

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Badji Mokhtar Annaba

Badji Mokhtar University
مختار
Annaba



جامعة باجي

عنابة



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie appliquées

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD (3^{ème} Cycle)

Option : Biochimie Appliquée

Présentée Par

TEBANI MERIEM

Thème

**L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité
du nickel chez le rat *Wistar Albinos***

Devant le jury :

Président : Mr : KECHRID Z.	Prof	Université Badji M - Annaba
Promoteur : Mr : BOUZERNA N.	Prof	Université Badji M - Annaba
Examineur : Mr : MESSARAH M.	Prof	Université Badji M - Annaba
Examineur : Mr : NOUADRI T.	MCA	Université Mentouri - Constantine
Examineur : Mr : DJABRI B.	MCA	Université Laarbi T - Tébessa

2013-2014

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

RÉSUMÉ

INTRODUCTION.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. LE STRESS OXYDANT

1. Les radicaux libres biologiques.....	4
2. Sources et réactions des ERO-/ERN.....	5
3. Principales cibles biologiques des EOR.....	9
3.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN.....	9
3.2. Les protéines.....	9
3.3. Les lipides membranaires.....	12
4. Les systèmes de défenses antioxydantes.....	14
4.1. Les systèmes enzymatiques.....	15
4.1.1. Superoxydes dismutases (SODs).....	15
4.1.2. Les catalase.....	15
4.1.3. Glutathion peroxydases.....	16
4.1.4. Glutathion S-Transférases.....	17
4.2. Les défenses non-enzymatiques.....	18
4.2.1. Le glutathion.....	18
4.2.2. La vitamine E.....	21
4.2.3. La Vitamine C.....	22
4.2.4. Les oligoéléments.....	24

CHAPITRE II. LE NICKEL :

1. Définition du nickel.....	25
2. Sources d'exposition.....	26
3. Utilisation.....	27
4. Métabolisme du nickel.....	28
4.1. Absorption.....	28
4.2. Distribution.....	28
4.3. Excrétion.....	29
5. Evaluation toxicologique.....	29
5.1. Toxicité aiguë.....	30
5.1.1. Etude chez l'homme.....	30
5.1.2. Etude chez l'animal.....	31
5.2. Toxicité chronique.....	33
5.2.1. Etude chez l'homme.....	33
5.2.2. Etude chez l'animal.....	33
5.3. Toxicologie subchronique.....	34
6. Effets génotoxiques.....	35
7. Effets cancérigènes.....	36
8. Effets sur la reproduction.....	37
9. Manifestations allergiques.....	37

CHAPITRE III. LE SELENIUM :

1. Les propriétés physico-chimiques.....	38
2. Différentes formes de sélénium.....	38
3. Source et dose recommandée en sélénium.....	39
4. Métabolisme du selenium dans l'organisme.....	42
4.1. Voies de pénétration.....	42
4.2. Absorption.....	42
4.3. Transport.....	43
4.4. Métabolisme du sélénium.....	44
4.5. Elimination.....	44
5. Usages du sélénium.....	45
5.1. Utilisation du sélénium dans l'industrie.....	45
5.2. Utilisations médicales du sélénium.....	45
6. Les fonctions du sélénium dans l'organisme.....	46

6.1. Le rôle des formes actives du sélénium.....	46
6.1.1. Glutathion peroxydase.....	47
6.1.2. Sélénoprotéine désiodinase.....	47
6.1.3.Thioredoxine réductase.....	47
6.1.4. Sélénoprotéine P.....	47
6.1.5. Sélénoprotéine W.....	48
6.2. Rôle immunomodulateur.....	48
6.3. Sélénium et cancer.....	48
6.4. Sélénium et fertilité.....	49
6.5. Fonctionnement de la thyroïde.....	49
6.6. Le sélénium dans le cerveau humain	49
6.7. Détoxification des xénobiotiques et des métaux lourds.....	49
6.8. Modulation de l'inflammation.....	50
7. Carence, apport supplémentaire et toxicité.....	50

CHAPITRE VI. LA VITAMINE E :

1. Définition et structure de la vitamine E :.....	51
2. Les principales sources de vitamine E :.....	52
3. Besoins physiologiques et biodisponibilité de la vitamine E :.....	52
4. Métabolisme, absorption, distribution et excrétion.....	54
5. Les interactions entre la vitamine E et certains antioxydants.....	56
5.1. Interactions entre les vitamines E et C.....	57
5.2. Interactions entre les vitamines E et A.....	58
5.3. Interactions entre les vitamines E et K.....	59
5.4. Interactions entre les vitamines E et le sélénium.....	59
6. Rôles biologiques de la vitamine E.....	60

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I. MATÉRIELS ET MÉTHODES :

1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	63
2. Traitement des rats.....	63
3. Sacrifices et prélèvements des organes.....	64

3.1. Prélèvement sanguin.....	64
3.2.Prélèvement des organes.....	65
4. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques.....	67
4.1.Protéines totales.....	67
4.1.1. Principe.....	67
4.1.2. Réactifs.....	67
4.1.3. Mode opératoire.....	67
4.1.4. Calcul de la concentration.....	67
4.2. Dosage d'albumine.....	68
4.2.1. Principe.....	68
4.2.2. Réactifs.....	68
4.2.3. Mode opératoire.....	68
4.2.4. Calcul de la concentration.....	69
4.3.Dosage du glucose.....	69
4.3.1. Principe.....	69
4.3.2. Réactifs.....	69
4.3.3. Mode opératoire.....	70
4.3.4. Calcul de la concentration.....	70
4.4.Dosage de la créatinine.....	70
4.4.1. Principe.....	70
4.4.2. Réactifs.....	70
4.4.3. Mode opératoire.....	71
4.4.4. Calcul de la concentration.....	71

4.5. Dosage de l'urée.....	71
4.5.1. Principe.....	71
4.5.2. Réactifs.....	72
4.5.3. Mode opératoire.....	72
4.5.4. Calcul de la concentration.....	72
4.6. Dosage de l'acide urique.....	72
4.6.1. Principe.....	72
4.6.2. Réactifs.....	73
4.6.3. Mode opératoire.....	73
4.6.4. Calcul de la concentration.....	74
4.7. Dosage de la phosphatase alcaline.....	74
4.7.1. Principe.....	74
4.7.2. Réactifs.....	74
4.7.3. Mode opératoire.....	74
4.7.4. Calcul de la concentration.....	75
4.8. Dosage d'Aspartate aminotransférase.....	75
4.8.1. Principe.....	75
4.8.2. Réactifs.....	75
4.8.3. Mode opératoire.....	76
4.8.4. Calcul de la concentration.....	76
4.9. Dosage d'Alanine aminotransférase.....	76
4.9.1. Principe.....	76
4.9.2. Réactifs.....	76

4.9.3. Mode opératoire.....	77
4.9.4. Calcul de la concentration.....	77
4.10. Dosage de α amylase.....	77
4.10.1. Principe.....	77
4.10.2. Réactifs.....	77
4.10.3. Mode opératoire.....	78
4.10.4. Calcule de la concentration.....	78
4.11. Dosage de la bilirubine totale.....	78
4.11.1. Principe.....	78
4.11.2. Réactifs.....	78
4.11.3. Mode opératoire.....	79
4.11.4. Calcul de la concentration.....	79
4.12. Dosage du cholestérol.....	79
4.12.1. Principe.....	79
4.12.2. Réactifs.....	80
4.12.3. Mode opératoire.....	80
4.12.4. Calcule.....	80
4.13. Dosage des triglycérides.....	81
4.13.1. Principe.....	81
4.13.2. Réactifs.....	82
4.13.3. Mode opératoire.....	82
4.13.4. Calcule.....	82
4.14. Dosage des lipides totaux.....	83

4.14.1. Principe.....	83
4.14.2. Réactifs.....	83
4.14.3. Mode opératoire.....	83
4.14.4. Calcule.....	84
5. Dosage des paramètres hématologique.....	84
6. Dosage des paramètres du stress oxydant	84
6.1. Préparation de l'homogénat.....	84
6.2. Dosage du glutathion des organes.....	84
6.3. Dosage des protéines.....	85
6.4. Dosage de malondialdéhyde (MDA).....	86
6.5. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx).....	88
6.6. Dosage de l'activité de Glutathion S-Transférase (GST).....	89
6.6.1. Protocole expérimental.....	89
7. Etude histologique.....	90
8. Traitement statistique des résultats.....	92

CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION :

1. Paramètres de croissance.....	93
1.1. La croissance corporelle.....	93
1.2. Etat pondéral de certains organes.....	93
1.2.1. Foie.....	93
1.2.2. Reins.....	94

1.2.3. Cerveau.....	94
1.2.4. Testicules.....	94
2. Paramètres biochimiques.....	104
2.1. Bilan	
énergétique.....	104
2.1.1. Glucose.....	104
2.1.2. Protéines totales.....	104
2.1.3. Albumine.....	104
2.2. Bilan rénal	107
2.2.1. Urée.....	107
2.2.2 Créatinine.....	108
2.2.3. Acide urique.....	108
2.3. Bilan lipidique	111
2.3.1. Cholestérol.....	111
2.3.2. Triglycérides.....	112
2.3.3. Lipides totaux	112
2.2. Bilan	
enzymatique.....	115
hépatique et	
2.4.1. Transaminases.....	115
2.4.2. Phosphatase alcaline	116
2.4.3. α amylase.....	116
2.4.4. Bilirubine totale.....	117
2.4.5. Bilirubine directe	117
3. Paramètres hématologiques	128
3.1. Nombre des globules rouges et taux d'hémoglobine	128
3.2. Nombre des globules blancs.....	128
3.3. Volume globulaire moyen et du taux de l'hématocrite.....	128

3.4. Concentration corpusculaire moyen en hémoglobine et de la teneur globulaire moyenne en hémoglobine.....	129
4. Paramètres du stress oxydant	139
4.1. Glutathion réduit (GSH).....	139
4.2. Malondialdéhyde (MDA).....	141
4.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	145
4.4. Glutathion - S- transférane (GST).....	149
5. Etude histologique (au niveau du foie).....	158
CONCLUSIONS ET PERRISPECTIVE	164
BIBLIOGRAPHIE.....	166
ANNEXES.....	195

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement le fruit de mon travail à la personne du messager d'Allah, MOHAMED que le salut soit sur lui, porteur d'espoir, homme de dialogue et de tolérance, et illuminateur des mondes obscurs

*Je voudrais tout d'abord remercier mon encadreur, monsieur **Nourredine BOUZERNA** professeur à l'université d'Annaba de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce travail, je vous remercie particulièrement de m'avoir procuré soutien et disponibilité permanente pour les séances de travail tout le long de ces cinq années de thèse. Il n'a pas cessé de m'encourager en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques et surtout sa permanente bonne humeur au sein du laboratoire.*

Je tiens également à remercier le Professeur Zine KECHRID de m'avoir fait l'honneur de présider le jury et de m'avoir donné l'opportunité de travailler dans son laboratoire, un très grand merci pour sa gentillesse et surtout pour son humanité. Merci.

