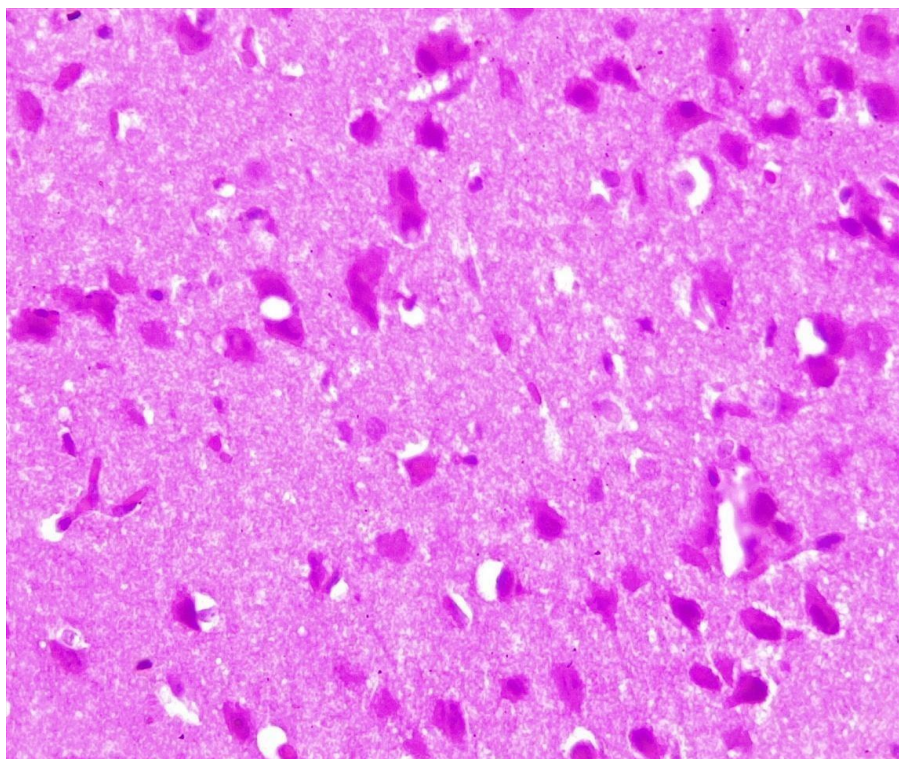


Fig 46. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats Femelles traitée au Chlorure de Mercure et la Plante Calotropis procera.

L'analyse histologique des coupes des tissus cérébraux des rats femelles traités avec la plante calotropis procera montre que les noyaux sont bien conservés Fig 47

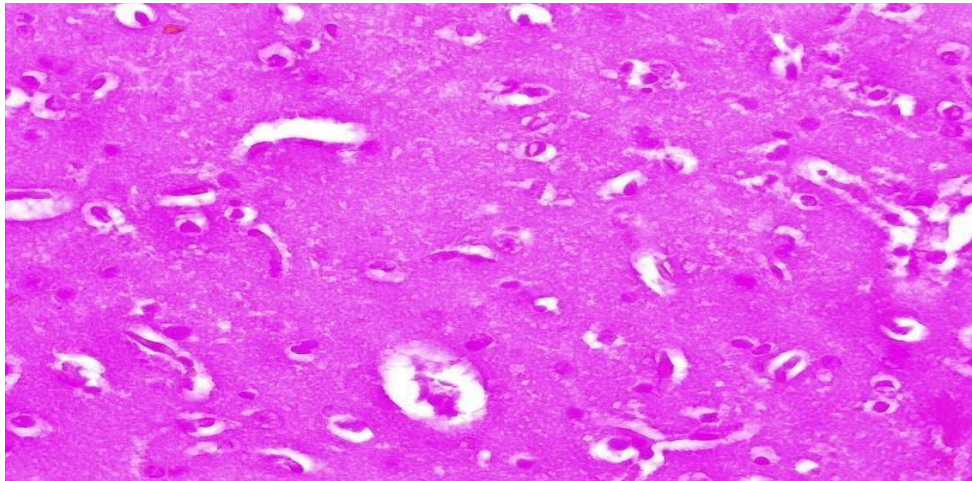


Fig.47. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats Femelles traitée au Chlorure de Mercure et la Plante Calotropis procera.

L'étude histologique du tissu cérébral des rats femelles contrôles montrent un tissu nerveux ou parenchyme cérébral, de morphologie subnormale (Fig. 48).

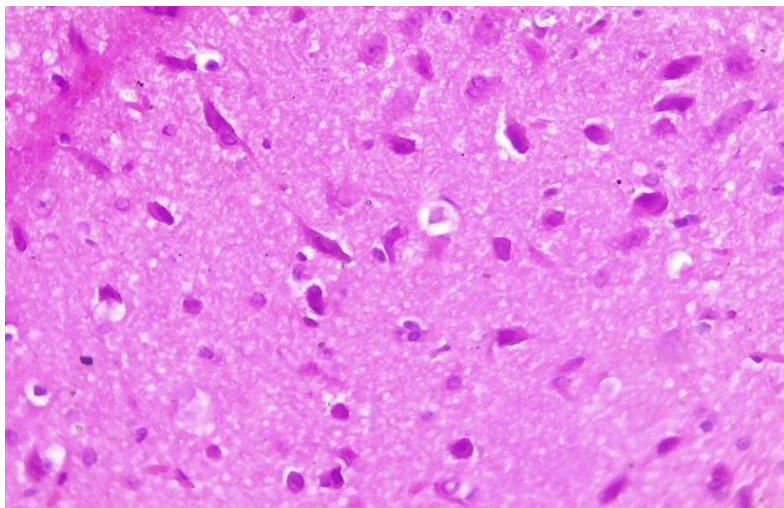


Fig. 48. Coupe Histologique du tissu cérébrale des Rats Femelles contrôles

3.1.2.2. Discussion des Résultats

3.1.22.1. Effets du chlorure de mercure et de la plante Calotropis Procera sur le poids des rats mâles et femelles

La présente étude a été réalisée pour étudier le rôle protecteur d'une plante médicinale du Sahara algérien calotropis procera vis-à-vis du chlorure de mercure. Ce

dernier est un métal toxique qui affecte le poids corporel et les fonctions majeures. Dans cette étude, on constate que le traitement de rats mâles et femelles avec du chlorure de mercure à une dose de 0,20 mg/kg pc affecte le poids corporel total. Les rats des deux sexes ont montré des signes de manque d'appétit et d'abstinence alimentaire. Les analyses statistiques d'Anova one way et tukey test mutli- comparaison ont démontré qu'il existe une différence entre le poids corporel des rats mâles et femelles traités avec la plante Calotropis Procera et celui des rats traités avec du chlorure de mercure. Les rats traités avec la plante calotropis procera ont montré un comportement vif avec un appétit élevé. Cela montre que C.Procera a influencé positivement le poids des rats mâles et femelles et a entraîné une amélioration du poids. La plante Calotropis Procera contient des composés comme l'azote, le potassium, le phosphore, le sodium, calcium, protéines et glucides (45) qui peuvent améliorer la prolifération de la microflore et augmenter la digestibilité et le poids (46). Ces éléments minéraux renouvellent l'énergie des cellules et stimulent l'appétit et la prise de poids. Par ces molécules, la plante Calotropis Procera a augmenté le poids chez les rats femelles et mâles et leur a donné plus d'énergie par rapport au groupe de rats traités avec chlorure de mercure. Cela montre que la plante Calotropis Procera peut être considérée comme un aliment efficace de qualité et non un aliment de quantité. Les glucides de la plante sont différents des glucides produits par le chlorure de mercure qui favorisent un environnement toxique pour les cellules. Cependant, les glucides calotropis fourniront des conditions favorables au développement et à l'activité cellulaire. Les molécules glucidiques du calotropis procera protègent contre la perte de poids du chlorure de mercure et procurent un gain de poids, de l'énergie et de la santé. D'autre part, la toxicité par le chlorure de mercure génère des glucides toxiques qui agissent négativement sur le poids. Une étude in vivo sur des souris a

révélé que les glycosides cardiaques du Calotropis Procera comme l'usharin offrait des effets hautement protecteurs contre la perte de poids observée chez les rats diabétiques administrés par Calotropis Procera. Cela montre que le Calotropis Procera contient moléculaires qui réduisent la toxicité du sucre dans le modèle de rat diabétique (47).

Effets du chlorure de mercure et de la plante Calotropis Procera sur le poids du foie des rats mâles et femelles.

Les résultats de cette étude ont démontré que le chlorure de mercure augmentait le poids du foie des rats mâles. L'augmentation du poids du foie des rats mâles est due à la stéatose macrovasculaire et microvasculaire observée dans les études histologiques de l'effet du chlorure de mercure sur les rats mâles. Rats mâles restauré le poids du foie. Le même résultat a également été observé dans l'étude histopathologique des tissus hépatiques des groupes traités par Calotropis Procera, (chlorure de mercure + Calotropis Procera) et (Calotropis Procera procera + chlorures de mercure). La Calotropis Procera joue un rôle important de la prévention contre HgCL₂ augmentation du poids du foie chez les rats mâles. Cette action de Calotropis Procera sur le poids du foie car il possède de fortes propriétés antioxydantes. Le poids du foie des rats femelles démontre que le chlorure de mercure induit la diminution du poids du foie. D'autre part, le poids du foie des rats femelles traités avec Calotropis Procera a été restauré. Les résultats de la présente étude démontrent que Calotropis Procera a un effet hépatoprotecteur potentiel sur les rats femelles et les rats mâles. Ameeta Argale et al 2010 ont également signalé que Calotropis Procera restaurait le poids du foie et le protégeait des dommages (48).

3.1.22.2 Effets du chlorure de mercure et de la plante Calotropis Procera sur le

poids des reins mâles et femelles

L'administration de chlorure de mercurique à 0,20 mg/pc chez les rats femelles et mâles a induit une augmentation significative du poids absolu et relatif des reins. Dans les groupes de rats mâles, le poids des reins est plus élevé que celui des femelles. Des études ont démontré que la différence de poids des reins chez les rats mâles et femelles est due à l'expression des transporteurs d'anions organiques Avoine. Par exemple, dans des études in vivo sur des modèles animaux d'obésité chez des rats mâles ont montré que le dysfonctionnement des transporteurs de l'avoine 3 entraîne un dysfonctionnement rénal (49). D'autres études sur des rats knock-out ont montré que l'avoine 1 capte plus de chlorure de mercure que l'avoine 3 (50). Études sur des rats traités avec du chlorure de mercure a montré qu'une faible expression des transporteurs d'Oat3 dans les membranes basales rénales peut être un mécanisme défensif développé par la cellule basale du membrane pour se protéger contre le mercure (51). En outre, d'autres études ont montré que l'expression des transporteurs Oat3 est plus élevée chez le rat mâle que chez la femelle (52). Ceci montre le rôle protecteur de l'Oat3 des reins chez le sexe mâle portent également des molécules de nucléotides cycliques AMP qui sont impliquées dans les fonctions du système reproducteur masculin. L'augmentation du poids des reins chez les rats mâles peut également être attribuée à l'AMP cyclique. Ces derniers s'expriment beaucoup plus chez le rat mâle que chez la femelle. La régénération des nucléotides de l'AMP cyclique est d'origine énergétique "ATP". Plus il y a de sucre, plus il y a d'ATP et moins il est libéré, plus les nucléotides d'AMP cycliques sont générés et plus le risque de cancer est grand. Ce dernier peut provoquer le diabète (53). Il a été découvert que les reins chez les hommes diabétiques présentaient un métabolisme anormal de l'AMP cyclique. nucléotides. Ce déséquilibre métabolique est apparu sur les glomérules par

un changement de diamètre et de poids. Reuben Chayoth, Sheldon M. Epstein et James B. Field, 1973 (54) ont découvert chez le rat que l'hormone glucagon stimule une augmentation de la concentration d'AMP cyclique. Le glucagon augmente le niveau de cette hormone dans les nodules hyperplasiques bénins et beaucoup plus malins. D'autres études ont montré dans le cancer du foie hyperplasique que le rein grossit aussi. Selon les résultats de ces études, il existe une relation entre les organes du corps humain, les reins et le sperme. Cela montre que lorsqu'un organe est touché, tous les organes sont touchés. Le lien entre ces organes est d'origine hormonale. Dans leur étude Pedro Cortes, Francis Dumler et al, 1981(54) ont trouvé que le changement de poids des reins est directement lié à une hormone glucagon. Le lien de cette hormone avec le système génital masculin est à l'origine de lésions rénales, et même certaines des cas de cancer comme le cancer du pancréas. Cette hormone, le glucagon, a longtemps été négligée par rapport à l'insuline mais c'est une molécule de vie dont le déséquilibre peut entraîner la perte d'une chaîne d'organe, le foie, les reins, le pancréas et le sperme. Cela s'applique également au chlorure de mercure connu pour son effet hyperglycémique. Il génère beaucoup d'énergie ATP qu'il empêche sa libération. Belfarhi et al, 2019 (55) ont constaté qu'à la suite d'un empoisonnement au chlorure de mercure il y a une accumulation de lipides dans le foie sous forme de stéatose macrovasculaire chez le rat mâle. Cela montre que le chlorure de mercure est capable de générer une toxicité à partir du glucose qu'il transforme en lipide et le stocke dans le foie. L'ATP non libéré par le glucose peut être transformé en messager cyclique AMP. En cas d'intoxication par le chlorure de mercure, il produit dans l'organisme une fièvre. Cette dernière tourne sur l'ADN du spermatozoïde et en même temps sur le mercure attaché à cet ADN.

3.1.22.3. Les Conséquences de la Fixation du Chlorure de Mercure

Le chlorure de l'ADN est sa dégradation en polynucléotide (ADN non fragmenté). Ce dernier agit mal sur les spermatozoïdes et les spermatozoïdes qui perdent leur viabilité. Le sperme contaminé par du mercure et de l'ADN non fragmenté passera dans le rein et provoquera une toxicité et une contamination des reins ; le résultat est un blocage des liquides. Dans les reins, les spermatozoïdes dont l'ADN est fragmenté et dont l'énergie et l'ATP n'ont pas été libérés dans l'ovocyte sont transformés en AMP messenger cyclique. Les reins vont agir d'une part en bloquant les tunnels d'excrétion et en bloquant un spermatozoïde contaminé à l'ADN fragmenté un état d'hypertrophie et une prise de poids.

3.1.23. Effets du chlorure de mercure et de la plante Calotropis Procera sur la biochimie

3.1.23.1. Paramètres des rats femelles

3.1.23.1.1. Urée sanguine rats mâles et femelles

Selon les résultats de notre étude, le traitement des rats mâles et femelles avec du chlorure de mercure provoque une diminution du taux d'urée dans le sang. Ces résultats sont en accord avec d'autres recherches qui ont rapporté que le chlorure de mercure abaisse également les taux d'urée dans le sang (56). Dans les groupes de rats femelles et mâles, les taux d'urée plasmatique ont été restaurés par la plante Calotropis Procera. Cela montre que le rôle protecteur du Calotropis Procera contre les perturbations du taux d'urée causées par le mercure chez les hommes et les femmes des deux sexes. Ces résultats sont en accord avec l'étude (57) qui a également constaté que Calotropis Procera protège les reins en maintenant des taux d'urée sanguins normaux. De plus, une enquête menée par une autre étude a conclu que Calotropis Procera contient un acide comme l'acide citrique qui peut réduire l'effet létal de l'urée (58). Acide urique Selon nos résultats, l'administration de chlorure de

mercure par voie intrapéritonéale à raison de 0,20 mg/kg de poids corporel pendant une période de 20 jours a provoqué une diminution très significative de l'acide urique chez les rats mâles et femelles. Des études ont montré que le chlorure de mercure provoque l'uricémie. L'acide pour se convertir en allantoiné et grâce à cette action abaisse les niveaux d'acide urique (57). Durante P, Romero F, et al, 2010 ont découvert que l'injection à des rats de chlorure de mercure et d'acide urique inhibe l'action du chlorure de mercure endommage les reins. Elle diminue la peroxydation des lipides rénaux, le signal de la nitrotyrosine, la créatinine sanguine et l'azote uréique du sang (BUN). Il a rééquilibré la concentration systémique en nitrates / nitrites (58). Cela montre le rôle important que joue l'acide urique dans le maintien de la fonction rénale. Cela montre le rôle important que joue l'acide urique dans le maintien de la fonction rénale. Nos résultats ont montré que le chlorure de mercure contribuait à la baisse des niveaux d'acide urique et que la plante *Calotropis Procera* rétablissait les niveaux d'acide urique. Cela montre que la plante *Calotropis Procera* joue un rôle important dans le maintien de niveaux normaux d'acide urique. La plante a un effet protecteur sur abaisser l'acide urique. La plante *calotropis procera* a corrigé les niveaux d'acide urique.

Glycémie des rats mâles et femelles

Le chlorure de mercure s'est avéré augmenter les niveaux de sucre dans le sang chez les rats mâles et femelles. Le lien entre le chlorure et la glycémie est le pancréas. Ce petit organe est le centre de régulation énergétique. Il est très sensible aux attaques toxiques du chlorure de mercure. Des études sur des souris exposées au chlorure de mercure ont montré qu'il endommage les cellules pancréatiques (59). D'autres études ont montré que les métaux lourds peuvent attaquer directement les mitochondries du pancréas et provoquer un cancer du pancréas qui déséquilibre la

glycémie. Belfarhi et al 2020 (55) ont découvert que le chlorure de mercure induisait une accumulation de lipides dans les hépatocytes. En cela, des études sur le chlorure de mercure ont montré qu'il induit une augmentation du glucose. Cela montre que le chlorure de mercure provoque l'élévation d'énergie et l'emmagasine dans des hépatocytes sous forme de graisse. La plante *C. Procera* a également augmenté la glycémie dans les groupes de rats traités avec la plante, plante + mercure, mercure + plante. Nos résultats ont montré que le mercure augmentait la glycémie entraînant une perte de poids. Alors que la plante *Calotropis Procera* a augmenté les taux de sucre dans le sang et ont entraîné une augmentation du poids chez les rats. Cela peut s'expliquer par le fait que la plante *calotropis* augmentait le taux de sucre dans le sang pour donner plus d'énergie aux rats empoisonnés par le chlorure de mercure. Cela montre que la plante *c. procera* n'a pas d'effet hypoglycémiant qui provoque la libération de l'hormone glucagon. Le mouvement des rats femelles et mâles observé après injection de *C. Procera* peut être attribué aux composants sucrés présents dans cette plante qui peuvent libérer de l'énergie. Des études (66) réalisées sur cette plante ont montré que cette plante est riche en composants sucrés tels que les oxyprégnan- oligoglycosides nommés calotroposides A(1) et B (2)(60) ont également détecté un nouvel oligoglycoside oxyprégnane, le Calotroposide S. D'autres sucres de *calotropis procera* ont également été divulgués dans la plante *Calotropis Procera* : nouveaux oxyprégnaneoligoglycosides : calotroposides H – N (1–7)(60). Les études de Gamal A.Mohamed ont démontré que les composants oxyprégnaneoligoglycosides : les calotroposides H – N (1–7) ont une activité anticancéreuse contre plusieurs types de cancer dont le cancer de la prostate et le cancer du poumon. Ces résultats montrent que la plante *Calotropis Procera*, grâce à ces molécules sucrées, peut faire face aux cellules cancéreuses caractérisées par leur haute énergie. De même, nos résultats ont

montré que la plante *Calotropis Procera* augmentait la glycémie sans perte de poids chez les rats femelles pour donner plus d'énergie pour arrêter le chlorure de mercure extrêmement toxique et à haute énergie. Créatinine Chez les rats mâles et femelles, nos résultats ont montré que le chlorure de mercure provoque une augmentation des taux sanguins de créatinine chez les rats mâles et femelles. Des études ont également montré que le chlorure de mercure provoque une augmentation des niveaux de créatinine dans le sang et conduit à une insuffisance rénale via des perturbations des niveaux de créatinine (61). Les résultats de notre étude ont montré que la plante *Calotropis Procera* rétablissait le niveau de créatinine. Cela montre le rôle de *calotropis* dans l'équilibrage de l'un des paramètres biochimiques les plus révélateurs du bon fonctionnement des reins. Ce rôle est dû à la molécule potentielle de *Calotropis Procera*, l'acide urique qui protège contre l'augmentation de la créatinine en empêchant la toxicité du HgCl_2 (62). La plante a une action sur la créatinine et un effet protecteur sur le rein. Des études chimiques sur la plante *Calotropis Procera* ont révélé plusieurs composants, par exemple des cardinolides. Des études récentes ont montré que ces composants sont des cardioïdes qui jouent un rôle protecteur contre la maladie polykystique rénale autosomique dominante (PKRAD) (56).