J'exprime mon estime sincère remerciements aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail : Monsieur Mahfoud. MESSARAH Professeur à l'université d'Annaba. Et à Monsieur Tahar NOVADRI maître de conférence à l'université de Constantine, et également Monsieur Belgacem DJABRI maître de conférence à l'université de Tébessa.

Je tiens à remercier également Monsieur M.S. BOULAKOUD Professeur à l'université d'Annaba, département de biologie qui m'a permis de travailler au sein de son laboratoire.

Toute mon amitié au Monsieur Omar LAOUAR Professeur au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Ibn Rochd de Annaba pour le chaleureux séjour dans son laboratoire ainsi que pour son aide précieuse et la qualité des discussions que nous avons eues. Je n'oublie pas Docteur Souad KINECHE qui

pour son bien accueilli et aidé durant ce séjour. Pour sa disponibilité et de son aimable encouragement.

Je souhaite également remercier très chaleureusement Monsieur Lazhari TICHATI l'ingénieur de notre laboratoire de recherche, pour son aide et ses encouragements au cours de la réalisation de ma partie pratique.

Enfin je remercie tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de cette étude. Veuillez recevoir ce modeste travail comme un début de récompense de tous vos efforts.

DÉDICACES

A Dieu tout puissant

D'avoir été toujours là pour moi, surtout dans les moments difficiles et de m'avoir donné la conviction que je puisse arriver au terme de ce travail. Je remercie dieu pour ce que j'ai et ce que je suis.

A mes parents

Votre confiance et votre patience sont mes biens les plus précieux, ni mon amour, ni rien au monde ne pourrait compenser tous les sacrifices que vous aviez consentis en ma faveur et que vous consentiez encore.

A mon mari

Ma source de lumière, d'espoir et de bonheur, que dieu te protège. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond amour et ma grande reconnaissance.

A mes frères et mes sœurs

Pour leur affection. Que dieu leur accorde le succès, le bonheur et la santé et renforce notre union familiale.

A mon petit frère Seifou

Que dieu le protège. Je le souhaite une vie pleine de joie et de santé.

*A toute ma famille
Pour son encouragement.*

*A mes amis
Mon vif remerciement va à mes chères proches amies.*

*A tous mes enseignants de l'université Badji Mokhtar-Annaba-
Pour leurs soutien moral et encouragements.*

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur

ABREVIATIONS

BSA : Sérum albumine bovine.

CCMH : Concentration corpusculaire moyen en hémoglobine.

CDNB : 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène.

Cu : Cuivre.

Cu/Zn-SOD : Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc.

CL 50 : Concentration Létale Moyenne.

DHLA : Acide dehydrolipoïque.

DL 50 : Dose Létale Moyenne.

DNTB : Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique.

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

G6PDH : Glucose-6-phosphate déshydrogénase.

GPX : La Glutathion peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

GST : Glutathion S-transférase.

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène.
LDOPA : L-dihydroxyphénylalanine.
LTOPA : L-trihydroxyphénylalanine.
LOOH : Hydroxyde lipidique.
LPO : Les peroxydes lipidiques.
MDA : Le Malondialdéhyde.
Mn-SOD : Superoxyde dismutase associée au manganèse.
NADPH : Nicotinamide dinucleotide phosphate.
Ni : Nickel.
•OH : Radical hydroxyle.
1O₂ : Oxygène singulet.
O₂•⁻ : Radical superoxyde (anion superoxyde).
ROS : Reactive oxygen species ou Espèces activées de l'oxygène.
Se : Sélénium.
SeCyst : Sélénocystéine.
SeMet : Sélénométhionine.
SOD : Superoxyde dismutase.
TBA : "2-Thiobarbituric acid": L'acide thiobarbiturique
TCA : Trichloroacétique.
TGMH : Teneur globulaire moyenne en hémoglobine.
TrxR : Thiorédoxine réductase.
U : Unité enzymatique.
Vit E : Vitamine E.
Zn : Zinc.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Représente les formules et concentrations plasmatiques des principaux antioxydants.....	19
Tableau 2 : Représente les Oligoéléments essentiels : contenu corporel et teneur moyenne de l'organisme humain et rappel de leurs fonctions principales	24
Tableau 3 : Représente les propriétés de nickel	26
Tableau 4 : Représente les valeurs de CL50 et DL50 des composés de nickel.....	32
Tableau 5 : Représente les apports quotidiens en sélénium recommandés par le Nutrition Board américain.....	41
Tableau 6 : Représente un récapitulatif des rôles du sélénium.....	46
Tableau 7 : Représente les apports nutritionnels conseillés.....	54

Tableau 8 : Représente la composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment.....63

Tableau 9: Représente la variation de poids corporel (g) et le gain de poids (g) chez les rats témoins et les rats traité par la vitamine E (Vit E), le sélénite de sodium (Se), le sulfate de nickel (Ni) et les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....95

Tableau 10 : Représente la variation des poids absolus (PA) (g) et relatif (PR) (g/100g de poids corporel) des organes (foie, rein, cerveau et testicules) chez les rats témoins et les rats traité par la vitamine E (Vit E), le sélénite de sodium (Se), le sulfate de nickel (Ni) et les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement..... 97

Tableau 11: Représente la variation de quelques paramètres énergétiques chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....105

Tableau 12 : Représente la variation de quelques paramètres rénaux (urée, créatinine et acide urique) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....109

Tableau 13: Représente la variation de quelques paramètres lipidiques (cholestérol, triglycérides et lipides totaux) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....113

Tableau 14 : Représente la variation de quelques paramètres hépatiques et

enzymatiques (TGO, TGP, PAL, α amylase, bilirubine totale et directe) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel; la vitamine E sous forme de α -tocophérol; le sélénium sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....118

Tableau 15 : Représente la variation du nombre des globules rouges (GR), globules blancs (GB), du taux moyen d'hémoglobine (Hb), du pourcentage d'hématocrite, du volume globulaire moyen (VGM), de la concentration corpusculaire moyen en hémoglobine (CCMH) et de la teneur globulaire moyen en hémoglobine (TGMH), chez les rats témoins et les traités après 21 jours de traitement.....130

Tableau 16 : Représente la variation de glutathion (GSH exprimé en nmol/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....138

Tableau 17 : Représente la variation de Malondialdéhyde (MDA exprimé en nmol/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....142

Tableau 18 : Représente la variation de Activité enzymatique de la GPx (mol GSH/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....146

Tableau 19 : Représente la variation de Activité enzymatique de la GST (nmol GST/min/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les

combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.....	150
--	-----

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représente l'anion superoxyde et ses dérivés	8
Figure 2 : Représente l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	8
Figure 3: Représente les lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	11
Figure 4: Représente la nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	11
Figure 5: Représente les étapes intervenant dans la peroxydation des AGPI (exemple de l'acide linoléique).....	14
Figure 6: Représente les rôles attribués au GSH suite à un stress oxydant.....	21

Figure 7: Représente le schéma des réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C.....	22
Figure 8: Représente le schéma des défenses antioxydantes enzymatiques	23
Figure 9: Représente les interactions des composés de nickel avec les cellules épithéliales (de cible) dans la région bronchioalveolar du poumon.	36
Figure 10 : Représente les formes organiques et inorganiques du sélénium	39
Figure 11: Représente le métabolisme cellulaire du sélénium.....	43
Figure 12 : Représente la structure chimique de la Vitamine E. Les doubles liaisons indiquées en rouge ne sont pas présentes dans les tocophérols.....	52
Figure 13 : Représente le mécanisme d'absorption, transport, distribution de la vitamine E	56
Figure 14 : Représente la régénération de la vitamine E à partir de sa forme radicalaire et synergies probables entre différents couples oxydoréducteurs.....	58
Figure 15 : Représente l'effet de la vitamine E au niveau des trois phases de la peroxydation lipidique.....	61
Figure 16 : Représente le schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	66
Figure 17 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.....	86
Figure 18 : Représente la variation du poids corporel en (g) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	96

Figure 19 : Représente l'évolution du poids absolu du foie (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	98
Figure 20 : Représente l'évolution du poids relatif du foie (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	98
Figure 21 : Représente l'évolution du poids absolu des reins (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	99
Figure 22 : Représente l'évolution du poids relatif des reins (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	99
Figure 23 : Représente l'évolution du poids absolu du cerveau (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	100
Figure 24 : Représente l'évolution du poids relatif du cerveau (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	100
Figure 25 : Représente l'évolution du poids absolu des testicules (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	101
Figure 26 : Représente l'évolution du poids relatif des testicules (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	101
Figure 27 : Représente la variation de la concentration sérique en glucose (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	106
Figure 28 : Représente la variation de la concentration sérique en protéines totales (g/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	106
Figure 29 : Représente la variation de la concentration sérique en albumine (g/l) chez	

les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	107
Figure 30: Représente la variation de la concentration sérique en urée (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	110
Figure 31 : Représente la variation de la concentration sérique en créatinine (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	110
Figure 32 : Représente la variation de la concentration sérique en acide urique (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	111
Figure 33 : Représente la variation de la concentration sérique en cholestérol (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	114
Figure 34 : Représente la variation de la concentration sérique en triglycérides (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	114
Figure 35 : Représente la variation de la concentration sérique des lipides totaux (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	115
Figure 36 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la TGO (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	119
Figure 37 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la TGP (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	119
Figure 38 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la PAL (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	120
Figure 39 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la α amylase (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	120

Figure 40 : Représente la variation de la concentration sérique de la bilirubine totale (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	121
Figure 41 : Représente la variation de la concentration sérique de la bilirubine directe (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	121
Figure 42: Représente la variation des globules rouges ($10^6/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	131
Figure 43: Représente la variation d'hémoglobine (g/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	131
Figure 44: Représente la variation des globules blancs ($10^3/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	132
Figure 45: Représente la variation du volume globulaire moyen (fl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	132
Figure 46: Représente la variation d'hématocrite (%) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	133
Figure 47: Représente la variation de la teneur cellulaire en glutathion (nmol/mg prot) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	139
Figure 48: Représente la variation de la teneur cellulaire en glutathion (nmol/mg prot) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traite.....	140
Figure 49: Représente la variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	143
Figure 50: Représente la variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....	144

Figure 51: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol GSH/mg prot}$) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....147

Figure 52: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol GSH/mg prot}$) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....148

Figure 53: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase ($\text{nmol GST/min/mg prot}$) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....151

Figure 54: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase ($\text{nmol GST/min/mg prot}$) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.....152

Figure 55 : Représente les coupes histologiques du foie de rat témoin et traités par la Vit E et le Se colorées à Hématéine-Eosine 400X.....159

Figure 56 : Représente les coupes histologiques du foie de rat témoin et traités par le Ni et par les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+ Vit E+Se) colorées à Hématéine-Eosine.....161

RESUME

La présente recherche a permis d'étudier l'effet toxique du nickel et d'examiner le rôle antioxydant du sélénium et de la vitamine E chez les rats blancs mâles de la souche *Wistar Albinos*, vue l'impact important de la synergie entre ces deux antioxydants.

Nous avons utilisé 70 rats blancs mâles *Rattus rattus* de la souche *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger. Agés de 8-9 semaines, d'un poids vif moyen de 270 g. Ils ont été repartis en 7 groupes de 10 rats puis traités pendant 21 jours. Selon nos résultats obtenus, après l'administration du sulfate de nickel à 20 mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale durant 21 jours, le nickel a provoqué ; un effet néphrotoxique (augmentation de l'urée, la créatinine sériques et l'acide urique), hépatotoxique (augmentation de l'activité enzymatique des transaminases TGO, TGP et de la phosphatase alcaline PAL , une diminution des protéines totales) et hématotoxique (diminution du taux des globules rouges, du concentration d'hémoglobine et le pourcentage de l'hématocrite). D'autre part, le sulfate de nickel exerce également un effet pro-oxydant, par la diminution ; du taux de glutathion

réduit GSH et de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx au niveau du foie, reins, testicules et cerveau, par l'augmentation ; de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase GST et du taux de MDA (indice de la peroxydation lipidique). Par ailleurs, nous avons obtenu des perturbations de la fonction hépatique en produisant une nécrose hépatique.

Les résultats obtenus révèlent également, que la supplémentation de la vitamine E à 15 mg/kg et du sélénium à 10 µg/100g du poids corporel par injection intrapéritonéale, chez les rats traités par le nickel, entraînent une amélioration de l'ensemble des paramètres biochimiques, hématologique ainsi que les paramètres du stress oxydant étudiés.

En conclusion, le sélénium et la vitamine E sont des antioxydants puissants grâce à leurs effets protecteurs en synergie et ils sont capables de piéger et de neutraliser la plupart des radicaux libres et leurs effets toxiques, et par conséquent, l'atténuation de l'effet toxique du nickel.

Mots clés : Stress oxydant ; Antioxydant; Nickel ; Vitamine E; Sélénium ; Rat.

ABSTRACT

This research was permit to study the toxic effect of nickel and examine the antioxidant role of selenium and vitamin E in male white male rats Wistar albino, considering the significant impact of the synergy between these two antioxidants.

In this investigation, 70 adult male albino rats of *Wistar Rattus rattus* were randomly divided into seven groups of ten rats in each group. According to the results, after intraperitoneal injection of nickel 20 mg /kg body weight by intraperitoneal injection for 21 consecutive days. Nickel provoked a nephrotoxic effect (increase concentrations of serum urea, serum creatinine and uric acid), hepatotoxic (increase of alanine and aspartate transaminases GPT, GOT and alkaline phosphatase PAL activities, decreased of serum total protein) and hematotoxic (decreased of red

blood cells level, the hemoglobin concentration and the hematocrit percentage). In addition, nickel sulphate also exerts a pro-oxidant effect, by decreasing of reduced glutathione GSH level, glutathione peroxidase GPx activity in liver, kidneys, testicular and brain, with increasing of glutathione S-transferase GST activity and the rate of MDA (indicator of lipid peroxidation). On the other hand, it disrupts liver function by producing hepatic necrosis. The results also reveal that vitamin E of 15 mg/kg and selenium supplementation of 10 µg/100g body weight by intraperitoneal injection, in rats treated by nickel, improved some biochemical, haematological and the oxidative stress parameters.

In conclusion, selenium and vitamin E are powerful because of their protective effects in synergy; they are able to neutralize most of free radicals and their toxic effects, consequently, decreasing the toxic effect of nickel.

Key words: Oxidative stress; Antioxidant; Nickel; Vitamin E; Selenium; Rat.

المخلص

البحث الحالي سمح بدراسة تأثير النيكل و دراسة دور مضادات الأوكسدة السيلينيوم وفيتامين E عند فئران ذكور بيضاء من سلالة وستار البيبوز نظرا لتأثير التكامل بينهما.

سبعون فارا وزعوا على سبعة اقسام ثم طبقنا عليهم جرعات مختلفة لمدة 21 يوما. وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها لدينا بعد المعاملة بسلفات النيكل بجرعة 20 مغ / كغ عن طريق الحقن داخل الصفاق لمدة 21 يوما ، و تسبب النيكل ؛ بتسمم كلوي (زيادة اليوريا، و الكرياتينين وحمض اليوريك في الدم) ، تسمم كبدي (زيادة النشاط الأنزيمي GOT ، GPT و PAL ، وانخفاض البروتين) و تسمم في الدم (انخفاض معدل خلايا

الدم الحمراء ، وتركيز الهيموجلوبين ونسبة الهيماتوكريت) . من ناحية أخرى ، لنيكل أيضا تأثير المواد المؤكسدة ، وتبين ذلك ؛ بانخفاض مستوى نشاط الانزيم GPx و نشاط انزيم GSH على مستوى الكبد والكلية و الخصيتين والدماغ ، وزيادة في النشاط الأنزيمي GST و زيادة مستوى MDA (مؤشر الأوكسدة الليبدية) . بالإضافة إلى ذلك، سجلنا اضطرابات بوظائف الكبد من خلال تضرر الخلايا كبدية .

أظهرت النتائج أيضا أن إضافة فيتامين E 15 ملغ / كغ و السيلينيوم 10 µg/100g عن طريق الحقن داخل الصفاق ، مع فئران حقنوا مسبقا بالنيكل ، أدى إلى تحسن شمل الدراسة للعناصر الحيوية، توأبت الدم و مؤشرات الأوكسدة.

في الختام، السيلينيوم وفيتامين E من مضادات الأوكسدة القوية بسبب خصائصهم الوقائية الثنائية و القدرة على إعادة التوازن بإزالة معظم الجذور الحرة و آثارها السامة ، و بالتالي ، انخفاض التأثير السام للنيكل.

الكلمات الدالة: الإجهاد التأكسدي ,مضاد للأوكسدة ,النيكل, فيتامين E ، السيلينيوم، الفئران.

INTRODUCTION

La toxicité des métaux et de leurs dérivés est connue depuis très longtemps. Cependant la toxicité varie selon la forme chimique et la dose du métal induisant ainsi le stress oxydant qui est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Ce déséquilibre

est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse et d'autres (Favier, 1997; Favier, 2006; Baudin, 2006).

Le nickel est un composant naturel du sol. On est exposé au nickel en inhalant de la poussière, en consommant des aliments et de l'eau, et en touchant certains objets, comme les pièces de monnaie, les piles rechargeables et les bijoux. C'est un polluant environnemental potentiellement carcinogène (Poey et Philibert ; 2000). L'exposition au nickel peut provoquer des effets toxiques sur de nombreux tissus en l'occurrence, les reins, le foie, les poumons, et sur l'hématopoïèse, la reproduction et sur le développement. L'accumulation de ce corps toxiques dans l'organisme est susceptible de déclencher une réaction de défense (Chen et al., 2003; Chiffolleau ; 2001).

Par ailleurs, l'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants ou de défense qui ne se limite pas qu'aux vitamines (C et E) et aux oligoéléments (sélénium, cuivre et zinc). Il existe une multitude d'antioxydants proprement dits qui sont synthétisés par l'organisme ou le plus souvent apportés par notre alimentation. Entre autre, des systèmes enzymatiques extrêmement complexes assurent la réparation des éventuels dommages oxydatifs au niveau des protéines et de l'ADN, en présences des antioxydants non enzymatiques (vitamine E, sélénium, cuivre,...) sont considérés les cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydante (Defraigne et Pincemail, 2008).

Les antioxydants ont fait l'objet de nombreux travaux expérimentaux, qu'ils soient ingérés dans l'alimentation ou sous forme de compléments. En l'état actuel des connaissances, l'apport d'antioxydants par l'alimentation peut être considéré comme favorable à la santé (Tanguy et al., 2009).

Les compléments alimentaires peuvent surtout être utiles pour des populations dont l'apport nutritionnel en antioxydants est médiocre. Cependant, dans notre étude, d'une part, on a choisi la vitamine E qui est l'anti-oxydant majeur des milieux

lipidiques (huiles, membranes biologiques, lipoprotéines). Elle est bien connue pour son pouvoir antioxydant et son caractère indispensable à la fertilité. Sa capacité à réguler l'expression génique ainsi que son intervention dans la suppression des radicaux libres (Berger, 1995 ; Leger, 2000). D'autre part, le sélénium vu son rôle fondamental en tant que cofacteur biologique de la glutathion peroxydase dans la lutte contre les radicaux libres, et particulièrement il constitue le site actif de la glutathion peroxydase cette enzyme localisée à la fois dans le cytosol et les mitochondries. De plus, le sélénium le glutathion et la vitamine E sont capables de piéger et de neutraliser la plupart des radicaux libres et leurs effets toxiques (Dubois et Belleville, 1988; Simonoff et Simonoff, 1991; Favier et Hininger, 1997).

Le but de cette étude est d'étudier les effets du nickel et d'examiner le rôle bénéfique du sélénium et de la vitamine E ainsi que l'effet protecteur en synergie antagoniste dans les complications métaboliques associés au nickel chez le rat Wistar Albinos.

Ce travail comporte deux parties importantes :

Etude bibliographique qui présente quelques connaissances sur :

Le stress oxydatif ; les systèmes de défenses enzymatiques et non enzymatiques, Les dégâts et les biomarqueurs du stress oxydant.

Le nickel ; ces propriétés physicochimiques, la toxicité du nickel et l'implication du nickel dans la genèse d'un stress oxydant.

Le sélénium ; ces propriétés physicochimiques et le rôle du sélénium dans la lutte contre le stress oxydant.

La vitamine E ; Son importance biologique ainsi que son implication dans la protection de l'organisme contre le stress oxydant.

Une partie expérimental regroupe l'ensemble des résultats obtenus sur l'évaluation de la toxicité (croissance générale), l'étude de quelques paramètres biochimiques et hématologique et enfin l'exploration du statut antioxydant des quelques biomarqueurs du stress oxydant ainsi que par l'étude histologique du tissu hépatique.

I. LE STRESS OXYDANT

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre entre la balance des pro-oxydants (substances oxygénées réactives ou ROS) et les systèmes de défense (antioxydants), en faveur des premiers avec comme conséquence l'apparition de dégâts irréversibles pour la cellule (Favier, 1997 ; Favier, 2003).

A concentrations plus élevées, les ROS (dont font partie les radicaux libres) peuvent en effet engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire qui se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN et de protéines, la peroxydation des lipides. Cette situation de surproduction d'espèces radicalaires est également associée à de nombreuses pathologies comme le diabète, les cancers, les maladies cardiovasculaires, ou des troubles neurologiques comme la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Poli *et al.*, 2004; Valko *et al.*, 2007).

5. Les radicaux libres biologiques

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (libre) en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale) (Halliwell, 1996; Halliwell et Gutteridge, 1990 ; Afonso *et al.*, 2007).