3.1.23.1.2. Protéines sériques

Le traitement des rats femelles avec du chlorure de mercure à une dose de 0,20 mg/kg/pc a provoqué une baisse des taux de protéines sériques. Le traitement des rats femelles avec la plante *Calotropis Procera* a corrigé la diminution des taux de protéines sériques. Des études menées sur *Calotropis* ont révélé sa richesse en protéines telles que les protéases, dismutases, peroxydases, chitinases et protéases contenant de la cystéine et des protéases acides(63). Ceci explique son rôle nutritionnel contre le chlorure de mercure par le maintien et la préservation des

protéines sériques. Les résultats de nos études ont montré que la plante corrigeait la diminution des taux de protéines sériques. Une autre recherche sur *Calotropis Procera* a également montré que la plante provoque une augmentation des protéines sériques (64).

3.1.23.1.3. Cholestérol

Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de différence de taux de cholestérol entre les groupes de rats femelles. Nos résultats n'ont démontré aucun effet du chlorure de mercure et de la plante sur les taux de cholestérol chez les rats femelles. Cela peut être dû à la physiologie des rats femelles et à leurs facteurs de protection qui les protègent contre les troubles du cholestérol. Cependant, le chlorure de mercure s'est avéré augmenter les niveaux de cholestérol chez les rats mâles. La plante *Calotropis Procera* a rétabli les niveaux de cholestérol chez les rats mâles. Des études chimiques ont révélé la présence dans le *calotropis* de molécules acides telles que l'acide furilique (65) qui protègent contre l'infarctus du myocarde et restaurent le taux de cholestérol dans le sang de rats exposés au chlorure de mercure (66). La plante *Calotropis Procera* pour abaisser le cholestérol chez les rats diabétiques. Celles-ci montrent que cette plante a un effet hypocholestérolémiant significatif ; et que par ce effet il protège les rats contre le chlorure de mercure qui déséquilibre le taux de cholestérol. Par cette action détoxifiante de *Calotropis Procera* diminue la toxicité du chlorure de mercure et protège les organes des conséquences et effets délétères du mercure.

3.1.23.1.4. Albumine rats mâles et femelles

Des analyses de paramètres biochimiques tels que l'albumine ont montré qu'il n'y avait pas de différence entre les groupes de rats femelles. Le même résultat a été

observé chez les rats mâles, il n'y a pas de différence entre les groupes et absence d'effet des plantes sur les rats.

3.1.23.1.5. Triglycérides des rat mâles et femelles

Nos résultats ont démontré l'absence d'effet de la plante sur les taux de triglycérides chez les rats femelles. Le résultat de l'analyse des triglycérides chez le rat mâle démontre que le chlorure de mercure a augmenté la TG. Le rat mâle du groupe a reçu l'extrait de Calotropis Procera a significativement diminué la teneur en TG par rapport au rat mâle du groupe du mercure. Le résultat de l'étude menée par V.H. Bhaskar et Sumant, 2009 rapporte que Calotropis Procera a réduit de manière significative la TG a également analysé les effets bénéfiques anti-hypeglycéride de Calotropis Procera sur le rat diabétique (67).

3.1.23.2. Rats mâles et femelles

3.1.23.2.1. Phosphatase alcaline

Nos résultats ont montré que le chlorure de mercure provoque une diminution très significative du taux de phosphatase alcaline chez les rats femelles et mâles. Cela montre que le chlorure de mercure a causé un déficit du taux de l'enzyme phosphatase alcaline. Ce déficit de cette enzyme peut s'expliquer par une déphosphorylation des récepteurs hépatiques du phosphore. Nos résultats ont également démontré que la plante Calotropis Procera rétablissait le niveau de phosphatase alcaline chez les rats mâles et femelles traités avec la plante + mercure, mercure + plante et plante par rapport à celui du chlorure de mercure. Cela montre que la plante a corrigé le déficit en phosphatase alcaline causé par le chlorure de mercure. Le retour à la normale du taux de phosphatase alcaline montre que la plante a un effet sur l'activité de cette enzyme. Des études ont montré que les feuilles, la fleur et la racine de la plante calotropis procera sont riches en l'enzyme phosphatase alcaline (68). D'autres études

ont également montré que la plante a une action protectrice sur les reins via la phosphatase alcaline. Par exemple, Femke Hümmeke-Oppers a découvert que les patients atteints d'insuffisance rénale associée à une septicémie traités par la phosphatase alcaline protègent leurs reins contre l'inflammation systémique et diminuent les marqueurs des lésions des tubules rénaux(69).D'autres études ont montré que la phosphatase alcaline joue un rôle important dans l'inhibition de l'insuffisance rénale aiguë AKI dans un modèle animal de maladie circulatoire cardio-pulmonaire de l'enfance(67).Cela montre que la phosphatase alcaline a un effet important dans la protection des reins contre les dommages qui se produisent après des chirurgies cardio-pulmonaires chez les enfants. Les résultats de notre étude ont révélé que la plante *Calotropis Procera* a équilibré le niveau de phosphatase alcaline et via ce mécanisme biochimique a pu contester le chlorure de mercure vis-à-vis de cette enzyme sensible à son action. Ceci peut s'expliquer que cette plante diminue la toxicité du chlorure de mercure via un mécanisme de détoxification qui fait intervenir la phosphatase alcaline. La plante a corrigé la diminution du niveau de phosphatase alcaline et diminué la toxicité du chlorure de mercure.

3.1.23.2.2. Bilirubine totale rats mâles et femelles

Nos résultats ont montré que la plante corrigeait le niveau de bilirubine totale.

3.3.5.7.3. Bilirubine directe, indirecte et totale chez les rats mâles et femelles

Nos résultats ont démontré qu'il n'y avait aucun changement dans le niveau de bilirubine directe, indirecte et totale chez les rats femelles. Cela peut s'expliquer par la susceptibilité génétique du sexe féminin qui résiste aux toxines comme le chlorure de mercure via la bilirubine. La femelle est connue pour sa production de faibles niveaux de l'hormone testostérone (70).Ce dernier est bénéfique à la fois pour le sexe féminin et masculin. Les résultats montrent que le niveau de bilirubine est faible chez les rats

mâles traités au chlorure de mercure. Ce dernier est bénéfique à la fois pour le sexe féminin et masculin. Les résultats montrent que le taux de bilirubine est faible chez les rats mâles traités au chlorure de mercure. Des études ont montré que les variations de bilirubine entre le sexe masculin et le sexe féminin sont liées aux hormones. L'hormone testostérone influence les changements dans les niveaux de bilirubine chez les mâles. Ce dernier produit plus d'hormone de testostérone que la femelle. Des études ont montré que l'augmentation des niveaux de testostérone chez l'homme est la cause du cancer du foie (71). D'autres études ont également montré que la toxicité hépatique observée dans l'empoisonnement au chlorure de mercure est liée à des niveaux élevés de testostérone et de faibles niveaux de bilirubine (72). Cela montre que le chlorure de mercure fonctionne à travers un mécanisme qui relie deux organes vitaux, le système reproducteur et le foie. Ce mécanisme généré par le chlorure de mercure déséquilibre l'hormone testostérone d'une part et la bilirubine d'autre part. D'autres recherches ont montré que la différence dans les changements de bilirubine est due à l'enzyme bilirubine uridine diphosphate-glucuronosyltransférase. Les rats mâles et femelles exercent des effets opposés de l'enzyme uridine diphosphate- glucuronosyl-transférase. Cette dernière est plus élevée chez la femme que chez l'homme dans le foie(73). D'après les résultats d'études in vivo réalisées sur des extraits de *Calotropis procera* pour analyser ces effets vis-à-vis des hépatites induites par le paracétamol ; ils ont trouvé qu'il restaure les niveaux de bilirubine dans le sang (74). Cela montre que *Calotropis Procera* a un effet hépatoprotecteur potentiel en équilibrant les niveaux biochimiques de bilirubine. D'autres études ont montré que les modifications de la bilirubine ont une origine maternelle liée au lait. Il a été constaté que les bébés qui allaitent au lait maternel ont des taux de bilirubine élevés par rapport aux bébés qui allaitent artificiellement (75). Cela montre que le lait maternel a une action nutritionnelle via l'enzyme B-glucuronidase qui augmente la bilirubine. Il a également été trouvé dans le lait.

Des bébés qui allaitent naturellement les molécules pregnane-3a, 20 B-diol, interleukine IL1B, B-glucuronidase, facteur de croissance épidermique et alpha-foetoprotéine. On pense que la présence du pregnane 3a 20 B-diol inhibe la conjugaison de la bilirubine qui à son tour entrave l'excrétion de la bilirubine. D'autres études ont montré que le niveau et les changements dans les niveaux de bilirubine sont directement liés au poids. Dans une étude réalisée chez des sujets obèses, le taux de bilirubine était bas. Il a été constaté que leur perte de poids était associée à une augmentation des taux de bilirubine. Ils ont également remarqué que le niveau de bilirubine augmente plus chez les hommes que chez les femmes. Cela a une relation avec l'hormone d'insuline qui augmente l'appétit chez les femmes et entraîne l'emmagasinement des triglycérides. L'excès de triglycérides se transforme en sucre qui agit directement sur le pancréas et provoque sa destruction à long terme. De plus, l'excès de triglycérides s'accumule dans les hépatocytes et provoque une augmentation de la bilirubine. L'hyperbilirubinémie observée chez les sujets obèses est un indicateur d'un déséquilibre du foie. (76) Le sexe féminin se caractérise par un taux élevé d'œstrogènes grâce à une enzyme UGT contrairement au sexe masculin qui a de faibles taux. Une baisse des taux d'œstrogènes et d'enzymes UGT a été l'une des causes du cancer du sein chez la femme. Cela montre le rôle que jouent les œstrogènes et l'UGT dans le maintien des concentrations de bilirubine chez le sexe féminin. La plante *Calotropis Procera* possède également une activité œstrogénique et cette fonction dépend de l'extraction et du développement de la plante. Des études ont montré que lorsque la plante *calotropis procera* est récoltée au stade de développement mature, il a une activité élevée car lorsque la plante est arrachée au stade immature, l'activité ou la reproduction œstrogénique est faible.

Contrairement aux rats femelles, il a été constaté que chez les rats mâles traités au chlorure de mercure, il y avait une baisse du niveau de bilirubine totale, directe et indirecte. Ceci montre que la bilirubine est sensible à l'action du chlorure de mercure chez les mâles. Il a été constaté que la plante *Calotropis Procera* restituait le niveau de bilirubine directe, indirecte et totale dans les groupes de rats traités avec la plante, plante + mercure, mercure, mercure + plante. Des études ont montré que la concentration de progestérone était élevée chez les rats mâles traités avec des branches et des feuilles. Cela montre que le calotropis agit différemment dans le sexe féminin, il agit sur les œstrogènes et dans le sexe mâle, il agit sur les progestérones. Il existe une hypothèse selon laquelle *Calotropis Procera* protège la motilité des spermatozoïdes via la bilirubine et cette hormone est sensible au chlorure de mercure qui affecte la motilité des spermatozoïdes chez les rats mâles sexuels.

3.1.23.2.

3.1.23.3. Effets du chlorure de mercure et de la plante *Calotropis Procera* sur les paramètres biochimiques des rats mâles

3.1.23.3.1. Cholestérol

On a découvert que le chlorure de mercure augmentait les taux de cholestérol chez les rats mâles. La plante *Calotropis Procera* a rétabli les taux de cholestérol chez les rats mâles. Des études chimiques ont révélé la présence dans les calotropes de molécules acides telles que l'acide férulique (77). Des études ont montré que l'acide férulique protège contre l'infarctus du myocarde et restaure le taux de cholestérol sanguin chez les rats exposés au chlorure de mercure (78). Une autre étude a également montré le rôle de la plante *Calotropis Procera* dans la réduction du cholestérol chez les rats diabétiques. Cela montre que cette plante a un effet

hypocholestérolémiant significatif ; et par cet effet la plante protégeait les rats contre le chlorure de mercure qui déséquilibre le taux de cholestérol. L'action détoxifiante du Calotropis Procera diminue la toxicité du chlorure de mercure et protège les organes contre les conséquences et les effets délétères du mercure.

3.1.23.3.2. Urée

Les résultats ont montré que le traitement des rats mâles avec du chlorure de mercure a entraîné une augmentation des niveaux d'urée. Traitement de rats mâles avec plante + mercure et mercure + plante rétablissant les niveaux d'urée. Cela montre le rôle que joue la plante Calotropis Procera dans la restauration des niveaux d'urée et la diminution de la toxicité. Ces résultats sont en accord avec d'autres études qui ont montré que Calotropis Procera protège les reins en maintenant le niveau d'urée à la normale (79). Albumine Les résultats de cette étude ont montré que le chlorure de mercure provoquait une diminution des taux d'albumine chez les rats mâles. Une diminution du rapport albumine, globuline liée à une diminution du taux de cholestérol total a été rapportée par (80).

3.1.23.3.3. Bilirubine Totale, Directe, Indirecte

D'après les résultats de notre étude, le chlorure de mercure a provoqué une baisse du taux de bilirubine totale, directe, indirecte par rapport au groupe témoin. Des études histologiques de rats mâles traités au chlorure de mercure démontrent l'apparition de macro-vacuolaires et quelque peu micro-vacuolaires stéatose diffuse (81). Dans cette étude nous avons trouvé chez les mauvais rats une augmentation de la glycémie. Cette dernière agit directement sur le foie. Des études ont montré qu'une glycémie élevée peut être la cause de la stéatose non alcoolique chez les personnes atteintes de diabète. Cela montre que la glycémie peut cibler le foie et provoquer un déséquilibre des taux de bilirubine. Les résultats de notre étude montrent que la bilirubine est sensible à

l'action de chlorure de mercure chez les rats mâles par rapport aux rats femelles. Cela montre que les rats mâles sont moins résistants à l'action du chlorure de mercure que les rats femelles. La dégradation de la bilirubine apparaît plus chez les rats mâles que chez les rats femelles. Ceci par rapport à l'hémoglobine du mâle le sexe est différent des rats femelles. Le sexe masculin a besoin de plus de fer et de libération d'énergie de l'hémoglobine. En cas d'empoisonnement au chlorure de mercure, il n'y aura pas de renouvellement des globules rouges. Cela génère de l'hémoglobine toxique. Ce phénomène déclenche le mouvement des neutrophiles pour attaquer cette hémoglobine. Lorsque les neutrophiles avalent l'hémoglobine, ils deviennent le déclencheur et l'amplificateur des réactions inflammatoires. Un autre facteur est le sperme, bien que ces derniers soient physiologiquement présents dans le problème de fertilité masculine féminine. Cette fonction est protégée pour assurer la continuité de l'être humain. Des études récentes ont révélé qu'il existe des macrophages qui fonctionnent comme des gardiens des spermatozoïdes tout en empêchant leur dégradation (82). Cependant, en cas de toxicité par le chlorure de mercure, le rôle de ces cellules est bloqué et les spermatozoïdes ne sont plus protégés. À ce stade, viennent d'autres types de cellules, les cellules neutrophiles blanches, qui agissent directement sur le sperme. En avalant le sperme, il avale les lipides qu'il contient. Cela augmente le taux de lipides dans les neutrophiles et devient alors toxique (83) et un agent d'inflammation au lieu de sa fonction de défense normale. Lorsque les spermatozoïdes sont décomposés, ils deviennent étrangers au corps, ce qui provoque la production d'anticorps anti-spermatozoïdes, qui attaquent directement l'hémoglobine et provoquent un déséquilibre de la bilirubine dans la maladie. Cependant, chez les femmes, l'absence de spermatozoïdes les protège plus que les hommes et leur bilirubine est équilibrée par rapport aux hommes.

L'étude microscopique des reins de rats femelles traités au chlorure de mercure a démontré un parenchyme rénal normal avec une légère augmentation de la cellularité glomérulaire (Fig. 1). Cette observation montre que le chlorure de mercure a causé une lésion discrète dans le glomérule et pour cette raison le parenchyme rénal paraissait normal. Des études sont arrivées aux mêmes observations que les nôtres sur les infestations palustres. Ils ont observé que les reins sont de structure normale. En parallèle, ils ont observé des signes histologiques discrets de glomérule atteinte (légère augmentation de la cellularité) et infiltration discrète de cellules lymphocytaires inflammatoires (84). L'infection des souris par le paludisme entraîne une augmentation de la cellularité et du nombre de macrophages (85). La cellularité observée au cours de cette infection est due à l'accumulation d'érythrocytes infectés par le parasite *Plasmodium chabaudi* dans le macrophage (86). Ces macrophages libèrent le facteur inhibant la migration des macrophages (MIF) impliquée dans l'apparition de maladies inflammatoires chroniques. Le catabolisme de l'hémoglobine érythrocytaire par le paludisme produit un pigment insoluble, « l'hémozoïne qui augmente la cellularité et le nombre des macrophages (87). L'accumulation de l'hémozoïne a des conséquences sur les activités et fonctions des macrophages. Il rend les macrophages incapables de dégrader le matériel ingéré et répéter le cycle phagocytaire. Cette action endommage gravement et de façon permanente les macrophages (86). Sur la base de nos résultats, la toxicité du chlorure de mercure se manifeste par une lésion discrète dans le glomérule, le parenchyme rénal normal et augmentation de la cellularité glomérulaire. Notre conclusion est conforme à l'étude sur les infestations de paludisme chez la souris qui ont observé que les reins sont de structure normale. En parallèle, ils ont observé de discrets signes histologiques de cellularité glomérulaire. Là sont également des études qui ont trouvé que des lourds

métaux agissent par un mécanisme similaire à celui observé lors d'une infection palustre. Par exemple, Margot Christensen et al (87) ont observé que le chlorure de mercure s'accumule dans les macrophages et provoque l'augmentation de la cellularité. Il provoque de faible concentration la mort des macrophages de ces faibles niveaux de chlorure de mercure et il provoque la mort des macrophages par son action sur leur migration et leur capacité de phagocytose. Il existe également des études ont constaté que les métaux lourds agissent par un mécanisme similaire à celle observée lors d'une infection palustre. Par exemple, l'empoisonnement à l'aluminium provoque une augmentation du nombre de macrophages et la cellularité dans le cerveau et les causes le macrophagique myophac c'est MEC (87). Gérardie et Authier (88) ont trouvé que les rats intoxiqués par l'aluminium accumulent des insolubles cristaux osmiophiles pigmentaires dans leurs macrophages. L'analyse microscopique du tissu rénal des rats mâles traités au chlorure de mercure et de la plante *Calotropis procera*, a démontré un parenchyme rénal normal, légèrement ischémique glomérules avec un aspect focal pseudo-thyroïdien (limité) (voir Fig. 2). Ces observations montrent que les glomérules ont pris la structure de la glande thyroïde. On peut l'expliquer en disant que le chlorure de mercure s'accumule dans la glande thyroïde, les cordes vocales et par cette action ; il bloque la glande thyroïde et les cordes vocales (le sens). La *Calotropis procera* a libéré les cordes vocales et les sons. Par cette action, il a créé un cynisme ou vibration qui a provoqué le déplacement des cellules de la glande thyroïde avec du chlorure de mercure vers les glomérules rénaux. La *Calotropis procera* a causé le déplacement et le détachement de chlorure de mercure. Des études récentes (89) ont montré que le chlorure de mercure a une grande affinité pour les groupes thiols. La *Calotropis procera* est une source de thiols protéase qui sont connus pour leur effet chélatant. L'action des métaux lourds grâce à leur richesse composée de