Il peut être formé par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Il peut aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) ou « reactive oxygen species » (ROS) (Halliwell et Gutteridge, 1989 ; Tessier et Marconnet, 1995).

La réactivité chimique des radicaux libres de l'oxygène est variable selon la molécule considérée, mais ce sont pour la plupart de puissants oxydants. Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles (Puppo *et al.*, 1988; Goudable et Favier, 1997). Ce sont des espèces chimiques instables, très réactives, et possèdent un temps

de demi-vie extrêmement court (10^{-9} - 10^{-6} S). Ces radicaux sont paradoxalement indispensables au maintien de la vie cellulaire et jouent un rôle important dans la lutte contre les infections (Tessier, et Marconnet, 1995).

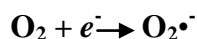
6. Sources et réactions des ERO-/ERN

La majorité des radicaux libres rencontrés dans les milieux biologiques sont des formes dérivées de l'oxygène. En effet, de par sa structure chimique particulière, l'oxygène moléculaire, non radicalaire, est à l'origine de la formation de diverses espèces réactives. Les radicaux libres oxygénés les plus souvent impliqués en physiopathologie sont l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxyde (RO^{\bullet}) ainsi que d'autres espèces non radicalaires le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les hydroperoxydes ($ROOH$) ou encore le nitroperoxyde ($ONOOH$). Ce ne sont pas des radicaux libres mais des dérivés de radicaux libres et ils peuvent en générer par différentes réactions chimiques (Maiese *et al.*, 2010; Juurlink, 1997 ; Gilgun-Sherki *et al.*, 2001 ; Ré *et al.*, 2005).

Les ERO et ERN ont plusieurs origines. Elles peuvent être d'origine exogène : produits des radiations (rayons X et lumière UV). Polluants de l'air (N , NO_2), solvants organiques, anesthésiques, pesticides, drogues, xénobiotiques et métaux toxiques (chrome, nickel ou cobalt), etc (Halliwell et Gutteridge, 1989). Lorsqu'elles sont d'origine endogène, elles sont produites, en majorité, au niveau des membranes, des organelles (peroxysomes, lysosomes, réticulum endoplasmique, mitochondrie) et du cytoplasme de différents types cellulaires par le biais de divers mécanismes (enzymatique et non enzymatique) (Nohl, 1994, Sohal *et al.*, 1990 ; Becker *et al.*, 1991).

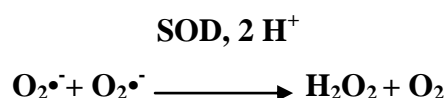
Leur source principale de production est la chaîne respiratoire mitochondriale. En effet, la respiration cellulaire, indispensable à la production d'énergie nécessaire à la survie, s'accompagne d'une production non réductible de radicaux libres. De plus, il a été montré que la membrane mitochondriale a une très faible perméabilité à différentes substances antioxydantes (Machlin et Bendich, 1987; Housset, 1990).

Lors du métabolisme oxydatif, 2 à 5 % de l'oxygène consommé est converti en radical superoxyde. Ceci est dû à des électrons qui s'échappent de la chaîne respiratoire et se fixent directement sur l'oxygène moléculaire (O₂), conduisant à la formation du radical superoxyde O₂^{•-}, au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) selon la réaction :



Celui-ci peut aussi être produit au cours de l'auto-oxydation de certains composés tels que l'hémoglobine, la myoglobine, le cytochrome c réduit, etc. mais aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système enzymatique des cytochromes P450 présents au niveau du réticulum endoplasmique (Cadenas et Davies, 2000; Gupta *et al.*, 1997).

Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des enzymes appelées superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent sa disparition par dismutation.



L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène, H₂O₂) ainsi formée n'est pas elle-même un radical libre mais une molécule (ayant tous ses électrons périphériques appariés). Sa production peut également résulter de formation de OH• (Wardman *et al.*, 1996 ; Cerruti, 1985; Morel et Barouki, 1998).

Au cours d'un stress oxydatif, c'est-à-dire lors d'un déséquilibre de la balance entre la production de prooxydants et la défense antioxydante de l'organisme, ces ERO peuvent induire des lésions lipidiques, protéiques et de l'ADN. En effet, le H₂O₂ se transforme en radical hydroxyle (OH•) par :

- la réaction de Fenton : En présence de métaux de transition tels que le fer et le cuivre. Sous leur forme la moins oxydée (Fe²⁺, Cu⁺) peut, en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), conduire à la formation du radical hydroxyle (OH•) très agressif pour les structures cellulaires. Le radical OH• est la plus

réactive des ERO en particulier, vis-à-vis des lipides membranaires en déclenchant la peroxydation lipidique.



➤ Ou celle de Haber-Weiss : $(\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2\cdot^- \rightarrow \text{OH}\cdot + \text{OH}^- + \text{O}_2)$.

En présence de métaux de transition tels que le fer et le cuivre. Le radical $\text{OH}\cdot$ est la plus réactive des ERO en particulier, vis-à-vis des lipides membranaires en déclenchant la peroxydation lipidique (Figure 1) (Halliwell et Gutteridge, 1989; Tessier, et Marconnet, 1995; Huet et Duranteau, 2008).

Le monoxyde d'azote radicalaire ou $\text{NO}\cdot$ est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...). Toutefois, le $\text{NO}\cdot$ se combine aisément avec l'anion superoxyde $\text{O}_2\cdot^-$ pour former le peroxynitrite ONOO^- , agent non radicalaire et un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (Figure 2) (Hyaden et Tyagi, 2003 ; Hare, 2004 ; Pryor et Squadrito ; 1995).

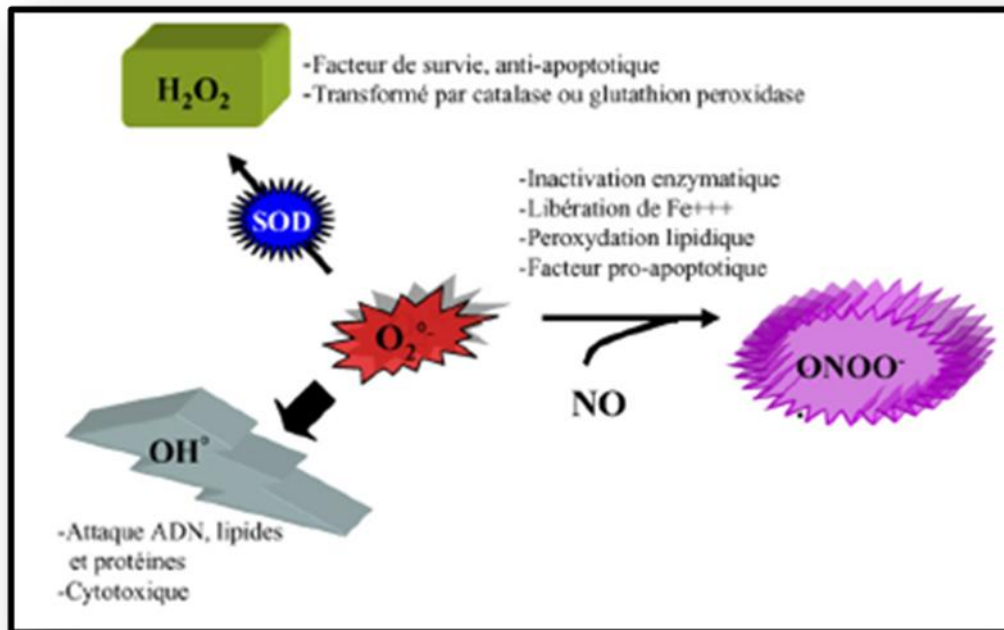


Figure 1 : Représente l'anion superoxyde et ses dérivés (Afonso *et al.*, 2007).

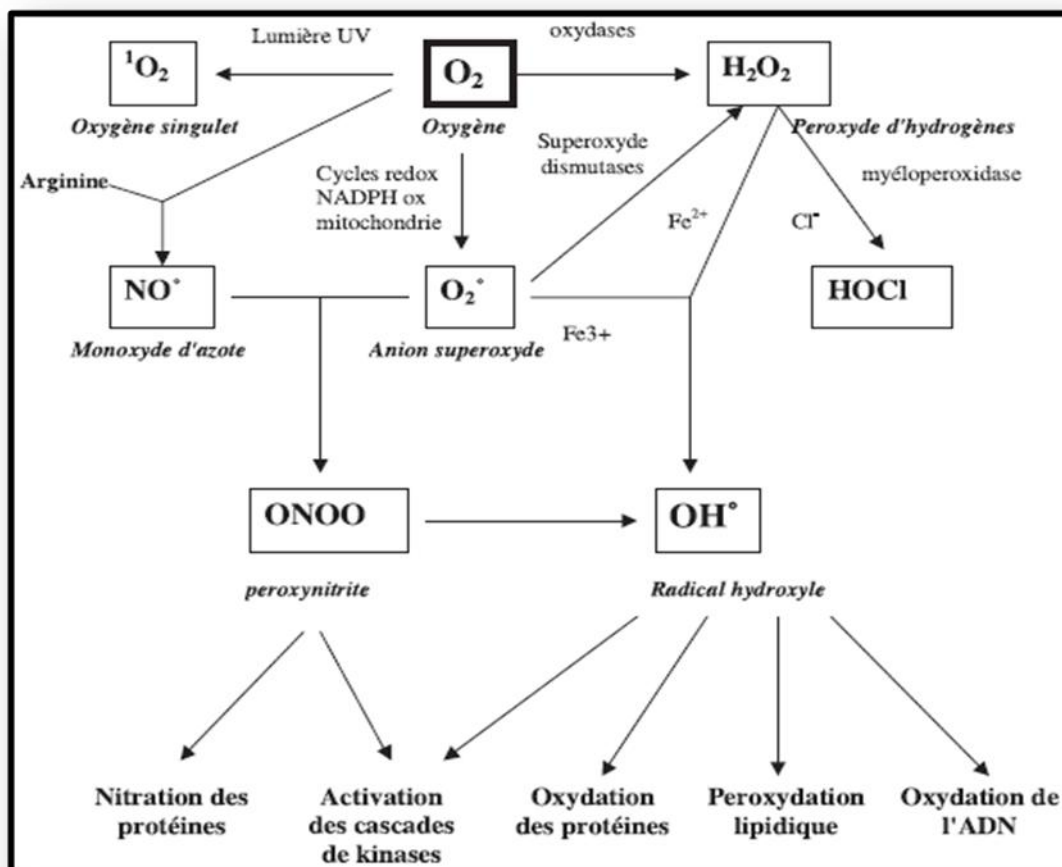


Figure 2 : Représente l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

7. Principales cibles biologiques des EOR

Lors d'un stress oxydant, les EOR non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN (Ramonatxo, 2006).

7.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN

L'ADN (ADN), qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Les radicaux $O_2^{\bullet-}$ et OH^{\bullet} provoquent des lésions de l'ADN (Ramonatxo, 2006). Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH^{\bullet} pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine ou entraîner des cassures au niveau de la double hélice d'où le rôle mutagène des ERO (Haleng *et al.*, 2007; Duranda *et al.*, 2013).

Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions, amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (Figure 3). De par leur action sur les principaux constituants moléculaires de la cellule, les ERO induisent différents signaux cellulaires susceptibles d'activer les systèmes de protéolyse et de mort cellulaire (Hartmann et Niess 2000 ; Ramonatxo, 2006).

7.2. Les protéines

La toxicité des ERO s'exerce également sur les protéines. Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ERO. Mais ces derniers sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leurs actions sont :

-
- les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine et phénylalanine. La phénylalanine et la tyrosine peuvent être oxydées en L-dihydroxyphénylalanine (LDOPA) ou L-trihydroxyphénylalanine (L-TOPA), ces deux produits d'oxydation étant potentiellement des composés mutagènes. L'oxydation de deux tyrosines proches peut aussi conduire à la formation de dityrosine qui lorsqu'elle se forme à partir de deux chaînes peptidiques différentes représente aussi un facteur d'agrégation des protéines. Enfin, le tryptophane peut être oxydé en hydroxytryptophane, dont les métabolites (hydroxyindole et hydroxykinurénine), formés en milieu très oxydant, présentent une activité mutagénique élevée (Morzel *et al.*, 2006, Hashizume *et al.*, 1991).
 - Les acides aminés basiques comme l'arginine, lysine et l'histidine, sur lesquels le radical OH• s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (Dean *et al.*, 1997).
 - les acides aminés soufrés tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines (Duranda *et l.*, 2013).

Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Par ailleurs, le radical OH•, mais aussi l'anion superoxyde O₂•⁻, s'attaquent également aux protéines des tissus de soutien, comme le collagène du tissu conjonctif. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique (Dean *et al.*, 1997 ; Ramonatxo, 2006).

La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non- reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique) altérant la signalisation cellulaire (Figure 4). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng *et al.*, 2007).

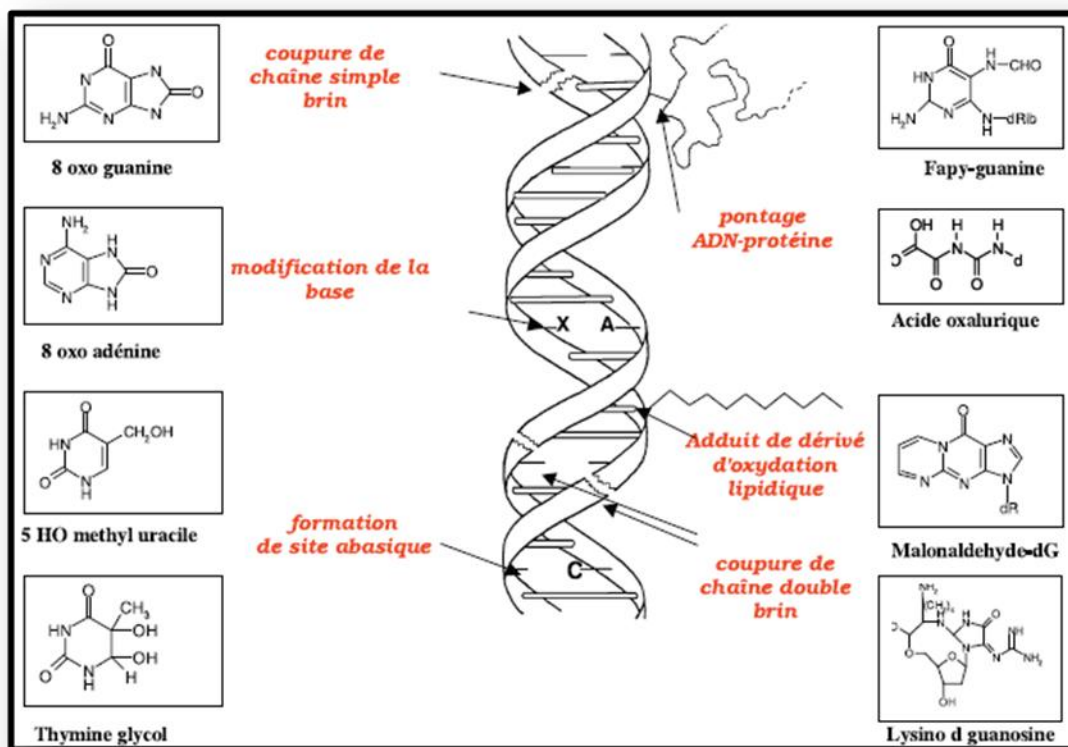


Figure 3 : Représente les lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

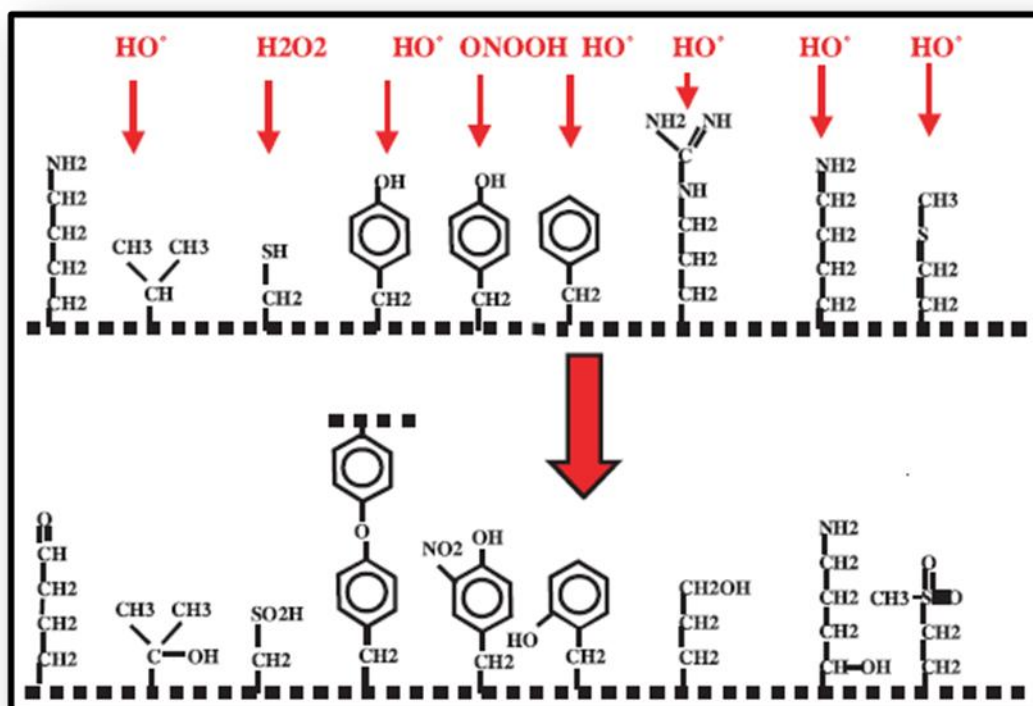


Figure 4 : Représente la nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

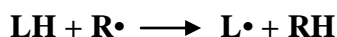
7.3. Les lipides membranaires

La lipoperoxydation (LIPOX) est un terme générique décrivant l'ensemble des réactions entre radicaux libres et les acides gras polyinsaturés (AGPI). C'est un phénomène permanent, siégeant dans une grande variété de tissus (Tessier et Marconnet, 1995).

Les lipides et principalement les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont des cibles privilégiées des ERO en raison de leur richesse doubles liaisons, l'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (Davies, 2000).

Le cycle d'oxydation des AGPI est bien décrit, il comporte trois phases : l'initiation, la propagation et la terminaison.

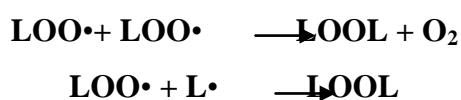
- la phase d'initiation. : Le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons (groupement méthylène ($-\text{CH}_2-$)) des acides gras poly-insaturés (AGPI). Cette phase aboutit à la formation d'un radical d'acide gras ou radical alkyle ($\text{L}\bullet$) dont l'instabilité va rapidement induire des remaniements électroniques conduisant à la formation d'un diène conjugué (ou radical diényl) caractérisé par la présence de deux doubles liaisons conjuguées.



- La phase de propagation : le radical diényl se combine avec l'oxygène pour former un radical peroxyde ($\text{LO}\bullet$), suffisamment réactif pour arracher un H^+ à un AGPI voisin entraînant la formation d'un hydroperoxyde (LOOH) et d'un nouveau radical alkyle qui assure la propagation de la réaction.



-
- La phase de terminaison : consiste en la formation de composés issus de l'association de deux espèces radicalaires. Le radical alkyle réagit avec un autre radical alkyle ou radical libre (LOO•) permettant la neutralisation des radicaux libres par la glutathion et par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes peroxydase forment un produit non radicalaire, tel que le malondialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxy-2,3-nonéanal (4-HNE) aboutissant ainsi à la terminaison de la chaîne de lipoperoxydation (Figure 5) (Pré, 1991; Kuhn et Borchert, 2002; Abuja et Albertini, 2001).



La LIPOX a pour conséquence une diminution de la fluidité membranaire, une augmentation de la perméabilité aux substances qui ne doivent normalement pas la traverser, des altérations structurales des membranes et des lipoprotéines, inactivation des enzymes membranaires structurales et enfin une cytotoxicité qui peut être attribuée aux espèces radicalaires qu'elle génère et aux aldéhydes qui en sont issus par des réactions de coupures (Tessier et Marconnet, 1995; Requena *et al.*, 1996).

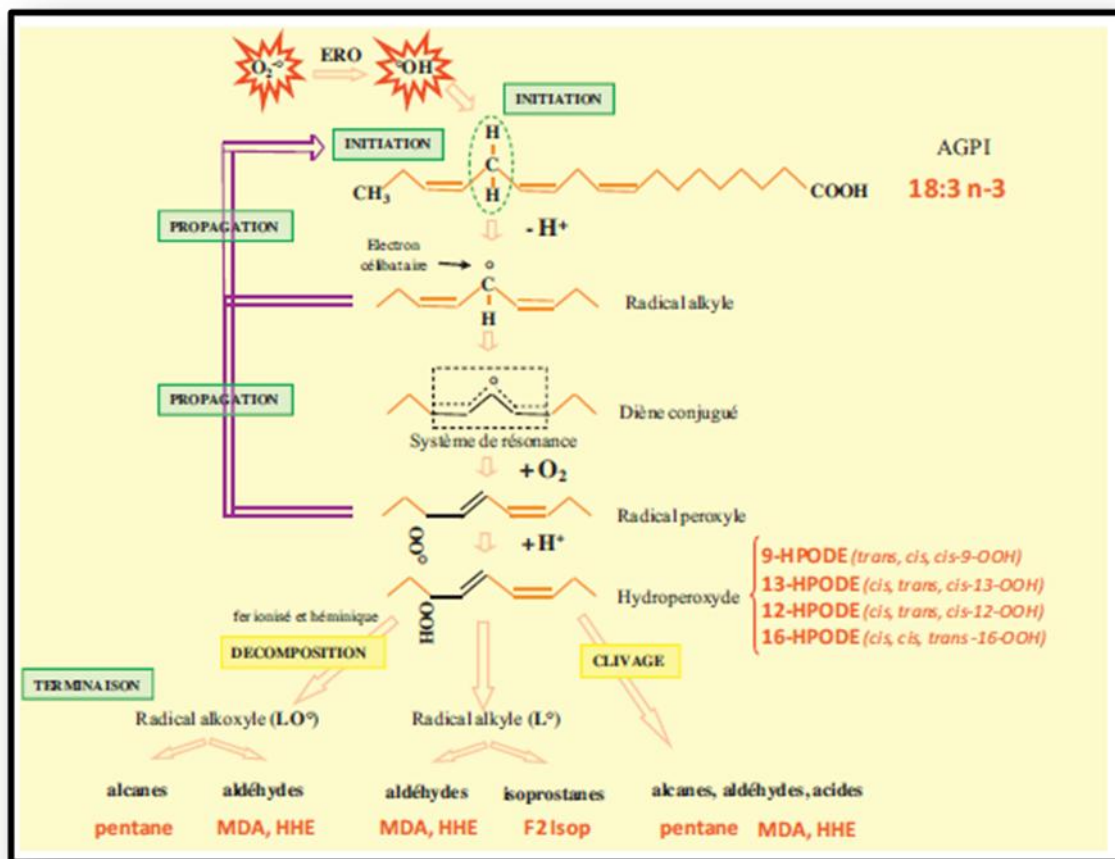


Figure 5 : Représente les étapes intervenant dans la peroxydation des AGPI (exemple de l'acide linoléique). HPODE : hydroperoxy-octadecatienoate ; MDA : malondialdéhyde ; HHE : 2-hydroxy-4-hexenal (Duranda *et al.*, 2013).

8. Les systèmes de défenses antioxydantes

L'organisme dispose de systèmes de protection contre les ERO. Le terme d'antioxydants est utilisé pour caractériser un ensemble de substances ou composés, de nature diverse, dont la caractéristique commune est d'être capable de s'opposer ou de contrôler l'accumulation au niveau cellulaire de radicaux libres. Cette propriété leur permet d'agir directement ou indirectement en tant que moyen de défense contre le stress oxydatif (Diplock, 1991 ; Chan *et al.*, 1999 ; Hercberg *et al.*, 2006).

8.1. Les systèmes enzymatiques

8.1.1. Superoxydes dismutases (SODs)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon la formule suivante:



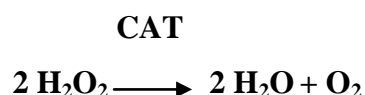
Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance (Nelson *et al.*, 1994). L'activité des SOD doit être couplée à une activité suffisante de la catalase ou de la glutathion peroxydase (GPx), sinon il s'en suivra une production nette d' H_2O_2 qui, en présence de métaux de transition, pourra donner naissance au puissant oxydant qu'est le radical hydroxyle et pour lequel il n'y a aucun mécanisme de détoxification enzymatique (Chan, 2001 ; Nelson *et al.*, 1994 ; Ré *et al.*, 2005).

Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. Elles qui contiennent soit du manganèse (Mn-SOD), soit du cuivre et du zinc (Cu/Zn-SOD), et qui sont restreintes à des compartiments cellulaires différents.

- ✓ La SOD1 ou Cu/Zn-SOD, est cytosolique;
- ✓ La SOD2 ou Mn-SOD est mitochondriale;
- ✓ La SOD3, comporte du cuivre et du zinc, est extracellulaire et est donc aussi appelée EC-SOD (Johnson et Giulivi, 2005; Matsumoto et Fridovich, 2001; Mc Cord et Edeas, 2005).

8.1.2. Les catalases

Se sont des enzymes présentes dans un grand nombre de tissus mais elles sont essentiellement localisées dans les hématies et les peroxysomes. Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau comme suit :

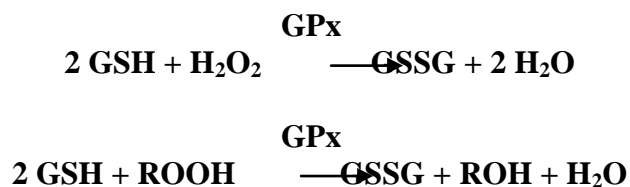


Leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993; Kang *et al.*, 1996 ; Mates *et al.*, 1999).

8.1.3. Glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes tétramériques dont chaque unité possède un atome de sélénium dans son site actif sous la forme de sélélocystéine. Ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique. Le facteur limitant de la synthèse des sélénoprotéines, et donc des GSHPX, est la teneur intracellulaire en sélénium. Il faut donc la présence concomitante des SOD et des GSHPX pour obtenir un effet protecteur optimum contre les radicaux libres. Toutes les enzymes GPx sont connus pour ajouter deux électrons pour réduire les peroxydes d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques en formant selenoles (Se-OH) (Vitoux *et al.*, 1996; José *et al.*, 1999).

Le rôle des glutathions peroxydases (GSH-Px) est très important dans la plupart des tissus où elles réalisent la quasi-totalité de l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG). Protégeant ainsi les cellules de mammifères contre les dommages oxydatifs. En fait, le métabolisme du glutathion est l'un des mécanismes les plus essentiels de défense anti-oxydante (Esterbauer *et al.*, 1992; Michiels *et al.*, 1991 ; Escobar *et al.*, 1996).



Il existe cinq isoformes de GPX trouvés chez les mammifères. Les niveaux de chaque isoforme varient en fonction du type de tissu.

- ✓ cGPX ou GPX1 : Cytosolique et mitochondriale ;
- ✓ GPx-2 (gastro-intestinale) ;
- ✓ GPX3 extracellulaire ou plasmatique ;
- ✓ GPx-4 (cytosolique, mitochondriale et membranaire ;
- ✓ GPX5, exprimé spécifiquement dans l'épididyme (De Haan *et al.*, 1998; José *et al.*, 1999).

8.1.4. Glutathion S-Transférases

Les glutathion transférases sont des enzymes séléno-indépendantes qui participent à la détoxification des radicaux libres d'un grand nombre de composés électrophiles (médicaments, agents cancérigènes,...). Cette addition permet leur métabolisation puis leur excrétion (Valko *et al.*, 2006).

Les glutathion *S*-transférases cytosoliques sont les plus abondantes et les mieux connues. Elles forment une famille multigénique d'enzymes, dont les membres homo- ou hétérodimériques sont répartis, en fonction de leur homologie de séquence peptidique, en cinq classes : alpha (α), mu (μ), pi (π), sigma (σ) et théta (θ). Ils ont pour substrats des composés chimiques contenant un groupement électrophile hautement réactif vis-à-vis des protéines, des lipides ou des acides nucléiques, et donc potentiellement toxiques pour l'organisme. Elles conjuguent le groupement électrophile de ces composés au glutathion (GSH), ce qui aboutit à l'inactivation et l'élimination de leurs substrats. Certaines glutathion *S*-transférases cytosoliques possèdent également une activité peroxydase vis-à-vis des produits de peroxydation des acides gras, des phospholipides et de l'acide désoxyribonucléique. Elles sont donc également importantes dans la lutte contre le stress oxydant (Hayes et Pulford, 1995; Chasseaud, 1979).

Il existe d'autres enzymes présentent une activité anti-oxydante importante comme :

- la glutathion réductase utilise le NADPH pour régénérer le GSH à partir du GSSG.
- les peroxyredoxines (Prx) qui réduisent un grand nombre de molécules comme l'H₂O₂ et utilisent la thioredoxine (Trx) comme réducteur.
- la thiorédoxine réductase (TrxR) qui intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique.
- l'oxydase hémique (HO) est une protéine impliquée dans la dégradation de l'hème prostétique. Les métabolites dérivés de l'hème peuvent constituer des produits ayant une fonction antioxydante, anti-inflammatoire, de signalisation ou anti-apoptotique (Stocker *et al.*, 1987 ; Ryter et Tyrell, 2000).

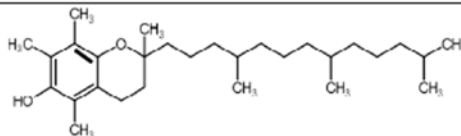
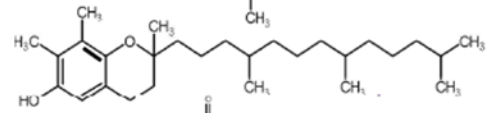
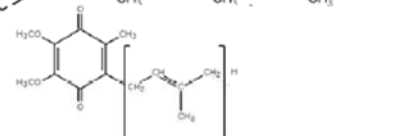
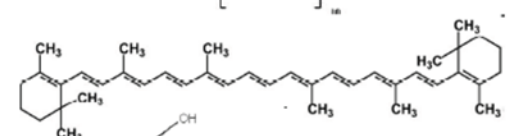
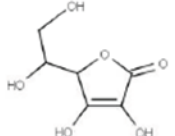
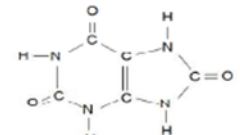
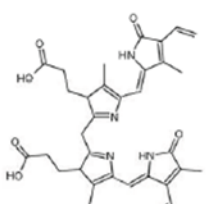
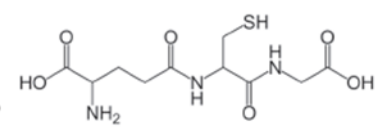
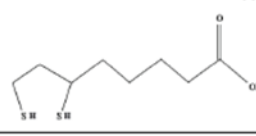
8.2. Les défenses non-enzymatiques

Il s'agit en général, de petites molécules qui présentent des propriétés de type « substrat suicide » qui peuvent être, ou non, métaboliquement réparées ou recyclées. Ces molécules opèrent comme bouclier antioxydant en devenant elles-mêmes radicalaires, et protègent les acides nucléiques, les protéines et les lipides (Haleng *et al.*, 2007).

8.2.1. Le glutathion

Le GSH est le thiol non protéique (L- γ -glutamyl-L-cystéinyglycine) (Tableau 1) le plus abondant dans les cellules des mammifères où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) (Sies, 1999; Pompella *et al.*, 2003). C'est un antioxydant intracellulaire multifonctionnel. Il possède plusieurs fonctions importantes pour la viabilité cellulaire (Pastore *et al.*, 2003 ; Ji *et al.*, 1999).

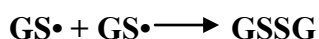
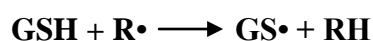
Tableau 1 : Représente les formules et concentrations plasmatiques des principaux antioxydants. D'après Sies, 1999).