soufre. C'est grâce à ces molécules que la *Calotropis procera* a pu réparer et déplacer le chlorure de mercure (90). L'aspect thyroïdien qui est apparu dans le glomérule des rats traités avec la *Calotropis procera* montre que la plante *Calotropis procera* a une activité qui ressemble à l'activité de la glande thyroïde. La plante *Calotropis procera* contient des molécules qui ont une relation avec la glande thyroïde. Rutin est l'un des constituants de la plante *Calotropis procera* et qui semble stimuler la fonction thyroïdienne par absorption de la thyroïde l'iodure et la synthèse des hormones T3, T4 (91). Le stigmastérol est également un constituant majeur de la plante *Calotropis procera*, qui a une relation avec la glande thyroïde. Par exemple, des études ont montré que le stigmastérol est dû au niveau sérique, donc triiodothyronine(T3), thyroxine (T4) indiquant sa propriété inhibitrice de la thyroïde. Cela montre que cette molécule Stigmastérol de *Calotropis procera* possède une activité similaire dans la glande thyroïde (92). L'examen histopathologique d'une coupe de tissu du rein des rats mâles wistar traités avec la plante *Calotropis procera* et le chlorure de mercure montre que les glomérules rénaux ont structures normaux. Nos résultats montrent que la *Calotropis procera* protégeait les reins des rats mâles contre la toxicité du chlorure de mercure. L'effet protecteur de la plante *Calotropis procera* est dû à sa richesse en polyphénols. Ces derniers sont connus par leur action protectrice des reins (93). L'examen microscopique d'une section de foie des rats mâles traités au chlorure de mercure montre une stéatose macro-vacuolaire diffuse. Nos résultats ont montré que la toxicité de chlorure de mercure se manifeste dans le foie par une stéatose macro- vacuolaire diffuse. Cette étude montre que le chlorure de mercure agit par un mécanisme qui augmente la libération des lipides. Ces résultats sont en accord avec les recherches publiées, qui notifient que le chlorure de mercure provoque une stéatose hépatique chez adultes (84). Les effets toxiques du chlorure de mercure sur le

foie ont été expliqués par d'autres études (94) que le chlorure de mercure a une action sur le métabolisme des thiols. Il se lie avec les groupes sulfhydryle libres, ce qui le déplace vers des membranes plasmiques et provoque la solubilité des lipides. Eusebio Mayz, J.W. Daniel (95) ont trouvé aussi que le chlorure de mercure provoque une stéatose hépatique par un mécanisme impliquant l'hormone ACTH. Il favorise la lipolyse par l'inhibition de l'activité de l'hormone ACTH. L'examen microscopique d'une coupe de tissu de foie de rats mâles traités avec la plante *Calotropis procera* et le chlorure de mercure ont montré que la plante *Calotropis procera* cachait les stéatoses et les centralise au centre sous l'aspect d'une stéatose médio-vacuolaire péri centro-lobulaire. Nos résultats montrent que la plante cache les lésions de chlorure de mercure apparues dans le foie sous forme de macro-vasculaires diffuses stéatose. D'autre part, il a réduit l'étendue de la stéatose. Selon l'histologie, il a été constaté que dans les groupes des rats traités uniquement par la stéatose au mercure sont diffuses tandis que dans le groupe traité au végétal et au mercure, la stéatose est discrète et centro-lobulaire. Nos résultats ont montré que la plante réduisait la stéatose dans les foyers situés au centre. La plante cache ces stéatoses et pourrait protéger le rat mâle contre le foie gras. Nos résultats ont montré que le traitement des rats mâles avec du chlorure de mercure comme premier traitement et ensuite par la plante causé une stéatose macro-vacuolaire et un peu micro-vacuolaire, diffuse. Cela montre que la plante protège le foie des rats mâles lorsqu'il a été injecté comme premier traitement. Nos résultats alors démontrent que l'usage de *Calotropis* aura un effet protecteur sur le foie contre la toxicité de chlorure de mercure. Une étude a également rapporté que la plante *Calotropis procera* contient des flavonoïdes, qui peuvent diminuer les dommages au foie dus à paracétamol (96). L'étude histologique du foie des rats femelles traitées au chlorure de mercure et la plante *Calotropis procera* ont montré un

parenchyme hépatique de morphologie subnormale. Cela montre que la plante *Calotropis* protégera pleinement le foie de rats femelles. « Les résultats de cette étude montrent que la plante *Calotropis procera* protégeait le reins de rats mâles et protégeait le foie de rats femelles. Résultats de l'analyse de l'hormone ACTH ont montré que la plante *Calotropis procera* provoque une augmentation du taux d'ACTH chez la femme les rats. Eusebio Mayz, J.W. Daniel (95) a trouvé que le chlorure de mercure provoque l'apparition de stéatose hépatique par un mécanisme impliquant l'hormone ACTH. Il favorise la lipolyse par l'inhibition de l'activité de l'hormone ACTH. Autre des études ont trouvé une association significative entre l'exposition aux métaux lourds (arsenic, mercure, cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb, et zinc) du sol et de la stéatose hépatique chez les hommes. Ils ont découvert que les hommes étaient significativement plus susceptibles d'avoir une stéatose hépatique sévère que les femmes (97). Les résultats de nos travaux montrent que le foie des femelles rats est de structure subnormale et que la plante augmenté le taux d'ACTH chez les rats femelles. Cette étude montre que la plante *Calotropis procera* a des molécules qui ont augmenté chez les rats femelles leur capacité à résister à la toxicité du chlorure de mercure via l'hormone ACTH. Les glycosides cardiaques sont parmi les principaux éléments qui caractérisent la plante *Calotropis procera*. Deux glucosides cardiaques, cycloartans : Néocimicigénosides A (1) et B (2) ont été isolés de la plante *Cimicifuga racémose* qui augmentent la sécrétion du l'hormone ACTH (98).

Notre étude a été menée sur des rats mâles et femelles porté sur l'effet protecteur de la plante *Calotropis procera* contre les effets toxiques du chlorure de mercure sur le cerveau. On a trouvé que le chlorure de mercure a provoqué chez les rats males une forte toxicité cérébrale qui se manifeste par altérations cytoplasmiques et nucléaires importante. La toxicité nerveuse du chlorure de mercure a été étudiée sur des souris. Ils ont trouvé que le chlorure de mercure provoque des nécroses des cellules

nerveuses qui touchent le cortex cérébral, l'hypothalamus et le cervelet (99). D'autres études ont observé aussi que le chlorure de mercure provoque la mort par nécrose et apoptose des neurones et des astrocytes dans le cortex moteur (100). Ces études ont trouvé qu'une faible exposition au chlorure de mercure est capable d'altérer les cellules nerveuses. Nos résultats ont démontré également qu'au sein de la couche plexiforme du tissu cérébrale des rats mâles traités avec la plante *Calotropis procera* et le chlorure de mercure quelques images de caryolyse sur fond d'œdème. Par ailleurs les contours cytoplasmiques et les noyaux cellulaires sont conservés. La toxicité du chlorure de mercure au niveau du cerveau a été observée lors des événements de Minamata au Japon. Il a provoqué chez des adultes des atteintes dans toutes les régions du cerveau comme la région calcarine, dans le cortex pré- et post-central, cortex cérébelleux, les cellules de Purkinje et les cellules granuleuses. Ils ont trouvé aussi que la couche moléculaire du cerveau est le site privilégié du chlorure de mercure (101). Des études d'autopsie effectuées sur des animaux intoxiqués par le mercure ont démontré qu'il entraîne une caryolyse des noyaux, ainsi que des lésions des vaisseaux dans les régions sous corticales du cerveau. Des œdèmes ont été observés ainsi que des lésions des vaisseaux, l'élargissement des espaces péri-vasculaires et l'infiltration d'un liquide rouge pâle (102). D'autres études ont trouvé aussi des caryolyses des noyaux qui ont abouti à des lésions et diminution du nombre des neurones (103). Les résultats de notre étude ont démontré que la plante *Calotropis procera* a protégé le reste du tissu cérébral. Les investigations phytochimiques sur cette plante ont dévoilé sa richesse en flavonoïdes comme le Rutin (104). Des études ont trouvé que le rutin peut diminuer les lésions observées lors du cancer du cerveau (105). Cela peut expliquer son rôle neuro-protecteur face aux lésions toxiques du chlorure de mercure. D'autres résultats ont trouvé que la molécule "le stilbene" de la *Calotropis procera* est capable de stopper toute la cascade des réactions inflammatoires cérébrales. Le stilbene peut également protéger contre les lésions cérébrales et l'inflammation par la stimulation de l'expression de l'enzyme hème oxygénase.

Les résultats de l'étude histologique des rats mâles traités par le chlorure de mercure et la plante *Calotropis procera* ont démontré que la plante a protégé totalement le tissu cérébral contre la toxicité du chlorure de mercure. Cette action de protection du tissu cérébral de la plante *Calotropis procera* est due à sa richesse en molécules qui agissent sur des protéines toxiques au niveau du cerveau. Par exemple l'oléandrine une molécule neuro-protectrice qui inhibent l'expression d'une protéine

alpha-synuclein toxique pour le cerveau. Par cette action elle empêche les lésions cérébrales liées à la toxicité de cette protéine.

Les résultats de l'étude histologique du tissu cérébrale des rats femelles traités par le chlorure de mercure a montré des images de pycnoses nucléaires. Cela montre que le chlorure de mercure affecte directement les noyaux et les nucléoles des cellules nerveuses et provoque leur rétrécissement. Des études ont observé également l'apparition des noyaux pycnotique dans les cortex frontaux du cerveau des rats traités par le chlorure de mercure(106).Ces études démontre que le l'intoxication par le chlorure de mercure entraine la mort cellulaire par un changement de la morphologie des noyaux des cellules nerveuse. Les résultats des analyses histologiques du cerveau des groupes des rats femelles « chlorure de mercure+la plante calotropis procera » et « calotropis procera + chlorure de mercure » ont démontré des images de pycnose et de noyaux cellulaires densifiés, à la chromatine laquée. En d'autres endroits du tissu cérébral, les noyaux cellulaires sont bien conservés. Ces résultats démontrent le rôle protecteur de la plante la calotropis procera contre les effets toxiques du chlorure de mercure. Ce rôle neuro-protecteur de la plante calotropis procera est dû à sa richesse en composants efficaces pour cerveau comme les flavonoïdes, les stéroïdes, lestannins, les triterpenoids, les carbohydrates et les saponins (4). La plante calotropis procera contient également une molécule "neuro-active" le mycènes avec pourcentageélevée (50.9–54.0%).Cette molécule a la capacité de traverser la barrière hématoïétique et agisse par un mécanisme qui implique les récepteurs opioïdes pour calmer les douleurs engendré par les toxiques (107).

Conclusion

Cette étude met en lumière une plante appelée Calotropis procera et son effet détoxifiant sur le chlorure de mercure. Notre étude a dévoilé un nouveau mécanisme pour détoxifier un métal aussi fort et toxique comme le chlorure de mercure. Cette étude apporte une nouvelle compréhension dans la détoxification du mercure chlorure en utilisant la plante Calotropis procera. Les sels obtenus dans l'étude ont montré que la plante Calotropis procera a imprimé une nouvelle voie de détoxification du chlorure

de mercure. La Calotropis procera a causé le détachement du chlorure de mercure. Elle a déplacé le chlorure de mercure de la glande thyroïde aux reins. A ce niveau, elle a changé la morphologie des glomérules en une forme qui ressemble la glande thyroïde. Par cette forme, elle a caché les lésions avec des chlorures de mercure pour arrêter les réactions inflammatoires des rats femelles. La plante protégeait les reins des rats mâles. Dans le foie le Calotropis, la plante cache aussi la stéatose du foie des rats mâles. La plante protège le foie des rats femelles. Cette plante protégeait les reins des rats mâles et protégeait le foie de rats femelles.

Références Bibliographiques

- (1) Shaw C. A., Li Y., Tomljenovic L. Administration of Aluminium to Neonatal Mice in Vaccine Relevant Amounts is Associated with Adverse Long Term Neurological Outcomes. *J Inorg Biochem*, 2013, no. 128, pp. 237-244. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.07.022.2>.
- (2) <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/biologie-poisons-histoire-1676/page/10/#:~:text=Le%20mercure%20est%20un%20%C3%A9l%C3%A9ment,le%20r%C3%A8gne%20de%20Louis%20XIV>.
- (3) L. W. Johnson and M. L. Wolbarsht. 1979. Mercury Poisoning A Probable Cause of Isaac Newton's Physical and Mental Ills. *Notes and Records of the Royal Society of London*. Vol. 34, No. 1 (Jul., 1979), pp. 1-9 (9 pages). Published By: Royal Society.
- (4) Silmara Sousa De Morais, 2006. Les effets Neurotoxiques de L'exposition au mercure en Amazonie Brésilienne. Mémoire Présenté comme exigence partielle de la maîtrise en biologie. Université du Québec à Montréal.
- (5) ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). 2007. Documentation of the Biological Exposure Indices (7th Edition). Mercury – Elemental and Inorganic. ACGIH Worldwide, 1330 Kemper Meadow Drive, Cincinnati, Ohio 45240-1634.
- (6) <https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/polluants/mercure-environnement/a-propos/biogeochimie.html>.

- (7) Jung-Duck Park and Wei Zheng: Human Exposure and Health Effects of Inorganic and Elemental Mercury. *J Prev Med Public Health*. 2012 Nov; 45(6): 344–352. 2012 Nov 29. doi: 10.3961/jpmph.2012.45.6.344.
- (8) M Aschner, H K Kimelberg. The use of astrocytes in culture as model systems for evaluating neurotoxic-induced-injury. *Neurotoxicology*. Fall 1991;12(3):505- 17.
- (9) M R Cookson, V W Pentreath. Alterations in the glial fibrillary acidic protein content of primary astrocyte cultures for evaluation of glial cell toxicity. *Toxicol In Vitro*. 1994 Jun; 8(3):351-9 doi: 10.1016/0887-2333(94)90156-2.
- (10) L.R.F. Faro, K.J.A. Rodrigues, M.B. Santana, L. Vidal, M. Alfonso, R. Durán. Comparative effects of organic and inorganic mercury on in vivo dopamine release in freely moving rats. *Neurosciences and Behavior*. *Braz J Med Biol Res* 40 Oct 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006005000157>.
- (11) Guangliang Liu, Yong CAI, Nelson O'Driscoll. 2011. *Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury*. John Wiley & Sons.
- (12) Rahul K.S. Patient Safety and Quality Improvement Otolaryngologic Clinics of North America. *The Clinics: Surgery* 52-1. Amsterdam, Elsevier Health Science, 2018. P. 240.
- (13) Zehra R., Carpenter D.O., Fatmi S.S. Pathophysiological Mechanisms of Mercury's Effect on Thyroid Gland. *International Journal of Thyroid Disorder and Therapy*, 2018, vol. 1, no. 1, pp. 1-6.
- (14) Uzunhisarcikli M., Aslanturk A., Kalender S., et al. Mercuric Chloride Induced Hepatotoxic and Hematologic Changes in Rats: The Protective Effects of Sodium Selenite and Vitamin E. *Toxicol and Health*, 2016, vol. 32, no. 9, pp. 1651- 1662.
- (15) Deepmala J., Sangeeta S., Srivastav A.K., *Mercury Toxicity and its Treatment Options*. Lambert Academic Publishing, 2013. P.64.
- (16) Eva Brand, Lise Bankir, Pierre-François Plouin, Florent Soubrier. Glucagon Receptor Gene Mutation (Gly40Ser) in Human Essential Hypertension. *The PEGASE Study*. *Hypertension*. 1999;34:15-17. doi: 10.1161/01.HYP.34.1.15.
- (17) Leila Belfarhi, Ibtissem Chouba, Naziha Amri, Nadia Boukris, Abdelkrim Tahraoui. Natural Systems, Resources. *Histological, and Hormonal Study of the Protective effect of the Calotropis Procera Against The toxicity of Mercury Chloride*. 2020. Vol. 10. No. 2.

- (18) Romero F, Pérez M, Chavez M, Parra G and Durante P. 2009. Effect of uric acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat- role of matrix metalloproteinase2 and 9. *Basic and Clinical pharmacology and toxicology*.105 6: 416-424.
- (19) Han, W.K., Bailly, V., Abichandani, R., Thadhani, R., Bonventre, J.V., 2002. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 62, 237–244. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00433.x>.
- (20) Ramos, M. V., Araújo, E. S., Jucá, T. L., Monteiro-Moreira, A. C. O., Vasconcelos, I. M., Moreira, R. A., et al. (2013). New insights into the complex mixture of latex cysteine peptidases in *Calotropis procera*. *Int. J. Biol. Macromol.*58, 211–219. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.001.
- (21) Zalups RK, 2000. Molecular interactions with mercuric in the kidney. *Pharmacol Rev*52(1):113-43.
- (22) Miller S, Pallan S, Gangji AS, Lukic D, Clase CM,2013. Mercuric-associated nephrotic syndrome: a case report and systematic review of the literature. *Am J Kidney Dis*62(1):135-8.
- (23) Mali et Dahki, 2008. *Calotropis procera*: scientific validation of ayurvedic tradition from natural resources, *J.Res.Educ.Indian Med.*: 25-38.
- (24) Arbonnier, 2002. *Arbres, Arbustes et lianes des zones sèches d’Afrique de l’ouest*, CIRAD&MNHN, Paris, 573p.
- (25) Costa R.G., Nunes de Medeiros A., Rodrigues Alves A. & Rodrigues de Medeiros G., 2009. *Perspectivas de Utilizacao da flore-de-Seda (calotropis procera) na producao animal*, Caatinga, Universidade Federal Rural do Semi-Arido Mossoro, Brasil, Vol.22,1 :01-09.
- (26) Ramos, M.V., Grangeiro, T.B., Freire, E.A., Sales, M.P., Souza, D.P., Araújo, E.S. and Freitas, C.D.T. (2010). The defensive role of latex in plants: Detrimental effects on insects. *Arthropod-Plant Interactions*, 4, 57-67.
- (27) Al-Qarawi AA, Mahmoud OM, Sobaih MA, Haroun EM, Adam SEI. A preliminary study on the anthelmintic activity of *Calotropis procera* latex against *Haemonchus contortus* infection in Najdi sheep. *Vet Res Commun* 2001; 25(1): 61-70. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026762002947>. PMID:11214673.
- (28) Cavalcante GS, Morais SM, Andre WPP, Ribeiro WLC, Rodrigues ALM, Lira FCML, et al. Chemical composition and in vitro activity of *Calotropis procera* (Ait.) latex on *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol* 2016; 226: 22-25.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.06.012>. PMID:27514877.

(29) S. O. Kareem, I Akpan, O.P Ojo. Antimicrobial activities of *Calotropis procera* on selected pathogenic microorganisms. 2010. African Journal Biomedical Research 11(1) DOI:10.4314/ajbr.v11i1.50674.

(30) Ramos M. V., Araújo E. S., Jucá T. L., Monteiro-Moreira A. C. O., Vasconcelos I. M., Moreira R. A., et al. (2013). New insights into the complex mixture of latex cysteine peptidases in *Calotropis procera*. Int. J. Biol. Macromol. 58 211–219. 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.001.

(31). C.P. Khare. 2008. Indian Medicinal Plants. An Illustrated dictionary. Springer Science & Business Media. 900 pages.

(32) T. L. Gritzka and B. F. Trump. Renal tubular lesions caused by mercuric chloride. Electron microscopic observations: degeneration of the pars recta. Am J Pathol. 1968 Jun; 52(6): 1225–1277.

(33) Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth RH (1980). The laboratory Rat, Vol 2 Research Application Academic press. New York, NY.

(34) <https://www.elementschimiques.fr/?fr/elements/z/80>.

(35) Supawadee Parhira¹, Zi-Feng Yang, Guo-Yu. 2014. In Vitro Anti-Influenza Virus Activities of a New Lignan Glycoside from the Latex of *Calotropis gigantea*. PLoS One. 2014 Aug 7; 9(8):e104544. doi: 10.1371/journal.pone.0104544.

(36). Extraction and phytochemical investigation of *Calotropis procera*: Effect of plant extracts on the activity of diverse muscles A. M. Y. Moustafa, S. H. Ahmed, Z. I. Nabil, A. A. Hussein & M. A. Omran. Pharmaceutical Biology, 2010; 48(10): 1080–1190.

(37) Dardouri K., Haouem S., Gharbi I., et al. Combined Effects of Cd and Hg on Liver and Kidney Histology and Function in Wistar Rats. Journal of Agricultural Chemistry and Environment, 2016, vol. 5, no. 5, pp. 159-169. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/jacen.2016.54017>.

(38) <http://www.biolabo.fr/biolabo/pdfs/noticesFR/biochimieFR/FT-LP99532-LP99632.pdf>.

(39) <https://www.linear.es/wp-content/uploads/2018/03/1110005-BILIRUBINE-fr-Rev.-04.pdf>.

(40) Faouzia Mehdioui, Ilhem Hellara, Fadoua Neffati, Hichem Mezzour, Mohamed Fadhel Najjar. Évaluation d'une technique enzymatique

- colorimétrique pour le dosage du cholestérol libre - 14/05/09. Doi : RFL-05-2009-00-412-1773-035X-101019-200903757. Vol 39 - N° 412. P. 63-66 - mai 2009.
- (41) <http://stlbiotekanglet.fr/wp-content/uploads/2020/04/AT17-Dosage-Glucose-par-la-GOD.pdf>.
- (42) Bradford, M., 1979. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding *Anal Biochem*. 72: 248-254.
- (43) <http://www.biolabo.fr/biolabo/pdfs/noticesFR/biochimieFR/FT-80001.pdf>.
- (44) <http://www.biolabo.fr/biolabo/pdfs/noticesFR/biochimieFR/FT-80002.pdf>.
- (45) Kabore Adama, Kondombo Clarisse P, Gnanda B Isidore, Kologo Issouf, Konate Almamy, Yougbare Bernadette, Traore Amadou, Tamboura Hamidou H, Belem AM Gaston. Supplementation Effects of Calotropis Procera Dried Leaves on the Growth Performance of Sheep in Dry Season in Burkina Faso. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research. J Dairy Vet Anim Res* 6(1): 00169. DOI:10.15406/jdvar.2017.06.00169.
- (46) Swanson KC, Freetly C, Ferrel CL. Nitrogen balance in lambs fed low-quality brome hay and infused with different proportion of casein in the rumen and abomasum. *J Anim Sci.* 2004; 82(2):502–507. B. Tarodo de la Fuente, C. Alais, R. Frentz. Etude de la coagulation du lait par la présure et de la synérèse du coagulum par la méthode thrombélastographique. *LE LAIT / .JUILLET-AOÛT 1969 / N° 487.*
- (47) Rayanatou ISSA ADO. 2017. Etude de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de Calotropis procera en réponse au contexte laitier dans la région de Maradi au Niger. Thèse.
- (48) Murugan Vijayakumar, Ganesan Jagadeesan, Erusan Bharathi. 2014. Ameliorative potential of ferulic acid on cardiotoxicity induced by mercuric chloride. *Biomedicine and preventive nutrition.* 4 - N° 2 P. 239-243.
- (49) N. R. Rathod, I. Raghuvver, H. R. Chitme, and R. Chandra. 2009. Free Radical Scavenging Activity of Calotropis gigantea on Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. *Indian J Pharm Sci.* 71(6): 615–621. doi: 10.4103/0250-474X.59542.
- (50) Gisela Di Giusto, Naohiko Anzai, María L Ruiz, Hitoshi Endou, Adriana M Torres; Expression and function of Oat1 and Oat3 in rat kidney exposed to

mercuric chloride. 2009. Arch Toxicol 83(10):887-97doi: 10.1007/s00204- 009-0445-8.

(51) Ljubojevic M, Herak-Kramberger CM, Hagos Y, Bahn A, Endou H, Burckhardt G, Sabolic I (2004) Rat renal cortical OAT1 and OAT3 exhibit gender differences determined by both androgen stimulation and estrogen inhibition. Am J Physiol Renal Physiol 287:F124–F 138.

(52) PEDRO CORTES, FRANCIS DUMLER, KUMARAPURAM K. VENKATACHALAM, JOSE GOLDMAN, K. S. SURY SASTRY, HEMA VENKATACHALAM, JAY BERNSTEIN, and NATHAN W. LEVIN. Alterations in glomerular RNA in diabetic rats: Roles of glucagon and insulin Kidney International, Vol. 20 (/981), pp. 491—499.

(53) HaiBo YANG Zhao Fa XU Wei LIU Yu DENG Bin XU. The Protective Role of Procyanidins and Lycopene against Mercuric Chloride Renal Damage in Rats.

Reuben Chayoth, Sheldon M. Epstein and James B. Field, 1973. Glucagon and Prostaglandin E1 Stimulation of Cyclic Adenosine 3', 5'- Monophosphate Levels and Adenylate Cyclase Activity in Benign Hyperplastic Nodules and Malignant Hepatomas of Ethionine-treated Rats. Cancer research; 33. 1970-1974.

(54) PEDRO CORTES, FRANCIS DUMLER, KUMARAPURAM K. VENKATACHALAM, JOSE GOLDMAN, K. S. SURY SASTRY, HEMA VENKATACHALAM, JAY BERNSTEIN, and NATHAN W. LEVIN. Alterations in glomerular RNA in diabetic rats: Roles of glucagon and insulin. Kidney International, Vol. 20 (/981), pp. 491—499.

(55) Belfarhi Leila, Chouba Ibtissem, Amri Naziha, Boukris Nadia, Tahraoui Abdelkrim .Histological and Hormonal Study of the Protective Effect of the Calotropis Procera against the Toxicity of Mercury Chloride. Ecology and biology. DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.2.1> UDC 582.923.6:581.6 LBC 28.592.7.

(56) Romero F, Pérez M, Chavez M, Parra G and Durante P. 2009. Effect of uric acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat- role of matrix metalloproteinase 2 and 9. Basic and Clinical pharmacology and toxicology. 105 6: 416-424.

- (57) Kitagawa, I.; Zhang, R.; Park, J.D.; Baek, N.I.; Takeda, Y.; Yoshikawa, M.; Shibuya, H. Indonesian medicinal plants. I. Chemical structures of calotroposides A and B, two new oxypregnane-oligoglycosides from the root of *Calotropis gigantea* (Asclepiadaceae). *Chem. Pharm. Bull.* 1992, 40, 2007-2013.
- (58) Sabrin R M Ibrahim , Gamal A Mohamed , Mohamed F Zayed , Samir A Ross.2017. 8-Hydroxyirilone 5-methyl ether and 8-hydroxyirilone, new antioxidant and α -amylase inhibitors isoflavonoids from *Iris germanica* rhizomes. *Bioorg Chem* 70:192-198.
- (59) Kuo-Liang Chen, Shing-Hwa Liu, Chin-Chuan Su, Cheng-Chieh Yen, Ching-Yao Yang, Kuan-I Lee, Feng-Cheng Tang, Ya-Wen Chen, Tien-Hui Lu, Yi-Chang Su, and Chun-Fa Huang 2012. Mercuric Compounds Induce Pancreatic Islets Dysfunction and Apoptosis in Vivo. *Int J Mol Sci.*2012 13(10): 12349–12366. doi: 10.3390/ijms131012349.
- (60) Kitagawa, I.; Zhang, R.; Park, J.D.; Baek, N.I.; Takeda, Y.; Yoshikawa, M.; Shibuya, H. Indonesian medicinal plants. I. Chemical structures of calotroposides A and B, two new oxypregnane-oligoglycosides from the root of *Calotropis gigantea* (Asclepiadaceae). *Chem. Pharm.Bull.*1992, 40, 2007-2013.
- (61) *J Lab Clin Med* 1985 Apr; 105(4):459-63. Free radical scavengers in mercuric chloride-induced acute renal failure in the rat. M S Paller. *Biomedical and Environmental sciences.* /Volume 24, Issue 5, October 2011, 550-559.
- (62) Areej Mohammad Al-Taweel, Shagufta Perveen, Ghada, Attiq Ur Rehman, Afsar, Rashad Mehmood, and Laila Mohamed Fadda.2017. Evaluation of Antiulcer and Cytotoxic Potential of the Leaf, Flower, and Fruit Extracts of *Calotropis procera* and Isolation of a New Lignan Glycoside. *Evid Based Complement Alternat Med.* 8086791. Published online 2017 Aug 30. doi: .//% .//10.1155/2017/8086791.
- (63) Cleverson Diniz T Freitas , Jefferson Soares Oliveira, Maria Raquel A Miranda, Nívea Maria R Macedo, Maurício Pereira Sales, Laurival A Villas-Boas, Márcio Viana Ramos. 2007. Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. *Plant Physiol Biochem* 45 (10-11):781-9. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.07.020.

- (64) Pouokam Guy B.1, Hatem Ahmed, Christianna Dawurung , Aliyu Atiku Shamaki David and Okewole Philipe. Influence of age on sub- chronic toxicity of the aqueous extract of the leaves of *Calotropis procera* on rabbits 2011. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences* Vol. 3(5) pp. 119-126.
- (65) Stéphanie CHACAR. 2018. Effet des composés phénoliques sur le vieillissement cardiaque et rénal : étude expérimentale chez le rat Soutenue le 6 juillet 2018 devant la Commission d'Examen. Thèse de doctorat.
- (66) V.H. Bhaskar, M.P. Patel.2009. Evaluation of Anti-hyperglycemic Activity of Extracts of *Calotropis procera* (Ait.) R.Br on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (2): 95. V.H. Bhaskar and Sumant Singh Ajay.
- (67) V.H. Bhaskar, M.P. Patel.2009. Evaluation of Anti-hyperglycemic Activity of Extracts of *Calotropis procera* (Ait.) R.Br on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (2): 95. V.H. Bhaskar and Sumant Singh Ajay.
- (68) C.P. MalikM.MehanS. Vermani. Distribution of Alkaline Phosphatase in Pollen hyGrains and Pollen Tubes of *Calotropis procera*.Author links open overlay panel 1975, *Biochemie and Physiologie der Pflanzen*. /6Volume 167, Issue 6, Pages 601-603.
- (69) Femke Hümmeke-Oppers , Pleun Hemelaar , Peter Pickkers · 2019. Innovative Drugs to Target Renal Inflammation in Sepsis: Alkaline Phosphatase.2019*Front Pharmacol.* 23; 10:919. doi: 10.3389/fphar.2019.00919.
- (70) MF. Sowers, J. L. Beebe, D. McConnell, John Randolph, M. Jannausch.Testosterone Concentrations in Women Aged 25–50 Years: Associations with Lifestyle, Body Composition, and Ovarian Status. *American Journal of Epidemiology*, Volume 153, Issue 3, 1 February 2001, Pages 256–264, <https://doi.org/10.1093/aje/153.3.256>.
- (71) Gender differences in hepatocellular cancer: disparities in nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis and liver transplantation Eric M. Wu1,

Linda L. Wong¹, Brenda Y. Hernandez³, Jun-Fang Ji⁴, Wei Jia³, Sandi A. Kwee³, and Sumodh Kalathil². *Hepatoma Res.* 2018; 4: doi:10.20517/2394-5079.2018.87.

(72) Merzoug Sameha. Effets de la toxicité chez le rat male wistar Ratus ratus: Aspect pondérale biochimique et histologique. Thèse de magistère. 2004-2005.

(73) Yoshihiro Maruo , Yoriko Morioka , Hiroshi Fujito , Sayuri Nakahara , Takahide Yanagi , Katsuyuki Matsui , Asami Mori , Hiroshi Sato , Robert H Tukey , Yoshihiro Takeuchi. 2014. Bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase variation is a genetic basis of breast milk jaundice. *J Pediatr.* 165(1):36-41.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2014.01.060.

(74).S Ramachandra Setty , Absar Ahmed Quereshi, A H M Viswanath Swamy, Tushar Patil, T Prakash, K Prabhu, A Veeran Gouda. Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol- induced hepatic injury in rats 2007 *Fitoterapia.* Dec; 78(7-8):451-4. doi: 10.1016/j.fitote.2006.11.022.

(75) Lewi S. Walter P. Clarke T.K. 1964. Allaitement maternel et hyperbilirubinémie du nouveau-né *Biol Neonate*; 7:294–304 (DOI:10.1159/000239932).

(76) F. Bonnet, C. Vauris, B. Balkau, P. Ritz. CA-136 : La bilirubine plasmatique est fortement corrélée à la masse musculaire : intérêt comme marqueur après chirurgie bariatrique. *Diabete et metabolisme.* Doi : 10.1016/S1262-3636(16)30268-3.

(77) Areej Mohammad Al-Taweel, Shagufta Perveen, Ghada Ahmed Fawzy, Attiq Ur Rehman, Afsar Khan, Rashad Mehmood, and Laila Mohamed Fadda · Evaluation of Antiulcer and Cytotoxic Potential of the Leaf, Flower, and Fruit Extracts of *Calotropis procera* and Isolation of a New Lignan Glycoside. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017; 2017: 8086791. doi: 10.1155/2017/8086791.

- (78) Abid Ali1 and Tabassum Mahboob. Protective Efficacy of Calotropis Procera Leaf Hexane Extract against Ibuprofen Induced Kidney Toxicity in Albino Rats. *Ann Jinnah Sindh Med Uni* 2018;4(1):13-22.
- (79) www.pourlascience.fr/sd/biologie/des-macrophages-gardiens-de-la-fertilite-masculine.
- (80) Meltem Uzunhisarcikli, Ayse Aslanturk , Suna Kalender, Fatma Gokce Apaydin , Hatice Bas. 2016 Sep Mercuric chloride induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The protective effects of sodium selenite and vitamin E. *Toxicol Ind Health*; 32 (9):1651-62. doi: 10.1177/0748233715572561.
- (81) Michelle M. White, Patrick Geraghty, Elaine Hayes, Stephen Cox, William Leitch, Bader Alfawaz, Gillian M. Lavelle, Oliver J. McElvaney, Ryan Flannery, Joanne Keenan, Paula Meleady, Michael Henry, Martin Clynes, Cedric Gunaratnam, Noel G. McElvaney, and Emer P. Reeves. Neutrophil Membrane Cholesterol Content is a Key Factor in CysticFibrosis Lung Disease. *EBioMedicine*. 2017. Sep; 23: 173–184. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.08.013.
- (82) <https://www.pourlascience.fr/sd/biologie/des-macrophages-gardiens-de-la-fertilite-masculine-12682.php>.
- (83) Akinosoglo K.S., Solomou E.E., Gogos C.A. Malaria: a Haematological Disease. *Hematology*, 2012, vol. 17, no. 2, pp. 106-114. DOI: <https://doi.org/10.1179/102453312X13221316477336>.
- (84) Cave M., Appana S., Patel M., et al. Polychlorinated Biphenyls, Lead, and Mercury are associated with Liver Disease in American Adults: NHANES 2003-2004. *Environ Health Perspect*, 2010, vol. 118, no. 12, pp. 1735-1742. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.1002720>.
- (85) Christensen, M., Mogensen, S.C., Rungby, J. Toxicity and Ultrastructural Localization of Mercuric Chloride in Cultured Murine Macrophages. *Arch Histological and Hormonal Study of the Protective Effect of the Calotropis Procera Natural Systems and Resources*. 2020. Vol. 10. No.2 13 *Toxicol*, 1988, vol. 62, no. 6, pp. 440-446. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00288347>.

- (86) Rosado Jde.D. Rodriguez-Sosa M. Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF): a Key Player in Protozoan Infections. *Int J Biol Sci*, 2011, vol. 7, no. 9, pp. 1239-1256. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.7.1239>.
- (87) Schwarzer E., Turrini F., Ulliers D., et al. Impairment of Macrophage Functions After Ingestion of Plasmodium Falciparum-Infected Erythrocytes or Isolated Malarial Pigment. *J ExpMed*, 1992, vol. 176, no. 4, pp. 1033- 1041.
- (88) Guria S., Alteration of Cytomorphology of Peritoneal Macrophages of Albino Rat Exposed to Mercuric Compound. *World scientific News*, 2018,vol. 92, no. 2, pp. 392-399.
- (89) La Voie S.P., Mapolelo D.T., Cowart D.M., et al. Organic and Inorganic Mercurials Have Distinct Effects on Cellular Thiols, Metal Homeostasis, and Fe-Binding Proteins in Escherichia Coli. *J. Biol. Inorg Chem*, 2015, vol. 20,no. 8, pp. 1239-1251. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-015-1303-1>.
- (90) Kwon C.W., Park K-M., Kang B-Ch., et al. Cysteine Protease Profiles of the Medicinal Plant Calotropis Procera R. Br. Revealed by De Novo Transcriptome Analysis. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3, p. e0119328. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119328>.
- (91) Gonçalves C.F., Santos M.C., Ginabreda M.G., et al. Flavonoid Rutin Increases Thyroid Iodide Uptake in Rats. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 1, p. e73908. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073908>.
- (92) Panda S., Jafri M., Kar A., Meheta B.K. Thyroid Inhibitory, Antiperoxidative and Hypoglycemic Effects of Stigmasterol Isolated from Butea Monosperma. *Fitoterapia*, 2009, vol. 80, no. 2, pp. 123-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.12.002>
- (93) Wongmekiat O., Leelarugrayub N., Thamprasert K. Beneficial Effect of Shallot (*Allium ascalonicum* L.) Extract on Cyclosporine Nephrotoxicity in Rats. *Food Chem Toxicol*, 2008, vol. 46, no. 5, pp. 1844-1850. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.029>.
- (94) George J.M. Effect of Mercury on Response of Isolated Fat Cells to Insulin and Lipolytic Hormones. *Endocrinology*, 1971, vol. 89, no. 6, pp. 1489-1498.
- (95) Eusebio M., Daniel J.W. Mercury Poisoning: II. New York, MSS Information Corporation, 1973. 293 p.

- (96) Ramachandra Setty S., Quereshi A.A., Viswanath Swamy A.H., et al. Hepatoprotective Activity of Calotropis Procera Flowers Against Paracetamol-Induced Hepatic Injury in Rats. *Fitoterapia*, 2007, vol. 78, no. 7-8, pp. 451-454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.11.022>.
- (97) Lin Y.C., Lian I.B., Kor C.T., et al. Association Between Soil Heavy Metals and Fatty Liver Disease in Men in Taiwan: a Cross Sectional Study. *BMJ Open*, 2017, vol. 7, no. 1, p. e014215. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-014215>.
- (98) Zehra R., Carpenter D.O., Fatmi S.S. Pathophysiological Mechanisms of Mercury's Effect on Thyroid Gland. *International Journal of Thyroid Disorder and Therapy*, 2018, vol. 1, no. 1, pp. 1-6.
- (99) Zaher AM., et al. -Neurodegenerative Disorders Associated with Mercuric Chloride Toxicity in Mice and the Role of Some Antioxidantl. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 6.4 (2015).
- (100) Francisco B. Teixeira, Ana C. A. de Oliveira, Luana K. R. Leão, Nathália C. F. Fagundes, Rafael M. Fernandes, Luanna M. P. Fernandes, Márcia C. F. da Silva, Lilian L. Amado, Fernanda E. S.Sagica, Edivaldo H. C. de Oliveira, Maria E. Crespo-Lopez, Cristiane S. F. Maia and Rafael R. Lima. Exposure to Inorganic Mercury Causes Oxidative Stress, Cell Death, and Functional Deficits in the Motor Cortex. *Front. Mol. Neurosci.*, 15 May 2018 <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00125>.
- (101) B.Moller-Madsen. Localization of mercury in CNS of the rat V. Inhalation exposure to metallic mercury. *Archives of Toxicology* volume 66, pages79–89 (1992).
- (102) De Isaak Mikhaïlovich Trakhtenberg. Chronic Effects of Mercury on Organisms. 1974. DHEW Publication.
- (103) Tsuguyoshi Suzuki, Nobumasa Imura, Thomas W. Clarkson. 1991. *Advances in Mercury Toxicology*. Springer Science & Business Media, 1991.
- (104) Amjad Ibraim Oraibi, Maha N Hamad. 2018. Phytochemical Investigation of Flavanoid of Calotropis Procera in Iraq, Isolation and Identification of Rutin, Quercetin and Kampferol. *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol. 10(9), 2018, 2407-2411.
- (105) Sen Pathak , Asha S Multani, Pratip Banerji, Prasanta Banerji. Ruta 6 selectively induces cell death in brain cancer cells but proliferation in normal

peripheral blood lymphocytes: A novel treatment for human brain cancer.
2003 Oct; 23(4):975-82.

(106) Turan Akkoyun , A.Şükrü Bengü , Mahire Bayramoglu Akkoyun ,
Aykut Ulucan , M.Sait Izgi , Ömer Sahin , Suat Ekin , Şule Melek.

Investigation of Protecting Effect of Boric Acid against Mercury II Chloride
Toxicity in Rat Brain Tissue H. Tr. J. Nature Sci. Volume 9, Issue 2, Page
127-133, 202

(107) Dimas Kubmarawa, Isiaka Ajani Ogunwande.2013.Composition of the
Leaves Essential Oil of Calotropis procera (R. Br.) from Nigeria.Journal of
essential oil-bearing plants JEOP 11(1):75-78.



DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.2.1>

UDC 582.923.6:581.6

LBC 28.592.7

HISTOLOGICAL AND HORMONAL STUDY OF THE PROTECTIVE EFFECT OF THE CALOTROPIS PROCERA AGAINST THE TOXICITY OF MERCURY CHLORIDE

Leila Belfarhi

University of Badji Moukhtar, Annaba, Algeria;
Center of Research in Physico-chemical analyses CRAPC, Tipaza, Algeria

Ibtissem Chouba

University of Badji Moukhtar, Annaba, Algeria

Naziha Amri

University of Badji Moukhtar, Annaba, Algeria

Nadia Boukris

University of Badji Moukhtar, Annaba, Algeria;
Service of Internal Medicine Hospital CHUIBEN SINA, Annaba, Algeria

Abdelkrim Tahraoui

University of Badji Moukhtar, Annaba, Algeria

Abstract. We undertook this study with the aim of investigating the detoxification of an extreme toxic metal mercury chloride by the Calotropis procera plant taken from the Algerian Sahara. We studied the protective effects of the plant Calotropis procera against renal toxicity and Mercury chloride-induced hepatic. Ten male and female albino rats Wistar were divided into four equal groups. Group (I) served as a healthy control group, group (II) were intra-peritoneal administered with 10 ml of Calotropis procera, group (III) were intra-peritoneal administrated with both 10 ml of the plant Calotropis procera and 0.2 mg of mercuric chloride ($HgCl_2$) and group (IV) were intra-peritoneal administrated with both 0.2 mg of mercuric chlorid ($HgCl_2$) and 10 ml of the plant Calotropis. All groups were treated for 20 days. Mercury chloride causes a slight increase in glomerular cellularitis in the kidneys of male and female rats. Treatment with Calotropis procera had significantly improving protective effects of kidney of female rats from toxicity of mercuric chloride. Calotropis procera causes a thyroid-like appearance in the glomeruli of the male kidneys to hide the lesions of mercury chloride. Our results have shown that the plant Calotropis procera completely protects the liver of female rats against the toxicity of mercury chloride. In the liver of male rats, mercury chloride causes macro-vacuolar steatosis. Treatment with Calotropis procera hid the hepatic steatosis of male rats and centralized them in the center under the aspect of peri-centro-lobular medio-vacuolar steatosis. Mercuric chloride caused a decrease in the secretion of the hormone ACTH in the group of male and female rats. Treatment with Calotropis procera caused increased ACTH levels in female rats and did not cause ACTH changes in male rats. Our results demonstrate from hormone analyzes of the hormone ACTH that female rats are resistant more than male rats via the toxicity of mercury chloride.

Key words: mercury, *Calotropis procera*, АСТН, histology, kidney, liver, glomerular cellularity, discrete lesion, thyroid-like condition.

Citation. Belfarhi L., Chouba I., Amri N., Boukris N., Tahraoui A. Histological and Hormonal Study of the Protective Effect of the *Calotropis Procera* Against the Toxicity of Mercury Chloride. *Natural Systems and Resources*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 5-14. DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.2.1>

УДК 582.923.6:581.6

ББК 28.592.7

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ И ГОРМОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ CALOTROPIS PROCERA ПРОТИВ ТОКСИЧНОСТИ ХЛОРИДА РТУТИ

Лейла Белфархи

Университет Баджи Мухтар, г. Аннаба, Алжир;
Научно-исследовательский центр физико-химических анализов СРАРС, г. Типаза, Алжир

Ибтиссем Чуаба

Университета Баджи Мухтар, г. Аннаба, Алжир

Назиha Амри

Университета Баджи Мухтар, г. Аннаба, Алжир

Надия Букрис

Университет Баджи Мухтар, г. Аннаба, Алжир;
Клиника внутренних болезней CHUIBEN SINA, г. Аннаба, Алжир

Абделькрим Тахрауи

Университет Баджи Мухтар, г. Аннаба, Алжир

Аннотация. Мы предприняли это исследование с целью изучения детоксикации чрезвычайно токсичного металлического хлорида ртути с помощью растения *Calotropis procera*, взятого из алжирской Сахары. Мы изучили защитное действие растения *Calotropis procera* против почечной токсичности и гепатита, вызванного хлоридом ртути. Десять самцов и самок крыс-альбиносов линии Wistar были разделены на четыре равные группы. Группа (I) служила здоровой контрольной группой, группе (II) внутривентриально вводили 10 мл *Calotropis procera*, группе (III) внутривентриально вводили как 10 мл *Calotropis procera*, так и 0,2 мг хлорида ртути ($HgCl_2$) и группе (IV) внутривентриально вводили как 0,2 мг хлорида ртути ($HgCl_2$), так и 10 мл *Calotropis procera*. Все группы получали лечение в течение 20 дней. Хлорид ртути вызывает небольшое увеличение гломерулярного клеточного материала в почках самцов и самок крыс. Лечение *Calotropis procera* значительно улучшило защитные эффекты почек самок крыс от токсичности хлорида ртути. *Calotropis procera* вызывает щитовидно-подобный вид клубочков мужских почек, чтобы скрыть поражения хлоридом ртути. Наши результаты показали, что растение *Calotropis procera* полностью защищает печень самок крыс от токсичности хлорида ртути. В печени самцов крыс хлорид ртути вызывает макровакуолярный стеатоз. Лечение *Calotropis procera* скрыло стеатоз печени самцов крыс и сосредоточило их в центре в аспекте периферо-лобулярного медио-вакуолярного стеатоза. Хлорид ртути вызывал снижение секреции гормона АКТГ в группе самцов и самок крыс. Лечение *Calotropis procera* вызывало повышение уровня АКТГ у самок крыс и не вызывало изменений АКТГ у самцов крыс. Наши результаты гормонального анализа гормона АКТГ, который показал, что самки крыс более устойчивы, чем самцы, из-за токсичности хлорида ртути.

Ключевые слова: ртуть, *Calotropis procera*, АКТГ, гистология, почка, печень, гломерулярная клеточность, дискретное поражение, тироидоподобное состояние.

Цитирование. Белфархи Л., Чуаба И., Амри Н., Букрис Н., Тахрауи А. Гистологическое и гормональное исследование защитного действия *Calotropis Procera* против токсичности хлорида ртути // *Природные системы и ресурсы*. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 5–14. – (На англ. яз.). – DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.2.1>

Introduction

Heavy metals are toxic elements found in the environment, food, vaccines and in the area we breathe. The main sources of heavy metals are food and vaccines. The long-term risks of heavy metals are enormous. Studies have shown that aluminum-based vaccines are responsible for neurological deficits such as Alzheimer's disease, the Guamanian variant, ALS – PDC and Autism Spectrum disorders in children [20]. Heavy metals are accumulated in the intestinal cells, perforating the mucous membranes. This causes the passage of all toxic elements, viruses, and food debris. Among the most toxic metals is mercury chloride. Its toxicity depends on several factors: its volatility, its viscosity and its speed. It is a metal that can cause poisoning even at low doses. It acts in a discreet and slow manner. Mercury chloride targets specific sites in the body. Studies on the toxicology of mercury chloride have shown that it accumulates in the vocal cords [16], the thyroid gland [25]. It acts on lipids and transforms them into glucose and energy. They activate the metabolism and increase the energy of the cells to weaken them afterwards. Studies have shown that it is able to alter the function of mitochondria in the liver of poisons [14].

The toxicity of mercury chloride also affects the liver and can lead to the fall of liver enzymes such as alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ -glutamyl-transferase, and lactate dehydrogenase [23]. Mercury chloride can also increase lipid peroxidation in the liver and kidney of female rats and decreases the antioxidant reserves such as glutathione [5]. It can also cause hepatic necrosis even at low doses [5]. Mercury chloride also accumulates in the kidneys and causes alterations which can lead to kidney failure.

Mercury sufferers are generally subjected to a drug treatment which is supposed to relieve the anomalies on the damaged organs and tissues but do not act directly on the disappearance of the toxicity and its effects. In other words, drugs cure illnesses that produce mercury but do not eliminate it. It is for this reason that new voices call to consider the potential effect of medicinal plants which act on mercury according to a rather reconstructive mechanism, in particular on tissue recovery and regeneration.

This article suggests testing the efficacy of the medicinal plant *Calotropis procera* on the toxicity of mercury from a histological study of the tissues of the kidneys of female rats suffering from the toxicity caused by mercury. The sample consists of sections obtained by a histological study on ten rats. The objective is to test the effectiveness of the plant in eliminating the toxicity of mercury on Wistar rats. This research aims to assess the protective effect of the plant *Calotropis procera* against the toxicity of mercury chloride.

Background. Detoxification of mercury chloride is accomplished by chelators like demercaptan; however, they have become ineffective due to the toxicity of mercury chloride. As a result, resorting to natural methods has become the solution to deal with mercury chloride poisoning. To detoxify the mercury chloride, it is necessary to use a more toxic plant similar to it. To do this, we have chosen the *Calotropis procera* plant. It is a plant which has adapted to the heat period. In Algeria, it grows in hot regions of the Sahara like Illizi, Adrare, Bechar and Tendouf. It is a plant which is not edible by animals. Camels detect its toxicity and flee from this plant. It is a plant characterized by the presence of a white liquid which circulates in all parts of the plant. This liquid is the latex of *Calotropis procera*. It contains cysteine proteins, rich in thiol groups, which have been widely implicated in the detoxification of heavy metals. It is a plant characterized by strong odor, giant green leaves and filled inside with white milk. This plant is characterized by the presence of several chemical components. It contains sweet components like cardenolides glycosides. It is even made up of energetic molecules like caffeine. The objective of this study is to seek new natural ways to decrease the toxicity of mercury chloride. This research also aims to decrease the toxicity of mercury chloride using this plant.

Methods and Material

Experimental animal design. Ten male and female albino rats Wistar weighting 250g were kept in the laboratory under constant conditions of temperature ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) at one month before and through the experimental work, being maintained on a standard diet and

water were ready ad-libitum. The experimental rats were being divided into four groups (see Table).

Sample collection. At the end of the experimental interval, the animals were kept fasting for 12 hours and the blood samples were collected of the retro-orbital venous plexus under diethyl ether anesthesia. The blood samples from each animal were added in tubes containing EDTA and plasma was separated after centrifugation at 4000 rpm for ten minutes at 5°C. The clear plasma samples were stored at -20°C until analysis. After blood collection, all animals were sacrificed by cervical dislocation and liver and kidney of each rat was rapidly excised, washed in isotonic saline, then cut into small pieces (0.5 × 0.5 cm) and fixed in 10 % formalin saline solution for histological examination.

Hormonal analysis. Basal ACTH plasma concentrations were determined by the “IMMULATE / ACTH” kit using the minarine method.

Histopathological examination. After fixation of kidneys and liver tissues in 10% saline buffered formalin, the kidneys and liver tissues were dried in ascending grades of ethanol, cleared in xylol, and then immersed in paraffin. Impregnated kidneys and liver tissues were treated three times in pure paraffin to be established in blocks. Sections (5 µm thick) were preparatory using Leica microtome and stained by hematoxylin and eosin (H&E) for histopathological investigation [4].

Statistical analysis. In the present study, the results were analyzed using the ANOVA statistics to compare the significance between the groups. The results of comparison between the groups are significant if $P < 0.05$.

Results of the Histological Study

Effect of mercury chloride on variations in the ACTH level in male rats of the Wistar strain.

The administration of mercury chloride intraperitoneally at 0.20 mg / kg bodyweight over a 20-day period caused a decrease in the secretion of the hormone ACTH in the group of male rats. According to our results, chloride has been found to cause a decrease in ACTH secretion in male rats. Our results have demonstrated that there is significant difference between the batches of rats treated with mercury chloride, the plant, Plant + mercury, Mercury + Plant. Thep-values 0.006092. The result is significant at $p < 0.05$ (see Fig. 3).

Effect of mercury chloride on variations in the ACTH level in female rats of the Wistar strain.

The administration of mercury chloride intraperitoneally at 0.20 mg / kg bodyweight over a 20-day period caused a decrease in the secretion of the hormone ACTH in the group of female rats. ACTH levels have been found to increase in groups treated with *Calotropis procera*,

Calotropis procera + mercury, mercury + *Calotropis procera*. Our results have shown that there is an insignificant difference between the batches treated with mercury chloride. The p-value is 0.00001. The result is significant at $p < 0.05$ (see Fig. 3).

Discussion. The microscopic study of the kidneys of female rats treated with mercury chloride demonstrated a normal renal parenchyma with slight increase in glomerular cellularity (see Fig. 1). This observation shows that the mercury chloride caused a discreet lesion in the glomerulus and for this reason, the renal parenchyma appeared normal. Studies have found the same observations as our study in malaria infestations

Experimental animal design

Groups of Rats	Number of rats	Treatment
Group 1	6	Healthy control group received distilled water for 20 days
Group 2	6	The animals received 10 ml of the <i>Calotropis procera</i> plant by intra-peritoneal injection
Group 3	6	The animals were treated by intraperitoneal injection with 10 ml of the plant <i>Calotropis procera</i> and 0.2 mg of mercury chloride (Plant + mercury chloride)
Group 4	6	The animals were treated intra-peritoneal injection with 0.2 mg of mercury
Group 5	6	The animals treated intra-peritoneal injection with 0.2 mg of mercury chloride and 10 ml of the plant <i>Calotropis procera</i>

in mice. They observed that the kidneys are of normal structure. In parallel, they observed discreet histological signs of glomerular involvement (slight increase in cellularitis) and discreet infiltration of inflammatory lymphocytic cells [6]. Mice infection with malaria leads to an increase in cellularity and the number of macrophages [1].

The cellularity observed during malaria infection is due to the accumulation of erythrocytes infected by the parasite plasmodium chabaudi in macrophage [18] these macrophages release the factor inhibiting the migration of macrophages (MIF) involved in the onset of chronic inflammatory diseases.

The catabolism of erythrocyte hemoglobin by malaria produce an insoluble pigment, "hemozoin that increase cellularity and the number of macrophages [19]. The accumulation of hemozoin has consequences for the activities and

functions of macrophages. The latter makes the macrophages unable to degrade the ingested material and repeat the phagocytic cycle. This action seriously and permanently damages the macrophages [3].

Based on our result the toxicity of mercury chloride is manifested by a discrete lesion in the glomerulus, normal renal parenchyma and increased glomerular cellularity. Our finding are consistent with study in malaria infestations in mice how observed that the kidneys are of normal structure. In parallel, they observed discreet histological signs of glomerular cellularity. There are also studies, which have found that heavy metals act by a mechanisms similar to that observed during malaria infection. For example, Margot Christensen et al [3] how observed that mercuric chloride accumulates in macrophages and causes increased cellularity. It causes from low concentration the death of macrophages from

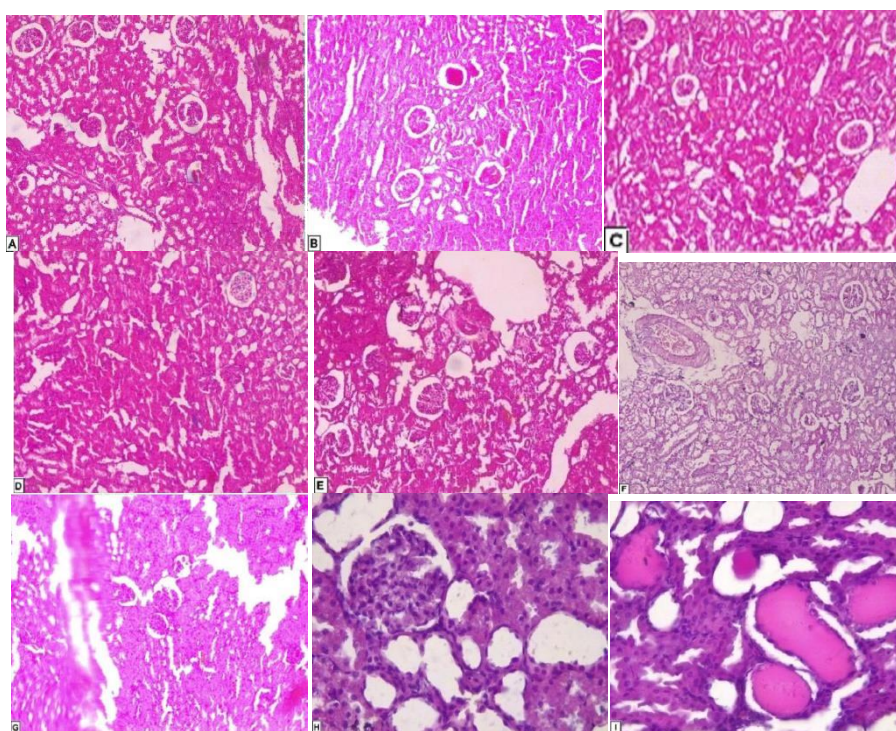


Fig. 1. Rat Histological Study of Kidney:

- A** – Histological section of the female rat kidney control, normal renal parenchyma; **B** – Histological section of the rat kidney mercury, normal renal parenchyma and slight increase in glomerular cellularity; **C** – Histological section of the female rat kidney plant + mercury, normal renal parenchyma; **D** – Histological Section of the Female Rat Kidney Mercury + Plant, Normal renal parenchyma; **E** – Histological section of the female rat kidney plant, normal renal parenchyma; **F** – Histological Section of the Rat Male Control Kidney, Normal renal parenchyma; **G** – Histological Section of the Male Rat Mercury, Slight increase in glomerular cellularitis, renal vascular congestion; **H** – Histological Section Rat Male Mercury + Plant, Normal renal parenchyma. Slightly ischemic glomeruli. Very focal (limited) pseudo-thyroid aspects; **I** – Histological section male rat mercury, slight increase in glomerular cellularitis, renal vascular congestion

these low levels of mercury chloride and that it causes the death of macrophages by its action on their migration and their phagocytosis capacity.

There are also studies, which have also found that heavy metals act by mechanism similar to that observed during malaria infection. For example, the aluminum poisoning causes an increase in the number of macrophages and cellularity in the brain and causes the macrophagicytophac it is MEC [21]. Gérardie and Authier [9] have found that rats intoxicated by aluminum accumulate insoluble pigment osmiophilic crystals in their macrophages.

Microscopic analysis of kidney tissue of male rats treated with mercury chloride and

the plant *Calotropis procera*, demonstrated a normal renal parenchyma. Slightly ischemic glomeruli with a focal pseudo-thyroid aspect (limited) (see Fig. 2).

These observations show that the glomeruli have taken on the structure of the thyroid gland. It can be explained by saying that mercury chloride accumulates in the thyroid gland and the vocal cords and by this action; it blocks the thyroid gland and the vocal cords (the sense). *Calotropis procera* released the vocal cords and sound. By this action, it created a cynicism or vibration, which caused the displacement of the cells of the thyroid gland with mercury chloride towards the renal glomeruli. *Calotropis procera*

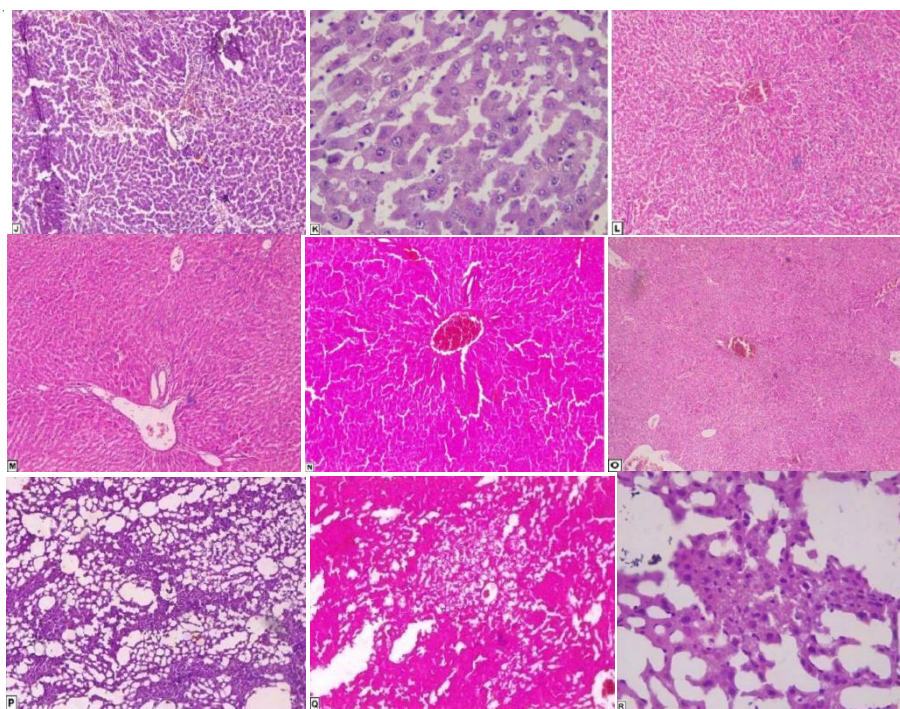


Fig. 2. Rat histological study of liver:

- J** – Histological section of female rat control, hepatic parenchyma of subnormal morphology. Vascular congestion. Photo centered on a door space; **K** – Histological section of female rat treated with mercury chloride. Hepatic parenchyma of subnormal morphology. Dilation of the hepaticsinusoids + Vascular congestion (including for the door spaces);
- L** – Histological Section Female Rat Treated with Mercury Chloride and the Plant, Hepatic parenchyma of subnormal morphology. Vascular congestion. Artifacts related to a fixation deficit; **M** – Female rat treated with the plant and mercury chloride: hepatic parenchyma of subnormal morphology. Vascular congestion. Artifact srelated to a fixation deficit;
- N** – Rat Female Treated with the Plant: Hepatic parenchyma of subnormal morphology. Vascular congestion;
- O** – Histological section male rat control (liver), hepatic parenchyma of subnormal morphology; **P** – Histological section of male rat treated with mercury chloride, the study of a histological section of the liver in rats treated with mercury chloride shows a diffuse macro-vacuolar steatosis; **Q** – Histological section male rat treated with the plant+mercury chloride, Foci of peri-centro-lobular medio-vacuolar steatosis. Dilation of the hepatic sinusoids + congestive aspects.