Nom	Formule	Concentration plasmatique (µmol/L)
α-tocophérol		15-40
γ-tocophérol		3-5
Ubidécaquinone		0,4-1,0
β-carotène		0,3-0,6
Acide ascorbique		30-150
Acide urique		160-450
Bilirubine		5-20
Glutathion		1-2
Acide α-lipoïque		< 0,005

Le GSH possède plusieurs fonctions importantes pour la viabilité cellulaire. Il interagit :

- Soit, directement avec différents ROS (radical hydroxyle, superoxyde, NO...) en piégeant les radicaux libre pour former le disulfure par oxydation :

L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos.



- Soit, en tant que réducteur des hydroperoxydes lipidiques (ROOH) comme un cosubstrat de la GPx. L'oxydation du GSH conduit à la formation du glutathion oxydé (GSSG). Sa régénération fait intervenir la GSSG réductase et nécessite du NADPH (produit grâce à la glucose 6-phosphate déshydrogénase de la voie des pentoses phosphate) (Haleng *et al.*, 2007; Valko *et al.*, 2006).

Il fait l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E. c'est aussi un régulateur de l'apoptose et permet d'empêcher l'oxydation des groupements thiols des protéines, contribuant ainsi au maintien du potentiel redox de la cellule et donc au maintien de bon nombre de processus de signalisation. de la prolifération cellulaire, et un partenaire dans les réactions de détoxification des xénobiotiques auxquels il est conjugué par la GSH S-transférase. Il est également impliqué dans la synthèse des désoxyribonucléiques. Dans les cellules eucaryotes, le GSH est présent majoritairement dans le cytosol (90%) mais aussi dans les mitochondries (Deneke et Fanburg, 1989; Pastore *et al.*, 2003).

Enfin, dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible (Figure 6). Le rapport GSH/GSSG est un indicateur de l'équilibre redox dans la cellule et il est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress (Jones, *et al.*, 2000; Stamler et Slivka, 1996; Beck, 1997).

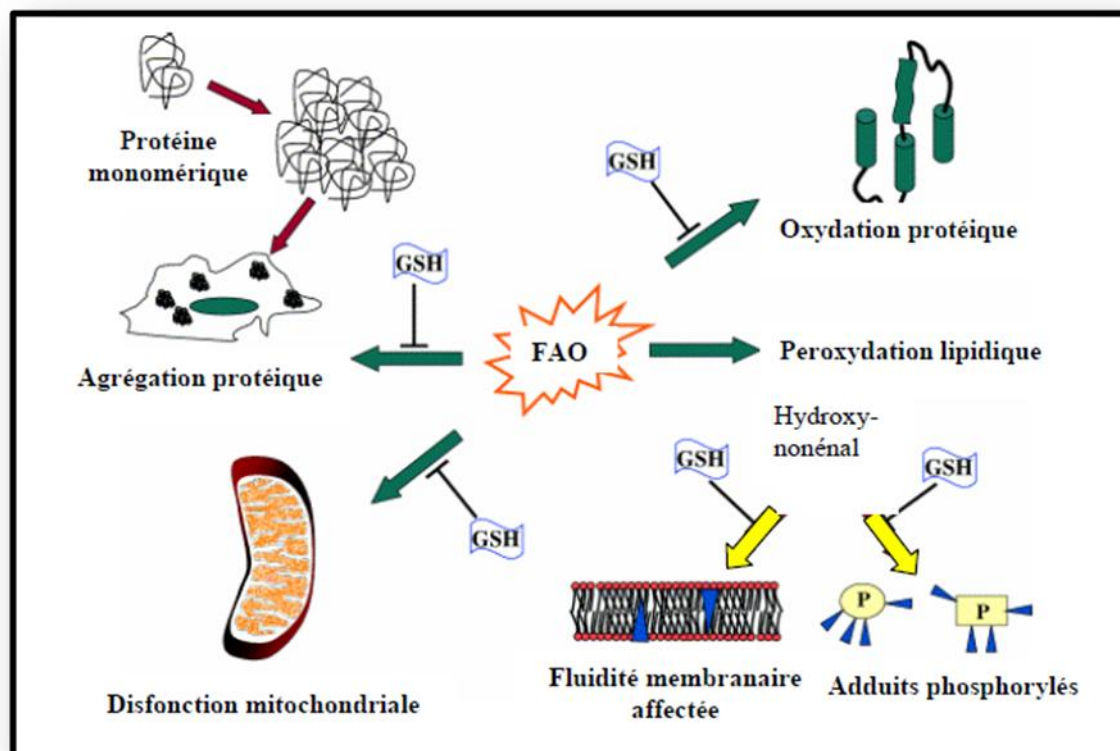


Figure 6 : Représente les rôles attribués au GSH suite à un stress oxydant (Bharath *et al.*, 2002).

8.2.2. La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui diffèrent des tocols par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). D'un point de vue biologique, l' α -Tocophérol est l'isomère majoritaire de la famille tocophérols ainsi que la forme la plus active de la vitamine E. son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où il joue un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes ($\text{ROO}\cdot$) pour former un hydroperoxyde (LOOH) ou un hydroxyde (LOH) lipidique ainsi qu'un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng *et al.*, 2007; Burton et Ingold, 1989; Pryor, 2000) (Figure 7)

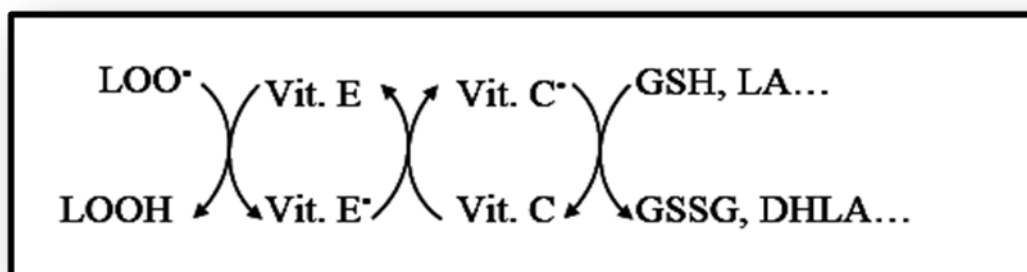
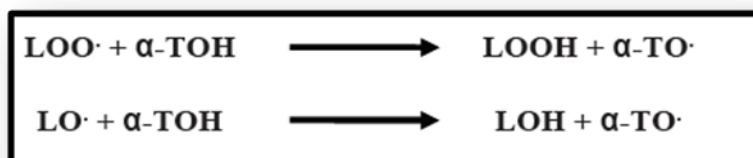


Figure 7 : Représente le schéma des réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C (Packer et al., 2001).

($\text{LOO}\cdot$) : radical peroxyde lipidique, (LOOH) : hydroperoxyde lipidique, (Vit. E) : vitamine E, (Vit. C) : vitamine C, (GSH) : glutathion réduit, (GSSG) : glutathion oxydé, (LA) : acide lipoïque, (DHLA) : acide dehydrolipoïque.

8.2.3. La Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire; c'est un antioxydant très important. C'est un excellent piègeur de ROS à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxyle et superoxyde ainsi que contre le peroxynitrite. Bien que l'ascorbate soit hydrosoluble, il est capable de régénérer la vitamine E, ce qui permet de déplacer les ROS de la membrane vers le cytosol et de prévenir la peroxydation lipidique. Les formes oxydées de l'ascorbate, le semidéhydroascorbate et le déhydroascorbate, peuvent être régénérées par le GSH ou par d'autres thiols intracellulaires voir figure 8 (Rice, 2000; Kojo, 2004; Evans; 2000 ; Valko *et al.*, 2007).

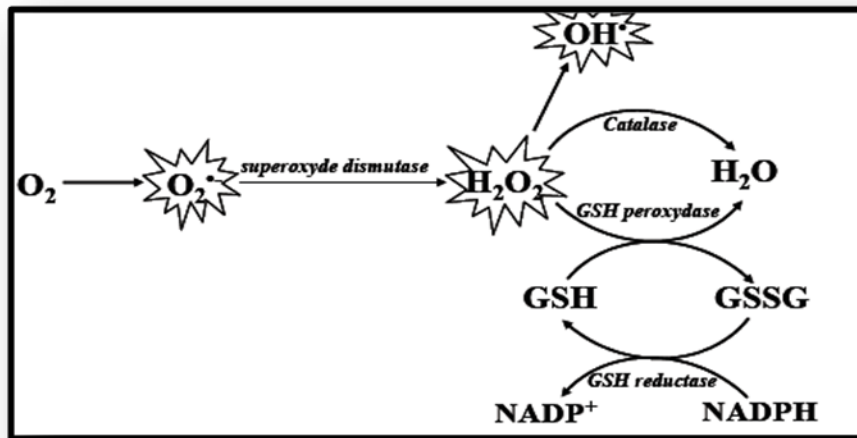


Figure 8 : Représente le schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Halliwell et Gutteridge, 2007).

8.2.4. Les oligoéléments

Les oligo-éléments ont deux fonctions principales : un rôle clé dans le métabolisme intermédiaire comme cofacteurs ou coenzymes, et un rôle de neutralisation des radicaux libres. Il existe dix oligo-éléments ou éléments traces (ET) sont considérés comme essentiels chez l'être humain. Parmi eux le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique (Tableau 2). Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (Shenkin, 1993; Neve, 1992).

Tableau 2 : Représente les Oligoéléments essentiels : contenu corporel et teneur moyenne de l'organisme humain et rappel de leurs fonctions principales (Shenkin, 1994).

Eléments	Contenu (mg)	Teneur (mg.kg ⁻¹)	Fonctions principales
Cuivre (Cu)	80-150	1,5	Transfert d'électrons Antioxydant : superoxyde dismutases, céruloplasmine Synthèse collagène, élastine, catécholamines Immunité
Fer (Fe)	3000-5000	60	Transport d'oxygène (hémoglobine) Transfert d'électrons (cytochromes) Métabolisme musculaire Immunité
Sélénium (Se)	6-15	0,2	Antioxydant : glutathion peroxydases Métabolisme thyroïdien : désiodinase hépatique
Zinc (Zn)	1500-2500	33	Immunité Toutes les voies métaboliques Endocrinologie (insuline, thyroïde, etc.) Antioxydant Vision nocturne
Chrome (Cr)	< 10	0,02	Composant du <i>glucose tolerance factor</i> Métabolisme de graisses
Cobalt (Co)	1,1	0,02	Composant de la vitamine B12
Fluor (F)	2000-3000	37	Structure de l'émail et du squelette
Iode (I)	15-25	0,2	Composant des hormones thyroïdiennes
Manganèse (Mn)	12-20	0,2	Activateur enzymatique : hydrolases, kinases, carboxylases, transférases
Molybdène (Mo)	< 10	0,02	Métabolisme du soufre (sulfite oxydase) Métabolisme acide urique (xanthine oxydase)

II. LE NICKEL

1. Définition du nickel

Le chimiste suédois *Alex Cronstedt* a été le premier à isoler le nickel en 1751, il est le quatrième métal le plus utilisé au monde (Kazimerz *et al.*, 2003).