We note the presence of foci of medio vacular steatosis localized pericentrolobulaire. Discreet peri-centro-lobular mid-vacuolar steatosis. The plant reduced the steatosis in foyes located in the center. Besides, the plant protected the male rat against steatosis; **R** – Histological section male rat treated with mercury chloride + plant, macro-vacuolar and somewhat micro-vacuolar, diffuse steatosis

has caused the displacement and detachment of mercury chloride. Recent studies [12] have shown that mercuric chloride has a great affinity for thiol groups. Calotropis procera is a source of thiols protease which are known for their chelating action of heavy metals thanks to their richness in sulfur component. It is thanks to these molecules that Calotropis procera was able to fix and displace mercury chloride [11].

The thyroid-like aspect which appeared in the glomeruli of rats treated with Calotropis procera shows that the plant Calotropis procera has an activity which resembles to the activity of the thyroid gland. The Calotropis procera plant contains molecules that have a relationship with the thyroid gland. Rutin is one of the constituents of the Calotropis procera plant and which seems to stimulate thyroid function by absorption of thyroid iodide and the synthesis of T3, T4 hormones [10]. Stigmasterol is also a major constituent of the Calotropis procera plant, which has a relationship with the thyroid gland. For example, studies have shown that stigmasterol reduces serum level of triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) indicating its thyroid-inhibiting properties. This shows that this molecule Stigmasterol from Calotropis procera has similar activity in the thyroid gland [15].

Histopathological investigation of kidney tissue sections of male Wistar rats treated with the plant Calotropis procera and mercury chloride shows that the renal glomeruli are of normal structure. Our results show that the Calotropis procera plant protected the kidneys of male rats

against the toxicity of mercury chloride. The protective effect of the plant Calotropis procera is due to its richness in polyphenol components. The latter are known by its protective action of the kidneys [24].

Microscopic examination of section of the liver of male rats treated with mercury chloride shows diffuse macro-vacuolar steatosis. Our results have shown that the toxicity of mercury chloride manifests itself in the liver through diffuse macro-vacuolar steatosis. This shows that mercury chloride acts by a mechanism, which increases the release of lipids. These results agree with research published, who notify that mercury chloride causes fatty liver disease in adults [2]. The toxic effects of mercury chloride on the liver have been explained by other studies [8] that mercury chloride has an action on the metabolism of thiols. It binds with free sulfhydryl groups, which displaces it towards plasma membranes and causes lipid solubility. Eusebio Mayz, J.W. Daniel [7] have found also that mercury chloride causes fatty liver disease through a mechanism that involves the hormone ACTH. It promotes lipolysis through the inhibition of the hormone ACTH activity.

Microscopic investigation of section liver tissue of male rats treated with the plant Calotropis procera and the mercury chloride upstream that the plant Calotropis procera hid the steatosis and centralized them in the center under the aspect of mid-vacuolar steatosis peri-Centro-lobular.

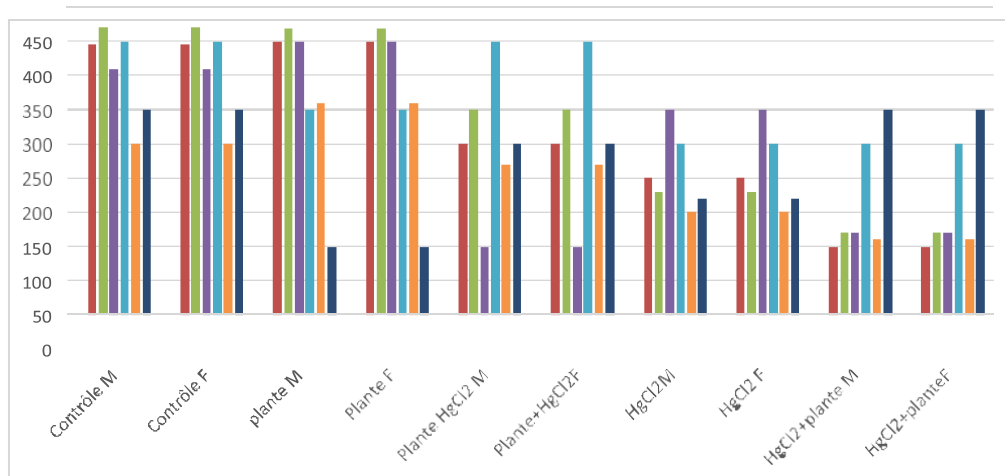


Fig. 3. Variation in the Adreno Cortico-Trophic Hormone ACTH in male and female rats treated with the plant Calotropis procera; Calotropis procera plant + mercury chloride, mercury chloride + Calotropis procera plant. NS (significant difference $P < 0, 05$)

Our results show that the plant hides the lesions of mercury chloride which appeared in the liver in the form of diffuse macro-vascular steatosis. On the other hand, it has reduced the extent of steatosis. According to histological sections, it has been found that in the groups of rats treated only with mercury steatosis is diffuse while in the group treated with plant and mercury, the steatosis is discreet and centro-lobular. Our results have shown that the plant reduced steatosis in foci located in the center. The plant hides these steatoses and could protect the male rat against fatty liver. Our results have shown that the treatment of male rats with mercury chlorides first treatment and afterwards by the plant caused macro-vacuolar steatosis and a little micro-vacuolar, diffuse. This shows that the plant protects the liver of male rats when it was injected as the first treatment. Our results then demonstrate that the *Calotropis* plant will have a protective effect on the liver against the toxicity of mercury chloride. A study also reported that the plant *Calotropis procera* contains flavonoids, which can decrease liver damage due to paracetamol [17].

The histological study of the liver of female rats treated with mercury chloride and the plant *Calotropis procera* showed a liver parenchyma of subnormal morphology. This shows that the *Calotropis* plant will fully protect the liver of female rats. "The results of this study show that the plant *Calotropis procera* protected the kidneys of male rats and protected the liver of female rats."

Results of the analysis of the hormone ACTH have shown that the plant *Calotropis procera* causes an increase in the level of ACTH in female rats. Eusebio Mayz, J.W. Daniel [7] have found that mercury chloride causes the appearance of fatty liver disease by a mechanism that involves the hormone ACTH. It promotes lipolysis through the inhibition of the hormone ACTH activity. Other studies have found a significant association between exposure to heavy metals (arsenic, mercury, cadmium, chromium, copper, nickel, lead, and zinc) of soil and fatty liver disease in men. They found that men were significantly more likely to have severe fatty liver disease than women [13]. The results of our work show that the liver of female rats is of subnormal structure and that the plant increased the rate of ACTH in female rats. This

shows that the plant *Calotropis procera* has molecules, which have increased in female rats their ability to resist the toxicity of mercury chloride via the hormone ACTH. Cardiac glycosides are among the main components that characterize the plant *Calotropis procera*. Two cardiac glucosides, cycloartans: Neocimicigenosides A (1) and B (2) have been isolated from the plant *Cimicifuga racemosa* that it increases the secretion of the hormone ACTH [22].

Conclusion

This study sheds light on a plant called *Calotropis procera* and its detoxifying effect on mercury chloride. Our study unveiled a new mechanism for detoxifying a metal as strong and toxic as mercury chloride. This study brings a new understanding in the detoxification of mercury chloride using the plant *Calotropis procera*. The salts obtained in the study showed that the plant *Calotropis procera* imprinted a new path of detoxification of mercury chloride; *Calotropis procera* caused the detachment of the mercury chloride to shift. It moved the mercury chloride from the thyroid gland to the kidneys. At this level, it changed the shape of the glomeruli to the shape of the thyroid gland. By this form, it hides the lesions with mercury chlorides to stop the inflammatory reactions of female rats. The plant protected the kidneys of male rats. In the liver the *Calotropis*, the plant also hides the steatosis of the liver of male rats. The plant protected the liver of female rats. This plant protected the kidneys of male rats and it protected the liver from female rats.

REFERENCES

1. Akinosoglo K.S., Solomou E.E., Gogos C.A. Malaria: a Haematological Disease. *Hematology*, 2012, vol. 17, no. 2, pp. 106-114. DOI: <https://doi.org/10.1179/102453312X13221316477336>.
2. Cave M., Appana S., Patel M., et al. Polychlorinated Biphenyls, Lead, and Mercury are Associated with Liver Disease in American Adults: NHANES 2003-2004. *Environ Health Perspect*, 2010, vol. 118, no. 12, pp. 1735-1742. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.1002720>.
3. Christensen, M., Mogensen, S.C., Rungby, J. Toxicity and Ultrastructural Localization of Mercuric Chloride in Cultured Murine Macrophages. *Arch*

Toxicol, 1988, vol. 62, no. 6, pp. 440-446. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00288347>.

4. Dardouri K., Haouem S., Gharbi I., et al. Combined Effects of Cd and Hg on Liver and Kidney Histology and Function in Wistar Rats. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 2016, vol. 5, no. 5, pp. 159-169. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/jacen.2016.54017>.

5. Deepmala J., Sangeeta S., Srivastav A.K., Mercury Toxicity and its Treatment Options. *Lambert Academic Publishing*, 2013. 64 p.

6. Dument M.E., Maurois P., *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*. Masson, 1988.

7. Eusebio M., Daniel J.W. *Mercury Poisoning: II*. New York, MSS Information Corporation, 1973. 293 p.

8. George J. M. Effect of Mercury on Response of Isolated Fat Cells to Insulin and Lipolytic Hormones. *Endocrinology*, 1971, vol. 89, no. 6, pp. 1489-1498.

9. Gérardie R., Authier F. J. Caractérisation et Nouvelles Pistes Physiopathologiques. *Kinésithérapie la Revue*, 2008, vol. 8, no. 79, pp. 22-30. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1779-0123\(08\)70606-5](https://doi.org/10.1016/S1779-0123(08)70606-5).

10. Gonçalves C.F., Santos M.C., Ginabreda M.G., et al. Flavonoid Rutin Increases Thyroid Iodide Uptake in Rats. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 1, p. e73908. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073908>.

11. Kwon C.W., Park K-M., Kang B-Ch., et al. Cysteine Protease Profiles of the Medicinal Plant Calotropis Procera R. Br. Revealed by De Novo Transcriptome Analysis. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3, p. e0119328. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119328>.

12. LaVoie S.P., Mapolelo D.T., Cowart D.M., et al. Organic and Inorganic Mercurials Have Distinct Effects on Cellular Thiols, Metal Homeostasis, and Fe-Binding Proteins in Escherichia Coli. *J. Biol. Inorg Chem*, 2015, vol. 20, no. 8, pp. 1239-1251. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00775-015-1303-1>.

13. Lin Y.C., Lian I.B., Kor C.T., et al. Association Between Soil Heavy Metals and Fatty Liver Disease in Men in Taiwan: a Cross Sectional Study. *BMJ Open*, 2017, vol. 7, no. 1, p. e014215. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-014215>.

14. Mieiro C.L., Pardo A.M., Duarte A.S. Impairment of Mitochondrial Energy Metabolism of Two Marine Fish by in Vitro Mercuric Chloride Exposure. *Mar Pollut Bull*, vol. 15, no. 97 (1-2), pp. 488-493. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.05.054>.

15. Panda S., Jafri M., Kar A., Meheta B.K. Thyroid Inhibitory, Antiperoxidative and Hypoglycemic Effects of Stigmasterol Isolated from

Butea Monosperma. *Fitoterapia*, 2009, vol. 80, no. 2, pp. 123-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.12.002>.

16. Rahul K.S. *Patient Safety and Quality Improvement Otolaryngologic Clinics of North America. The Clinics: Surgery 52-1*. Amsterdam, Elsevier Health Science, 2018. 240 p.

17. Ramachandra Setty S., Quereshi A.A., Viswanath Swamy A.H., et al. Hepatoprotective Activity of Calotropis Procera Flowers Against Paracetamol-Induced Hepatic Injury in Rats. *Fitoterapia*, 2007, vol. 78, no. 7-8, pp. 451-454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.11.022>.

18. Rosado Jde. D. Rodriguez-Sosa M. Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF): a Key Player in Protozoan Infections. *Int J Biol Sci*, 2011, vol. 7, no. 9, pp. 1239-1256. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.7.1239>.

19. Schwarzer E., Turrini F., Ulliers D., et al. Impairment of Macrophage Functions After Ingestion of Plasmodium Falciparum-Infected Erythrocytes or Isolated Malarial Pigment. *J Exp Med*, 1992, vol. 176, no. 4, pp. 1033-1041.

20. Shaw C. A., Li Y., Tomljenovic L. Administration of Aluminium to Neonatal Mice in Vaccine Relevant Amounts is Associated with Adverse Long Term Neurological Outcomes. *J Inorg Biochem*, 2013, no. 128, pp. 237-244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.07.022>.

21. Guria S., Alteration of Cytomorphology of Peritoneal Macrophages of Albino Rat Exposed to Mercuric Compound. *World scientific News*, 2018, vol. 92, no. 2, pp. 392-399.

22. Su Y., Chi W.C., Wu L., et al. Photochemistry and Pharmacology of 9, 19-Cyclolanostane Glycosides Isolated from Genus Cimicifuga. *Chin J Nat Med*, 2016, vol. 14, no. 10, pp. 721-731. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(16\)30087-5](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(16)30087-5).

23. Uzunhisarcikli M., Aslanturk A., Kalender S., et al. Mercuric Chloride Induced Hepatotoxic and Hematologic Changes in Rats: The Protective Effects of Sodium Selenite and Vitamin E. *Toxicol and Health*, 2016, vol. 32, no. 9, pp. 1651-1662.

24. Wongmekiat O., Leelarugrayub N., Thamprasert K. Beneficial Effect of Shallot (*Allium ascalonicum* L.) Extract on Cyclosporine Nephrotoxicity in Rats. *Food Chem Toxicol*, 2008, vol. 46, no. 5, pp. 1844-1850. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.029>.

25. Zehra R., Carpenter D.O., Fatmi S.S. Pathophysiological Mechanisms of Mercury's Effect on Thyroid Gland. *International Journal of Thyroid Disorder and Therapy*, 2018, vol. 1, no. 1, pp. 1-6.

Information About the Authors

Leila Belfarhi, Postgraduate Student (Es Science) in Neurobiology, Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Badji Moukhtar, B.P.12, 23000 Annaba, Algeria; Researcher, Center of Research in Physico-Chemical Analyses CRAPC, Industrial Zone, Bou-Ismaïl, B.P.384, 16004 Tipaza, Algeria, belassinate@gmail.com.

Ibtissem Chouba, Lecturer, Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Badji Moukhtar, B.P.12, 23000 Annaba, Algeria, ibti-bio@hotmail.fr.

Naziha Amri, Postgraduate Student (Es Science) in Neurobiology, Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Badji Moukhtar, B.P.12, 23000 Annaba, Algeria, amrinaziha23@gmail.com.

Nadia Boukris, Laboratory Fellow, Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Badji Moukhtar, B.P.12, 23000 Annaba, Algeria; Doctor, Service of Internal Medicine Hospital CHU IBEN SINA, B.P. 12, 23000 Annaba, Alegria, n.boukhris@fatmedi_annaba.com.

Abdelkrim Tahraoui, Professor, Department of Animal Biology, Director, Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Badji Moukhtar, B.P.12, 23000 Annaba, Algeria, tahraouiabdelkrim23@gmail.com.

Информация об авторах

Лейла Белфархи, аспирант (Es Science) в области нейробиологии, лаборатория прикладной нейроэндокринологии, кафедра биологии, факультет естественных наук, Университет Баджи Мухтар, Б.П.12, 23000 г. Аннаба, Алжир; научный сотрудник, научно-исследовательский центр физико-химических анализов CRAPC, промышленная зона, Бу-Исмаил, Б.П.384, 16004 г. Типаза, Алжир, belassinate@gmail.com.

Ибтиссем Чуаба, лектор на кафедре биологии животных факультета естественных наук, Университет Баджи Мухтар, Б.П.12, 23000 г. Аннаба, Алжир, ibti-bio@hotmail.fr.

Назиha Амри, аспирант (Es Science) в области нейробиологии, лаборатория прикладной нейроэндокринологии, кафедра биологии, факультет естественных наук, Университет Баджи Мухтар, Б.П.12, 23000 г. Аннаба, Алжир, amrinaziha23@gmail.com.

Надия Букрис, сотрудник лаборатории прикладной нейроэндокринологии, кафедра биологии, факультет естественных наук, Университет Баджи Мухтар, Б.П.12, 23000 г. Аннаба, Алжир; врач, Клиника внутренних болезней CHU IBEN SINA, Б.П.12, 23000 г. Аннаба, Алжир, n.boukhris@fatmedi_annaba.com.

Абделькрим Тахрауи, профессор кафедры биологии животных, директор лаборатории прикладной нейроэндокринологии, кафедра биологии, факультет естественных наук, Университет Баджи Мухтар, Б.П.12, 23000 г. Аннаба, Алжир, tahraouiabdelkrim23@gmail.com.



PROTECTIVE EFFECT OF *Calotropis procera* OF TOXICITY OF MERCURIC CHLORIDE VIA ROUTE OF BIOCHEMISTRY PARAMETERS

BELFARHI LEILA ^{a,b*}, BAIRI ABDELMADJID ^a, CHOUBA IBTISSEM ^a, AMRI NAZIHA ^a, BOUKRIS NADIA ^{a,c} AND TAHRAOUI ABDELKRIM ^a

^a Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Badji, Moukhtar-Annaba-B.P.12, Annaba – 23000, Algeria.

^b Center of Research in Physico-Chemical Analyses CRAPC-Algiers, Industrial Zone, BP384 Bou-Ismaïl, Tipaza, Algeria.

^c Service of Internal Medicine CHU Iben Sina, laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Université of Badji, Mokhtar Annaba, Algeria.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

Editor(s):

(1) Dr. Juan Carlos Troiano, University of Buenos Aires, Argentina.

Reviewers:

(1) Damtew Bekele, Ambo University, Ethiopia.

(2) Namrata D. Jariwala, S. V. National Institute of Technology, India.

Received: 15 March 2022

Accepted: 23 May 2022

Published: 31 May 2022

Original Research Article

ABSTRACT

Mercury chloride is one of the most dangerous metals for health due to its volatility and its rapidity to pass through the human body. We undertook this study with the aim of investigating the detoxification of mercury chloride by the *Calotropis procera* plant taken from the Algerian Sahara. In this study, the toxicity of mercury chloride affected the kidney weights of male and female rats through increased weight. On the other hand, the plant *Calotropis procera* demonstrated a beneficial effect by restoring the weight of the kidneys. The results of this study demonstrated that the plant *Calotropis procera*. *procera* has a beneficial effect on the liver, which was able to restore its weight affected by the mercury chloride. Treatment of male and female rats with mercury chloride has also been found to lower blood urea levels, uric acid, proteins total, alkaline phosphatase and direct, indirect, total bilirubin levels. This toxicant caused an increase in blood sugar levels, blood creatinine, in male and female rats. Our results demonstrated no effect of mercury chloride and of the plant on cholesterol levels and triglycerides in female rats. No change in albumin levels was found in male and female rats. However, mercury chloride was found to increase cholesterol and triglyceride levels in male rats. The *Calotropis procera* plant restored cholesterol and triglycerides in male rats. This study can help to clarify that the detoxification of mercury chloride by *Calotropis procera* act directly on liver and kidney by ameliorating uric acid, blood sugar, creatinine, albumin, alkaline phosphatase, urea, total protein.

*Corresponding author: Email: belassinat@gmail.com;

Keywords: Biochemical parameters; *Calotropis procera*; liver; mercury; kidney weight.

1. INTRODUCTION

Mercury chloride is a toxic metal which can lead to the perturbation of the physiology of cells. For example, it increases the degree of urea [1] which stimulates the synthesis of the cellular immunity (cellularity). The same mechanism causes an increase in the blood urea level to induce the production of defense cells such as macrophages and neutrophils. This increases also the cellularity which the cancer uses as a matrix to proliferate. The perturbation of the biochemical parameters like the elevation of glycemia served like an advantage by mercuric chlorides to desequilibrate the power producer of cells. This mechanism of the blockage of the production of the insulin leads to the death of the cells [2]. Depletion of the production of the insulin hormone has been also observed in pancreatic cancer.

To detoxify the mercury chloride, more toxic plants similar to it can be used but in a beneficial way. Among these plants there is *Calotropis procera* *Calotropis procera* which is able to import new voices of detoxification of the mercury chloride. It is a plant known in the Algerian Tuareg population by "Torha". It protects from the toxicology of mercury chlorid by the regulation of biochemistry parameter that mercury chloride has desequilibrated. Besides, it may decrease the toxicity of mercury chloride through biochemical pathways. It impeaches mercury chlorid to use them to increase the cellularity [3]. The objective of this study is to find new natural ways to decrease the toxicity of mercury chloride.

2. METHODS AND MATERIALS

2.1 Animals

The study was carried out on adult male and female *Ratus ratus* *Ratus ratus* rats of the wistar strain, obtained from the Pasteur Institute in Algiers. The weight of the rats at the time of the experiment was 250 g / kg / bw. The animals were kept in standard food and water ad libitum. They were grouped together in large polyethylene cages (six rats per cage) in an air-conditioned animal facility at a temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$ with constant humidity (50 %) on a light / dark cycle of 12hrs-: 12 hrs hrs: 12hrs.

The air-dried sample (200g) was percolated using ethanol 1,3L for a period of 10 days. The extract were drained and concentrated under pressure using

Rotavapor (R110 at 40°C). The ethanol extract was allowed to dry and its weight was recorded. This was labeled CP1. Ethanol extract (10g) was dissolved in 60% aqueous methanol Aq.MeOH (150 ml), and partitioned with petroleum ether (150 ml), chloroform (150 ml) Ethyl acetate (150) ml sequentially. All fractions obtained were collected marcs after extraction with ethanol was repercolated with 5M hydrochloric acid (500 ml) for the period of 3 days. Aqueous acid fraction obtained was basified with solution of sodium hydroxide and portioned with chloroform. The chloroform fraction was collected in a weighted beaker (After evaporating excess chloroform using Rotavapor).

2.2 Traitement of Rats

The male and female wistar strain rats were divided into 10 (ten) lots of 6 (six) rats, each in the following order: Lot 1(one): control, Lot 2(tow) : plant, Lot 3(three) : Plant + mercury, Lot 4 (four): Mercury, Lot 5 (five): Mercury + C. Procera extract. The rats were treated with a dose of 0.20 mg / kg intraperitoneally for 19 (nineteen) days. The plant extract (10 ml) was injected into the rats by gavage for 19 days. The determination of biochemical parameters was done according to the method: Urea: kinetic Urease, uric acid: uricase, total bilirubin: direct DCA, Direct Bilirubin: DCA, Creatinine: uncompensated kinetic Jaffe, Glycemic: GOD, Albumin: Bromocresol Green, PAL: IFCC, Triglyceride: Triglycerideoxidase, Cholesterol: Cholesterol oxidase.

2.3 Statistical Analysis

In the present study, the results were analyzed using the ANOVA statistics to compare the significance between the groups. The results of comparison between the groups are significant if $P < 0.05$. The tukey test were used for multi-comparison between groups.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Effects of Mercury Chloride and the Plant *Calotropis Procera* on the Weight of Male and Female Rats

It is found that the treatment of male and female rats with mercury chloride at a dose of 0.20 mg/kg bw affects the total body weight (Fig, 1.a, b).

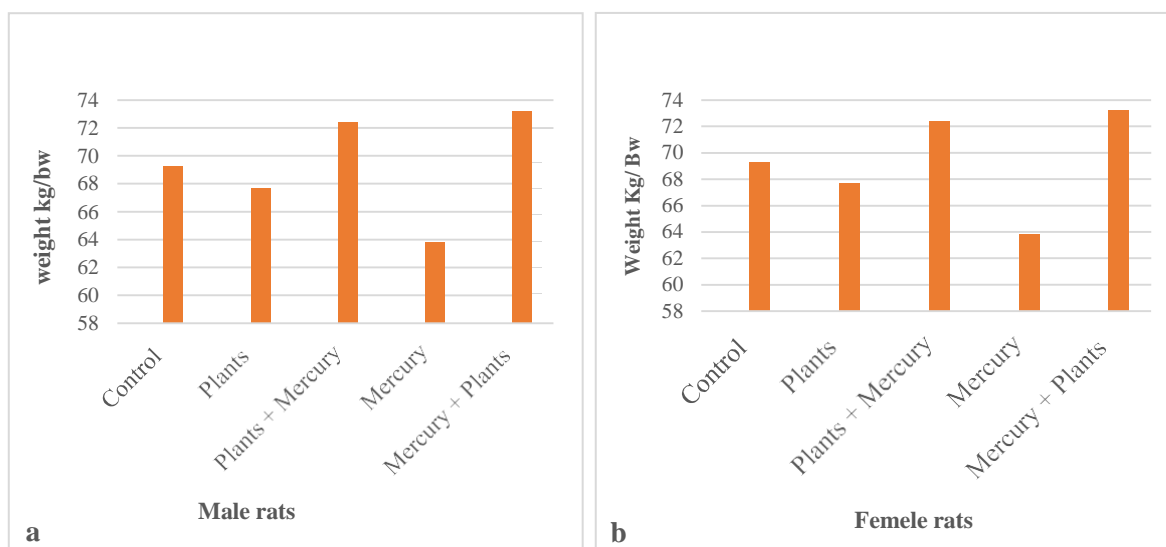


Fig. 1. a- Evolution of the body weight of the male rats after administration of mercury chloride, plant *Calotropis procera*, plant + mercury and mercury + plant at 0.20 mg kg for 20 days. b- Evolution of the body weight of the female rats after administration of mercury chloride, plant *Calotropis procera*, plant + mercury and mercury + plant at 0.20 mg kg for 20 days

Rats of both sexes showed signs of poor appetite and abstinence from food. The statistical analyzes by Anova one way and tukey test mutli-comparison demonstrated that there is a difference at p value <0,05 between the body weight of male and female rats treated with the plant *Calotropis procera* and that of rats treated with mercury chloride. Rats treated with the plant *calotropis procera* showed lively behavior with a high appetite. This shows that *C. procera* positively influenced the weight of male and female rats and resulted in weight improvement. The plant *Calotropis procera* contain compounds like nitrogen, potassium, phosphorus, sodium, calcium, protein and carbohydrate [1] which can improve microflora proliferation and increase digestibility and weight. These mineral elements renew the energy of cells and stimulate appetite and weight gain. By these molecules the plant *Calotropis Procera* increased the weight in female and male rats and gave them more energy compared to the group of rats treated with mercury chloride. This shows that the *Calotropis Procera* plant can be considered an effective quality food and not a quantity food. The carbohydrates of the plant are different from the carbohydrates produced by mercury chloride which promote a toxic environment for the cells. However, calotropis carbohydrate will provide favorable conditions for cell development and activity. The carbohydrate molecules of the *Calotropis procera* protects against weight loss from mercury chloride and provides weight gain, energy and health. On the other hand, the toxicity by the chloride of mercury generated toxic carbohydrates which act negatively on the weight. An in vivo study on mice found that

cardiac glycosides of the *Calotropis procera* like the usharin provided highly protective effects against loss of weight observed in diabetic rats administered by *Calotropis procera*. This shows that the *Calotropis procera* contains a molecular that reduce the toxicity of sugar in model of diabetics rat [4].

3.2 Effects of Mercury Chloride and *Calotropis procera* Plant on Liver Weight of Male and Female Rats

The results of this study demonstrated that mercury chloride increased the liver weight of male rats (Fig. 2). The increased liver weight of male rats is due to macrovascular and microvascular steatosis observed in histological studies of the effect of mercury chloride on male rats B [3]. Male rats restored the weight of liver. The same result was also seen in the histopathological study of liver tissue of groups treated by *Calotropis procera*, (mercury chloride + *Calotropis procera*) and (*Calotropis procera* + mercury chlorids) [3]. The *Calotropis procera* play an important role of the prevention against HgCl₂ increased liver weight in male rats. This action of *Calotropis procera* on weight of liver because it possesses strong antioxidant properties. The weight of liver of the female rats demonstrate that mercury chloride induced the decreased of weight of liver. On the other hand, the weight of the liver of female rats treated with *Calotropis procera* was restored. *Calotropis procera* have the potential hepatoprotective effect of on female rats and male rats.

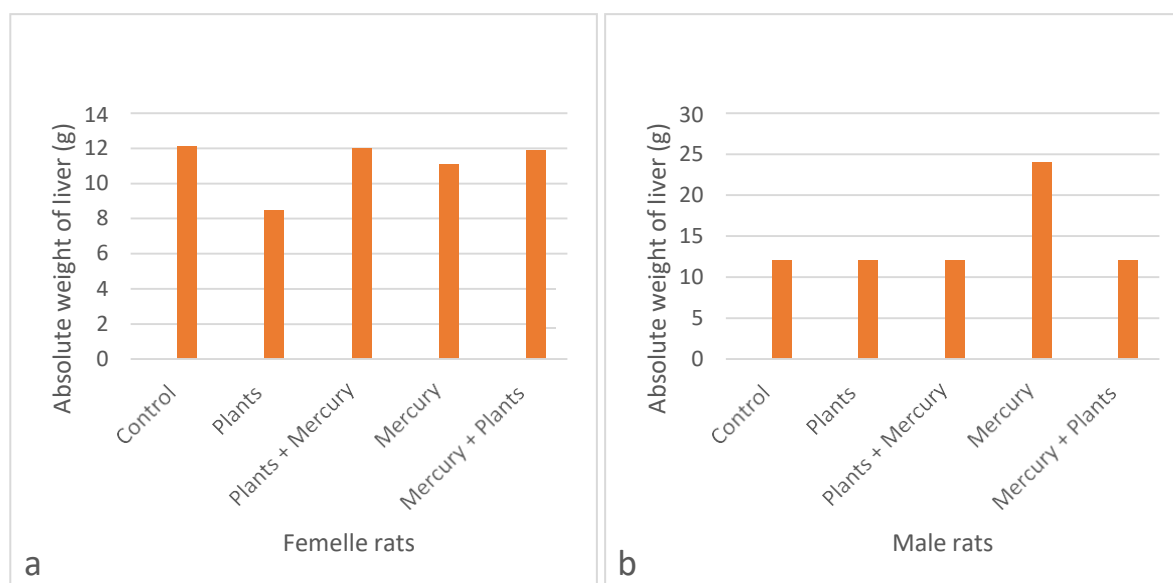


Fig. 2. Study of Variations in Organ Weights" livers" of female and male rats

a- Change in liver absolute weight of female rats after administration of HgCL₂ (0.20 mg / kg) and the plant *Calotropis procera*. **b-** Change in Absolute liver weight of male rats after administration of HgCL₂ (0.20 mg / kg) and the plant *Calotropis procera*

3.3 Effects of Mercury Chloride and the Plant *Calotropis procera* on the Weight of Male and Female Kidneys

The administration of mercuric chloride with 0.20 mg / bw in the female and male rats induced significant increased the absolute and relative weight of kidney. In male rat groups, the weight of kidney is higher than those of females. Studies have demonstrated that the difference of the weight of kidney in both male and female rats is due to the expression of the organic anion transporters Oat. For example, in vivo studies in animal models of obesity in male rats have found that dysfunction of Oat 3 transporters leads to renal dysfunction [5]. Other studies on knockout rats have shown that oat1 capture more mercury chloride than oat 3 [6]. Studies on rats treated with mercury chloride found that low expression of Oat3 transporters in kidney basement membranes may be a defensive mechanism developed by the basal membrane cell to protect against mercury [7]. Besides, other studies found that the expression of renal transporters Oat3 is higher in the male rat than in the female [8]. This shows the protective role of Oat3 of the kidneys in the male sex. Oat 3s carry also AMPcyclic nucleotide molecules that are involved in functions of the male reproductive system. The increased kidney weights in male rats can also be attributed to cyclic AMP. The latter are expressed much more in the male rat than in the female. The regeneration of cyclic AMP nucleotides is of energetic "ATP" origin. The more sugar there is, the

more ATP there is and the less it is released, the more cyclic AMP nucleotides are generated and the greater the risk of cancer. The latter can cause diabetes [9]. Kidneys have been found in diabetic men to exhibit abnormal metabolism of cyclic AMP nucleotides. This metabolic imbalance appeared on the glomeruli by a change in diameter and weight. Field found in rats that the hormone glucagon stimulates an increase in the concentration of cyclic AMP [10]. The glucagon increases the level of this hormone in benign and much more malignant hyperplastic nodules. Other studies have found in hyperplastic liver cancer that the kidney enlarges too. According to the results of these studies there is a relationship between the organs of the human body, kidneys and sperm. This shows that when an organ is affected all organs are affected. The link between these organs is hormonal in origin. [11] found that the change in kidney weight is directly related to a hormone glucagon. The link of this hormone with the male genital system is the cause of kidney damage, and even some cases of cancer such as pancreatic cancer. This hormone, glucagon, has long been neglected compared to insulin but it is a molecule of life whose imbalance can lead to the loss of an organ chain, the liver, the kidneys, the pancreas and the sperm. This is also applied to mercury chloride known by its hyper glycaemic effect. It generates a lot of ATP energy that it prevents it from being released. [3] found that following mercury chloride poisoning there is an accumulation of lipids in the liver in the form of

macrovascular steatosis in male rats. This shows that mercury chloride is capable of generating toxicity from glucose that it transforms into lipid and stores it in the liver. ATP not released by glucose can be transformed into the cyclic messenger AMP. In the case of intoxication by chloride of mercury, it produces in the organism a fever. The latter turns on the DNA of the spermatozoon and at the same time on the mercury attached to this DNA. The consequences of binding of mercury chloride to the DNA is its degradation into polynucleotide (unfragmented DNA). The latter acts badly on

sperm and spermatozoa which lose their viability. Sperm contaminated with mercury and unfragmented DNA will pass into the kidney and cause toxicity and contamination of kidneys; the result is blockage liquids. In the kidneys, sperm whose DNA is fragmented and whose energy and ATP has not been released into the oocyte are transformed into Cyclic Messenger AMP. The kidneys will act on the one hand by blocking the excretion tunnels and blocking a contaminated sperm with fragmented DNA by a state of hypertrophy and increased weight.

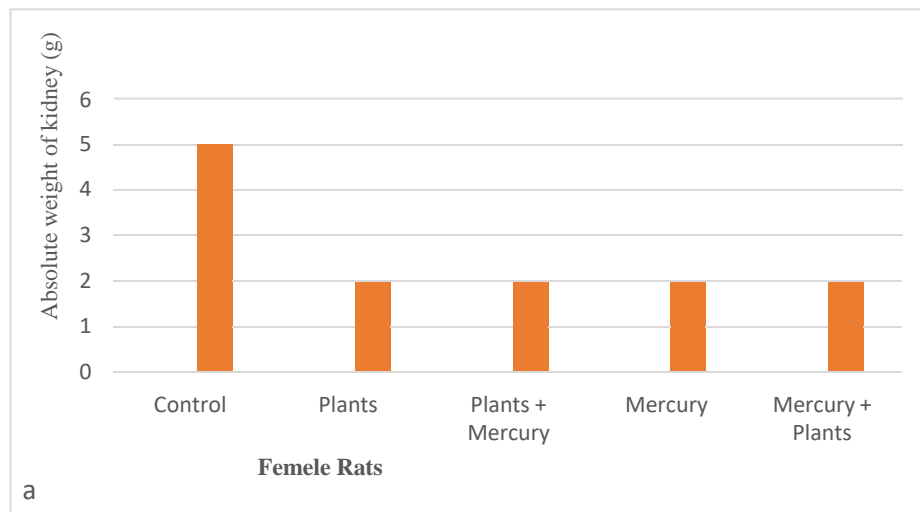


Fig. 3a. Study of Variations in Organ Weights" Kidney" of female
 Change in kidney absolute weight of female rats after administration of HgCL₂ (0.20 mg / kg) and the plant *Calotropis procera*

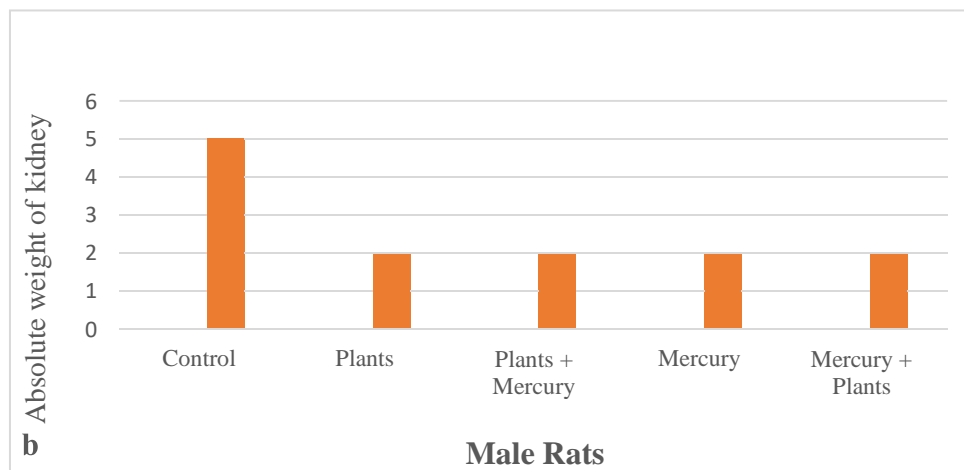


Fig. 3b. Study of Variations in Organ Weights" Kidney" of male rats
 Change in Absolute kidney weight of male rats after administration of HgCL₂ (0.20 mg / kg) and the plant *Calotropis procera*

3.4 Effects of Mercury Chloride and the Plant *Calotropis procera* on the Biochemical Parameters of Female Rats Blood Urea Male and Female Rats

The treatment of male and female rats with mercury chloride causes a decrease in the blood urea level. In the female and males groups rats plasma urea levels has been restored by plant *Calotropis Procera*. This shows that the protective role of the *Calotropis procera* against the disturbances of the urea level caused by mercury in both sexes males and females. These results are in agreement with the study) [12] which also found that *Calotropis procera* protects the kidneys by maintaining normal blood urea levels. In addition, an investigation conducted by another study concluded that *Calotropis procera* contain acid like citric acid that can reduced the lethal effect of urea Kitagawa [3].

3.5 Uric Acid

According to our results, the administration of mercury chloride intraperitoneally at a rate of 0.20 mg / kg of body weight during a period of 20 days caused a highly significant decrease in uric acid in male and female rats. Studies have found that mercury chloride causes uric acid to convert to allantoin and through this action lowers uric acid levels [13,14] found that injecting rats with mercury chloride and uric acid inhibits the action of mercury chloride damaged the kidneys.

3.6 Blood Sugar of Male and Female Rats

Mercury chloride was found to increase blood sugar levels in male and female rats. The link between chloride and blood sugar is the pancreas. This small organ is the center of energy regulation. It is very sensitive to toxic attacks from mercury chloride. Studies in mice exposed to mercury chloride have shown that it causes damage to pancreatic cells [15]. Other studies have shown that heavy metals can directly attack the mitochondria of the pancreas and cause pancreatic cancer which imbalances blood sugar levels [3] found that mercury chloride induced accumulation of lipids in hepatocytes. In this, studies mercury chloride induced increased of glucose. This shows that mercuric chloride causes energy to rise and stores it in hepatocytes as fat. The plant *C. Procera* also increased blood sugar in the groups of rats treated with the plant, plant + mercury, mercury +plant. Our results showed that mercury increased blood sugar caused weight loss. While the plant *Calotropis procera* increased, blood sugar levels and resulted in increased weight in rats. This may be explained by the fact that the *calotropis* plant raised

blood sugar levels to give more energy to rats poisoned by mercury chloride. This shows that the plant does not have a hypoglycemic effect, which causes the release of the hormone glucagon. The movement of female and male rats observed after injection of C. This can be attributed to the presence of sweet components in this plant that can liberate energy. Studies by [16] carried out on this plant have found that this plant is rich in sweet components such as oxypregnane-oligoglycosides named calotroposides A and B. Other sugars of *calotropis procera* have also been disclosed in the plant *Calotropis Procera*: new oxypregnane oligoglycosides: calotroposides H – N (1–7) [17]. This study demonstrated that the components oxypregnaneoligoglycosides: calotroposides H – N (1–7) have anticancer activity against several types of cancer including prostate cancer and lung cancer. *Calotropis procera* can cope with cancer cells characterized by their high energy. It increased blood sugar levels without weight loss in female rats to give more energy to stop the extremely toxic and high-energy mercury chloride.

3.7 Creatinine

From male and female rats, our results have shown that mercury chloride causes an increase in blood creatinine levels in male and female rats. Studies have also found that mercury chloride causes an increase in blood creatinine levels and leads to kidney failure via disturbances in creatinine levels [18]. The results of our study showed that the plant *Calotropis procera* restored the creatinine level. This shows the role of *calotropis* in balancing one of the biochemical parameters most indicative of the proper functioning of the kidneys. This role is due to *Calotropis procera*'s potential molecule uric acid which protects against the increase in creatinine by preventing the toxicity of Hg Cl₂ [19]. The plant has an action on creatinine and effect protector on the kidney. Chemical studies on the plant *Calotropis procera* have revealed several components including cardinolides. Recent studies have shown that these components are cardioids which play a protective role against autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) [20].

3.8 Serum Proteins

Treatment of female rats with mercury chloride at a dose of 0.20 mg kg / bw caused a drop in serum protein levels. Treatment of female rats with the plant *Calotropis procera* corrected the decrease in serum protein levels. Studies carried out on *Calotropis* have revealed the plant's richness in proteins such as proteases, dismutases, peroxidases, chitinases and proteases containing cysteine and acid proteases [21].

This explains its nutritional role against mercury chloride by maintaining and preservation of serum proteins. The plant corrected the decrease in serum protein levels.

3.9 Cholesterol

The results showed that there was no difference in cholesterol levels between the groups of female rats. Our results demonstrated no effect of mercury chloride and the plant on cholesterol levels in female rats. This may be due to the physiology of female rats and their possessing factors that protect them against cholesterol disturbances. However, mercury chloride was found to increase cholesterol levels in male rats. The *Calotropis procera* plant restored cholesterol levels in male rats. Chemical studies have revealed the presence in *calotropis* of acidic molecules such as furoic acid which protect against myocardial infarction and restore cholesterol levels in the blood of rats exposed to mercury chloride [22]. There is also another study which showed the role of the plant *Calotropis procera* in lowering cholesterol in diabetic rats. These shows that this plant has a significant cholesterol lowering effect; and that by this effects it protects rats against mercury chloride which unbalances cholesterol levels. By this detoxifying action of *Calotropis procera* decreased the toxicity of mercury chloride and protected the organs from the consequences and deleterious effects of mercury.

3.10 Albumin Male and Female Rats

Analyzes of biochemical parameters such as albumin showed that there was no difference between the groups of female rats. The same result was observed in males rats, there is no difference between groups and absence of effect of plants on rats.

3.11 Male and Female Rat Triglycerides

Our results demonstrated the plant's lack of effect on triglyceride levels in female rats. The result of analysis of triglycerides in male rat demonstrate that mercury chloride increased TG. The group male rat received the extract of *Calotropis procera* significantly decreased TG content when compared with the mercury group male rat. The result of the study conducted by [23] report that *Calotropis procera* reduced the TG significantly analyzed also the anti-hyperglyceride beneficial effects of *Calotropis procera* on diabetic rat.

3.12 Alkaline Phosphatase Male and Female Rats

Our results have shown that mercury chloride causes a highly significant decrease in the level of alkaline

phosphatase in female and male rats. This shows that mercury chloride caused a deficiency in the level of the alkaline phosphatase enzyme. This deficiency of this enzyme can be explained by a dephosphorylation of the hepatic phosphorus receptors. Our results also demonstrated that the plant *Calotropis procera* restored the level of alkaline phosphatase in male and female rats treated with the plant+mercury, mercury+plant and plant compared to that of mercury chloride. This shows that the plant corrected the deficiency of alkaline phosphatase caused by mercury chloride. The return to normality of the level of alkaline phosphatase shows that the plant has an effect on the activity of this enzyme. Studies have shown that the leaves, flower and root of the *Calotropis procera* plant are rich in the enzyme alkaline phosphatase [24]. Other studies have also shown that the plant has a protective action on the kidneys via the alkaline phosphatase [25] found that patients with renal failure associated with sepsis treated with alkaline phosphatase protect their kidneys against systemic inflammation and decrease markers of renal tubule damage. Other studies have found that alkaline phosphatase plays an important role in inhibiting acute kidney injury AKI in an animal model of childhood circulatory cardio-pulmonary disease [23].

3.13 Total Bilirubin Male and Female Rats

Our results showed that the plant corrected the level of total bilirubin.

3.14 Direct, Indirect and Total Bilirubin in Male and Female Rats

Our results demonstrated that there was no change in the level of direct, indirect and total bilirubin in female rats. This can be explained by the genetic susceptibility of the female sex which is resistant to toxins like mercury chloride via bilirubin. The female is known for her production of low levels of the hormone testosterone. The latter is beneficial for both the female and the male sex. The results show that the level of bilirubin is low in male rats treated with mercury chloride. Studies have found that variations in bilirubin between male and female sex is linked to hormones [26]. Disturbances in the hormone testosterone influence changes in bilirubin levels in males. The latter produces more testosterone hormone than the female. Studies have found that increased testosterone levels in humans are the cause of liver cancer [27]. The liver toxicity seen in mercury chloride poisoning is related at high testosterone and low bilirubin levels. This shows that mercury chloride works through a mechanism that connects two vital organs, the reproductive system and the liver. This

mechanism generated by mercury chloride imbalances the hormone testosterone on the one hand and bilirubin on the other. Another research has found that the difference in bilirubin changes is due to the enzyme bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase. Male and female rats exert opposite effects of the enzyme uridine diphosphate-glucuronosyl-transferase. The latter is higher in females than in humans in the liver [28]. According to the results of in vivo studies carried out on extracts of the *Calotropis procera* to analyze these effects vis-à-vis hepatitis induced by the paracetamol; they have found that it restores blood bilirubin levels [29]. This shows that *Calotropis procera* have the potential hepatoprotective effect via equilibrate the biochemical levels of bilirubin. Other studies have found that changes in bilirubin have a maternal origin related to milk. Babies who breastfeed breast milk have been found to have elevated bilirubin levels compared to babies who breastfeed artificially [30]. This shows that maternal milk has a nutritional action via the enzyme B-glucuronidase which increases bilirubin. It has also been found in the milk of babies who naturally breastfeed the molecules pregnane-3a, 20 B-diol, interleukin IL1B, B-glucuronidase, epidermal growth factor, and alpha-fetoprotein. The presence of the pregnane 3a 20 B-diol is thought to inhibit bilirubin's conjugation which in turn impedes bilirubin excretion.

3.15 Effects of Mercury Chloride and the Plant *Calotropis procera* on the Biochemical Parameters of Male Rats

3.15.1 Cholesterol

Mercury chloride was found to increase cholesterol levels in male rats. The *Calotropis procera* plant restored cholesterol levels in male rats. Chemical studies have revealed the presence in *calotropis* of acidic molecules such as ferulic acid [31]. Studies have found ferulic acid protects against myocardial infarction and restores blood cholesterol levels in rats exposed to mercury [12].

3.15.2 Urea

The results showed that treatment of male rats with mercury chloride resulted in an increase in urea levels. Treatment of male rats with plant + mercury and mercury + plant restored urea levels. This shows the role the plant *Calotropis procera* plays in restoring urea levels and decreasing toxicity. *Calotropis procera* protects the kidneys by maintaining the urea level at normal.

3.15.3 Albumin

The results of this study showed that mercury chloride caused a decrease in albumin levels in male rats. A decrease in albumin, globulin ratio related to a decrease in total cholesterol levels was reported by Meltem Uzunhisarcikli, [32].

3.15.4 Bilirubin Total, Direct, Indirect

According to the results of our study, mercury chloride caused a drop in the level of total bilirubin, direct, indirect compared to the control group. Histological studies of male rat treated with mercury chloride demonstrate the appearance of macro-vacuolar and somewhat micro-vacuolar, diffuse steatosis [3]. In this study we found in male rats an increase in blood sugar. The latter acts directly on the liver. The high blood sugar levels may be the cause of nonalcoholic steatosis in people with diabetes. This shows that blood sugar can target the liver and cause an imbalance in bilirubin levels. Bilirubin is sensitive to the action of mercury chloride in male rats compared to female rats. This shows that male rats are less resistant to the action of mercury chloride than female rats. The degradation of bilirubin appears in male rats more than female rats. This in relation to hemoglobin of the male sex is different from female rats. Male sex needs more iron and energy release from hemoglobin. In the case of mercury chloride poisoning, there will be no renewal of red blood cells. This generates toxic hemoglobin. This phenomenon triggers the movement of neutrophils to attack this hemoglobin. When neutrophils swallow this hemoglobin, they become the trigger and amplifier of inflammatory reactions.

Another factor is the sperm, although the latter are physiologically present in the female male fertility problem. This function is protected to ensure the continuity of the human being.

Recently studies have revealed that there are macrophages which function as guardians of sperm all by preventing their breakdown. However, in circumstances of toxicity by mercury chloride the role of these cells is blocked and the sperm are no longer protected. At this point come other types of cells, the white neutrophil cells, which act directly on the sperm. By swallowing the sperm, it swallows the lipids contained in them. This increases the level of lipids in the neutrophils and then becomes toxic and an agent of inflammation instead of its normal defense function [33]. When sperm are broken down, they become foreign to the body which causes the production of anti-sperm antibodies, which directly attack the hemoglobin and cause bilirubin imbalance

in the disease. In the case of women, due to the absence of sperm, they are more protected than men and their bilirubin is balanced compared to men.

4. CONCLUSIONS

The toxicity of mercury chloride is a health problem for the dangerous metal it contains. In the body, this metal circulates in the blood and can unbalance several organs by disrupting biochemical parameters. A chain of connection between these biochemical parameters is at the origin of serious damage to the kidneys and liver. The return to medicinal plants has released the detoxification pathways of mercury chloride through the biochemical parameters bay. In this study, we shed light on a plant from the Sahara of Algeria, *Calotropis procera*, known by the Tuaregs for its beneficial actions for the body. Contrary to preconceived ideas, on the toxic properties of the plant. Conversely, this work has been investigated on this plant and secrets have been revealed prove that *Calotropis procera* still has a bright future in the detoxification of mercury chloride. In this study, it is found that the calotropis will restore the weight of the rats and act on the appetite; it gives energy and the movement by the berry of the glycaemia; and it gives the body to proteins to face the losses of the blood sugar and weight. It also worked on urea to protect the kidneys and pancreas. It also worked on bilirubin to disturb the action of mercury chloride on the liver. *Calotropis procera* made the action of mercury chloride less toxic by its actions to balance biochemical parameters. Our study unveiled a new mechanism for detoxifying a metal as strong and toxic as mercury chloride. This study brings a new understanding in the detoxification of mercury chloride using the plant *Calotropis procera*. The results of this study demonstrated that the *Calotropis procera* acts indirectly on mercury chloride by bay biochemical parameters. His plant balances the parameters disturbed by mercury chloride.

FUNDING

This research was funded by the laboratory of neuroendocrinology of the University of Badji mokhtar Annaba.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Kabore A, Kondombo CP, Gnanda BI, Kologo I, Konate A, Yougbare B, Traore A, Tamboura H, Belem AM. Supplementation Effects of *Calotropis Procera* Dried Leaves on the Growth Performance of Sheep in Dry Season in Burkina Faso. *J. Dairy Veterinary & Animal Research*. 2017;6:247-250. DOI: 10.15406/jdvar.2017.06.00169
2. Belfarhi L, Chouba I, Amri N, Boukris N, Tahraoui A. Histological and hormonal study of the protective effect of the *Calotropis procera* against the toxicity of mercury chloride. *Natural Systems and Resources*. 2020;10:5-14. DOI:https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.2.1
3. Murugan V, Ganesan J, Erusan B. Ameliorative potential of ferulic acid on cardiotoxicity induced by mercuric chloride. *Biomedicine and Preventive Nutrition*. 2014; 4:239-243. DOI : 10.1016/j.bionut.2014.02.005
4. Dwivedi A, Chaturvedi M, Gupta A, Argal A. Medicinal utility of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. as used by natives of village Sanwer of Indore District, Madhya Pradesh, *International Journal of Pharmacy and Life Science*. 2010;3:188-190.
5. Rathod NR, Raghuveer I, Chitme HR, Chandra R. Free Radical Scavenging Activity of *Calotropis gigantea* on Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. *Indian journal Pharmascetical Science*. 2009;71:615–621. DOI: 10.4103/0250-474X.59542
6. Gisela Di Giusto, Naohiko Anzai, María L. Ruiz, Hitoshi Endou, Adriana M. Torres. Expression and function of Oat1 and Oat3 in rat kidney exposed to mercuric chloride. *Arch Toxicol*. 2009;83(10):887. DOI: 10.1007/s00204-009-0445-8.
7. Ljubojevic M, Herak-Kramberger, Hagos Y, Bahn A, Endou H, Burckhardt G, Sabolic I. Rat renal cortical OAT1 and OAT3 exhibit gender differences determined by both androgen stimulation and estrogen inhibition. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004;287:124– 138. DOI: 10.1152/ajprenal.00029.2004.
8. HaiBo Y, Zhao FX, Wei L, Yu D, Bin X. The Protective Role of Procyanidins and Lycopene against Mercuric Chloride Renal Damage in Rats. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2011;24(5):550-559. DOI: 10.3967/0895-3988.2011.05.015
9. Reuben C, Sheldon M, Epstein, James BF. Glucagon and Prostaglandin E1 Stimulation of Cyclic Adenosine 3', 5'-Monophosphate Levels and Adenylate Cyclase Activity in Benign Hyperplastic Nodules and Malignant Hepatomas

- of Ethionine-treated Rats. *Cancer Research*. 1973; 33:1970-1974.
10. Cortes P, Dumler F, Venkatachalam K, Goldman J, Sastry KS, Venkatachalam H, Bernstein J, Levin NW. Alterations in glomerular RNA in diabetic rats: Roles of glucagon and insulin. *Kidney International*. 1981;20:491-499.
DOI: 10.1038/ki.1981.166
 11. Abid A, Tabassum M. Protective efficacy of *Calotropis procera* leaf hexane extract against ibuprofen induced kidney toxicity in albino rats. *Annals of Jinnah Sindh Medical University*. 2018;4:13- 22.
 12. Kitagawa I, Zhang R, Park J.D, Baek N.I, Takeda Y, Yoshikawa M, Shibuya H. Indonesian medicinal plants. I. Chemical structures of calotroposides A and B, two new oxypregnane- oligoglycosides from the root of *Calotropis gigantea* (Asclepiadaceae). *Chem. Pharm. Bull*. 1992;40:2007.
DOI: 10.1248/cpb.40.2007.
 13. Sabrin RM, Gamal AM, Mohamed Zayed F, Samir AR. Hydroxyirilone 5-methyl ether and 8-hydroxyirilone, new antioxidant and α -amylase inhibitors isoflavonoids from *Iris germanica* rhizomes. *Bioorg Chem*. 2018; 70:192-198.
DOI: 10.1016/j.bioorg.2016.12.010. Epub 2016 Dec 30.
 14. Romero F, Pérez M, Chavez M, Parra G, and Durante P. Effect of uric acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat- role of matrix metalloproteinase 2 and 9. *Basic and Clinical pharmacology and toxicology*. 2009;105(6): 416-424.
DOI: 10.1111/j.1742-7843.2009.00466.x
 15. Kuo-Liang C, Shing-Hwa L, Chin-Chuan Su, Cheng-Chieh Y, Ching-Yao, Yang. Kuan-I L, Feng- Cheng Tang, Ya-Wen C, Tien-Hui L, Yi-Chang S, Chun-Fa H. Mercuric Compounds Induce Pancreatic Islets Dysfunction and Apoptosis *in vivo*, *International Journal of Molecular Sciences*. 2012;13(10):12349–12366.
DOI: 10.3390/ijms131012349.
 16. Kitagawa I, Zhang R, Park JD, Baek NI, Takeda Y, Yoshikawa M, Shibuya H. Indonesian medicinal plants. I. Chemical structures of calotroposides A and B, two new oxypregnane-oligoglycosides from the root of *Calotropis gigantea* (Asclepiadaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1992; 40:2007-2013.
DOI: 10.1248/cpb.40.2007.
 17. Paller MS. Free radical scavengers in mercuric chloride-induced acute renal failure in the rat. *Journal Laboratory Clinic Medicine*. 1985; 105:459-63.
 18. Areej MA, Shagufta P, Ghada AF, Attiq R, Afsar K, Rashad M, Laila MF. Evaluation of antiulcer and cytotoxic potential of the leaf, flower, and fruit extracts of *Calotropis procera* and isolation of a new lignan glycoside. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*; 2017. Article ID 8086791.
Available: <https://doi.org/10.1155/2017/8086791>.
 19. Cleverston Diniz TF, Jefferson SO, Maria RAM, Nívea Maria RM, Maurício PS, Laurival A Villas-Boas, Márcio VR. Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. *Plant Physiol Biochem. Plant Physiol Biochem*. 2007;45(10-11): 781-9.
DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.07.020.
 20. Stéphanie C. Effet des composés phénoliques sur le vieillissement cardiaque et rénal: Etude expérimentale chez le rat Soutenue le 6 juillet 2018 devant la Commission d'Examen. Thèse de Doctorat; 2018.
 21. Bhaskar VH, Patel MP. Evaluation of anti-hyperglycemic activity of extracts of *Calotropis procera* (Ait.) R.Br on streptozotocin induced diabetic rats. *Global Journal of Pharmacology*. 2009;3:95-98.
 22. Malik CP, Mehan M, Vermani S. Distribution of Alkaline Phosphatase in Pollen By Grains and Pollen Tubes of *Calotropis procera*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*. 1975;167:601-603.
Available: [doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)31317-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)31317-3)
 23. Eric MW, Linda LW, Brenda YH, Jun-Fang J, Wei J, Sandi AK, Sumodh K. Gender differences in hepatocellular cancer: disparities in nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis and liver transplantation. *Hepatoma Research*. 2018;4:2-17.
 24. Femke HO, Pleun H, Peter P. Innovative Drugs to Target Renal Inflammation in Sepsis: Alkaline Phosphatase. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;23:1-9.
 25. Yoshihiro M, Yoriko M, Hiroshi F, Sayuri N, Takahide Y, Katsuyuki M, Asami M, Hiroshi S, Robert HT, Yoshihiro, Takeuchi. Bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase variation is a genetic basis of breast milk jaundice. *J Pediatr*. 2014;165:36-41.
DOI: 10.1016/j.jpeds.2014.01.060.
 26. Maurizio Muraca, Johan Fevery. Influence of sex and sex steroids on bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase activity

- of rat liver. *Gastroenterology*. 1984;87:308-313.
27. Ramachandra S, Setty, Absar AQ, Viswanath HM, Tushar P, Prakash T, Prabhu K, A Veeran Gouda. Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia*. 2007;78:451-4.
28. Lewi S, Walter P, Clarke TK. Allaitement maternel et hyperbilirubinémie du nouveau-né *BiolNeonate*. 1964;7:294–304.
29. Michelle M. White, Patrick Geraghty, Elaine Hayes, Stephen Cox, William Leitch, Bader Alfawaz, Gillian M. Lavelle, Oliver J. McElvaney, Ryan Flannery, Joanne Keenan, Paula Meleady, Michael Henry, Martin Clynes, Cedric Gunaratnam, Noel G. McElvaney, and Emer P. Reeves. Neutrophil Membrane Cholesterol Content is a Key Factor in Cystic Fibrosis Lung Disease. *E BioMedicine*. 2017; 23:173-184.
30. Gartner LM, Herschel M. Jaundice and breastfeeding. *Pediatric Clinics*. 2001;48(2): 389-400.
31. Song K, Zhu X, Zhu W, Li X. Preparation and characterization of cellulose nanocrystal extracted from *Calotropis procera* biomass. *Bioresources and Bioprocessing*. 2019;6(1):1-8.
32. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Açıkgöz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology*. 2005;211(3):197-206.
33. Swain SD, Rohn TT, Quinn MT. Neutrophil priming in host defense: role of oxidants as priming agents. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2002;4(1):69-83.