Le nickel est un métal lourd, blanc argenté et l'un des micronutriments essentiels pour la croissance et le développement des plantes et il est également un oligo-élément essentiel pour l'organisme, dont les carences sont graves. La dose quotidienne de nickel ingéré se situe idéalement entre 100 et 300 µg/jour, mais peut varier de 100 à 800 µg selon les habitudes alimentaires. C'est un allergène puissant, ubiquitaire et un carcinogène prouvé (Stoltz *et al.*, 2003).

Sa conductivité électrique et sa conductivité thermique sont élevées, son point de fusion est de 1 452 °C et il peut être étiré, laminé, forgé et poli. Il résiste à l'action de l'air et de l'eau aux températures ambiantes (-20 à 30 °C) et il est donc souvent utilisé comme revêtement électrolytique de protection.

Le nickel (Ni) est le vingt-quatrième élément le plus abondant de la croûte terrestre, sa concentration moyenne étant d'environ 75 mg/g. Son numéro atomique est 28 et il a une masse atomique de 58,71 (Tableau 3). Il existe sous les états d'oxydation -1, 0, +1, +2, +3 et +4, mais son état de valence le plus courant dans l'environnement est Ni²⁺ (Barceloux, 1999; Valko, 2005).

Le nickel existe sous 5 formes principales :

- nickel élémentaire et ses alliages
- composés inorganiques et hydrosolubles : (sulfates et les chlorures de nickel).
- composés inorganiques et insolubles dans l'eau : oxydes de nickel.
- composés organiques et insolubles dans l'eau nickel carbonyle Ni (CO)₄ (Sunderman *et al.*, 1987 ; Haber *et al.*, 2000).

Tableau 3: Représente les propriétés de nickel d'après (Cotton et Wilkinson, 1988; Nieboer *et al.*, 1988).

Symbole chimique	Ni
Numéro atomique	28
Masse atomique	58,71
Structure cristalline	cubique à face centrée (a = 0,352 nm)
Densité (à 20°C)	8,902 g/cm ³
Température de fusion	1452°C
Température d'ébullition	2732°C
Résistivité électrique à 20°C	6,9 μ ohm.cm
Conductibilité thermique à 0-100°C	90,9 W / (m.K)
Configuration électronique	[2, 8,8] 3d8 4s2
Isotopes	de 56 à 66

2. Sources d'exposition

Le nickel est une substance que l'on retrouve dans le milieu naturel, essentiellement dans les minerais sulfurés extraits des sous-sols et dans les minéraux silicates se trouvant en surface. Dans l'environnement, le nickel est surtout combiné à l'oxygène (oxydes) et au soufre (sulfures).

La croûte terrestre contient environ 0,009 % de nickel. De plus, le nickel est présent dans l'air, dans les particules en suspension, après avoir été rejeté par des activités humaines ou des phénomènes naturels, comme les éruptions volcaniques, les incendies de forêts et les météorites provenant de la haute atmosphère (Brun, 1979; Echevarria *et al.*, 2006).

La présence de nickel dans la nourriture est due à deux facteurs principaux : l'absorption par les plantes (dont certaines concentrent jusqu'à 1000 fois le taux

retrouvé habituellement dans le sol) et la contamination secondaire des aliments par l'utilisation d'ustensiles en acier inoxydable, pour leur préparation, cuisson, conservation, transformation et ce d'autant plus que ces derniers sont plus acides (Schollhammer *et al.*, 1994).

La viande et le poisson sont également relativement riches en nickel et ceci d'autant plus que l'âge des animaux augmente. Les produits laitiers et les boissons sont plutôt pauvres en nickel. Les margarines contiennent des quantités de nickel élevées, puisque celui-ci est utilisé comme catalyseur dans l'hydrogénation commerciale (Stoltz *et al.*, 2003; Brun, 1979).

3. Utilisation

Les composés du nickel sont aussi employés dans divers produits et procédés. La présence de nickel dans ces produits améliorant leurs propriétés mécaniques et leur résistance à la corrosion et à la chaleur.

- ❖ Préparation d'alliages non ferreux (avec le cuivre, le chrome, l'aluminium, le molybdène...), notamment pour la fabrication de pièces de monnaie, d'outils, d'ustensiles de cuisine et de ménage...
- ❖ Revêtement électrolytique des métaux (nickelage).
- ❖ Catalyse en chimie organique (hydrogénation d'huiles et de graisses, désulfuration de produits pétroliers, polymérisation ou décomposition d'hydrocarbures, réduction d'oxydes d'azote...) (Shacklette et Boerngen, 1984; Thomas *et al.*, 1999).

Le nickel à usage métallurgique est fourni soit sous forme massive de nickel pur (cathodes, billes...), soit sous forme massive de ferronickel (25 à 35 % de nickel), soit encore sous forme d'oxyde de nickel brut (Lu *et al.*, 2005; Von Burg, 1997; CARB, 2008; ATSDR, 2005).

L'oxyde de nickel (NiO) est utilisé dans la fabrication de sels de nickel, de ferrite, de catalyseurs. Il est également employé comme colorant pour le verre et est utilisé dans les peintures pour porcelaine (PISSC, 1991; CARB, 2008).

4. Métabolisme du nickel

4.1. Absorption

Environ 20 à 35% du nickel et ses composés sont absorbés par voies respiratoires, sous forme de composés peu solubles sont absorbés dans le sang à partir des voies respiratoires (Sunderman et Oskarsson, 1991). Les composés solubles du nickel (chlorure, sulfate) sont plus facilement absorbés par le tractus respiratoire.

Par voie orale, quarante fois plus de nickel sont absorbés par le tractus gastrointestinal. Le sulfate de nickel est administré dans l'eau de boisson est plus facilement absorbé que dans la nourriture (Sunderman *et al.*, 1989 ; Solomons *et al.*, 1982).

L'absorption du nickel existe également par voie cutanée. Cette voie est peu significative quantitativement mais importante cliniquement dans la pathogénie de la dermatite de contact. Il n'existe pas de différence d'absorption du nickel par voie cutanée entre les sujets hypersensibles et les autres (Lloyd, 1980).

4.2. Distribution

La distribution du nickel varie selon la voie d'exposition. Après absorption, le nickel se distribue largement dans les tissus, les plus fortes concentrations étant retrouvées dans le rein (Ishimatsu *et al.*, 1995 ; Dieter *et al.*, 1988), puis dans le poumon, la thyroïde, les glandes surrénales le cœur, le cerveau, la rate et le pancréas (Rezuke *et al.*, 1987). Le nickel traverse la barrière foeto-placentaire et s'accumule dans les tissus du fœtus (Jasim et Tjalve, 1986).

Dans le sérum, le nickel est lié à l'albumine, la L-histidine et l' α -2 macroglobuline. Une faible fraction est liée aux acides aminés (cystéine et histidine). Chez les humains, les rats et les bovins, la fixation du nickel à l'albumine sérique se réalise au niveau d'un résidu histidine (Hendel et Sunderman, 1972 ; Sarkar, 1984).

L'entrée du nickel dans les cellules interfère avec les voies impliquées dans l'homéostasie du fer (compétition avec la transferrine, Sun *et al.*, 1999 ; Chen *et al.*, 2005). L'apport en fer peut donc limiter l'absorption cellulaire du nickel (Tallkvist *et al.*, 2003) et à l'inverse, le nickel peut altérer la régulation de l'homéostasie du fer en bloquant la traduction d'ARN messagers codant pour la ferritine (Chen *et al.*, 2005).

Les études de Dieter *et al.*, 1988 ; Pardeep, 2004 ; Pari et Prasath, 2008 suggèrent que l'intoxication par le nickel témoigne d'une dégénérescence des hépatocytes. Ainsi, le sulfate de nickel administré par voie cutanée ou orale provoque chez le rat des effets hépatiques qui se traduisent par un gonflement des hépatocytes, une nécrose focale et une vacuolisation accompagnés d'une augmentation de l'activité enzymatique du foie notamment de la catalase, les transaminases, une augmentation de lipides et de la bilirubine.

4.3. Excrétion

Après inhalation, le nickel particulaire insoluble est très lentement éliminé, ce qui entraîne une accumulation avec le temps. L'excrétion du nickel dépend de l'origine de l'exposition ; son élimination se réalise majoritairement par les urines (3-6%). En cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel (non absorbé) est excrété par les fèces (94-97%). à des taux très variables et un peu également dans la sueur (Onkelinx *et al.*, 1973).

La demi-vie chez l'animal est de 48 à 72 heures. Chez l'homme, la demi-vie plasmatique est de l'ordre de 20 à 34 heures ; la plus forte concentration plasmatique est mesurée après 1 h 30 à 3 h post-exposition alimentaire (Tossavainen *et al.*, 1980 ; Nielsen *et al.*, 1999). Chez des travailleurs exposés à de l'eau de boisson contaminée par du sulfate et du chlorure de nickel où la demi-vie plasmatique du nickel a été de 60 h (Sunderman *et al.*, 1988).

5. Evaluation toxicologique

Les effets sur la santé de l'exposition au nickel dépendent du type, de la concentration et de la durée de l'exposition. Il faut également tenir compte de certains facteurs comme l'âge, le sexe, l'alimentation, les antécédents familiaux, le style de vie et la santé de la personne. En général, les concentrations typiques de nickel n'ont pas d'effets nocifs sur la santé.

5.1. Toxicité aiguë

5.1.1. Etude chez l'homme

La toxicité aiguë se décompose en deux phases : immédiate et retardée. La symptomatologie immédiate se manifeste par des maux de tête, des vertiges, des nausées, des vomissements, de l'insomnie et de l'irritabilité. Elle est suivie d'une période asymptomatique avant le début de la phase retardée. Celle-ci est essentiellement pulmonaire avec des douleurs constrictives dans la poitrine, une toux sèche, une dyspnée, une cyanose, une tachycardie, des symptômes gastrointestinaux occasionnels, une sudation, des perturbations visuelles et une débilité. La symptomatologie ressemble à une pneumonie virale. Un décès par syndrome de détresse respiratoire a été observé chez une personne qui pulvérisait du nickel lors d'un procédé de soudure sans porter d'équipement de protection (Rendall *et al.*, 1994). La mort est survenue 13 jours après l'exposition de 90 minutes à une concentration estimée de nickel métallique de 382 mg /m³ (taille des particules inférieure à 1,4 µm).

Un cas de décès d'un enfant de 2 ans et demi a été rapporté après une absorption de cristaux de sulfate de nickel estimée à 250 mg/kg (Dalrup *et al.*, 1983).

Une intoxication par le nickel a été décrite chez 23 insuffisants rénaux dialysés, suite à une contamination du liquide de dialyse par 250 µg de nickel/L, comportant des nausées, une asthénie, des vomissements, des céphalées, et des palpitations, avec une réversibilité totale des troubles après 3 à 13 heures (Webster *et al.*, 1980).

Chez 35 salariés ayant consommé accidentellement l'eau d'une fontaine contaminée par du sulfate de nickel, du chlorure de nickel (1,63 g/L) et de l'acide

borique (ingestion estimée entre 0,5 g et 2,5 g, soit 7,1 à 35,7 mg/kg), 20 individus ont présenté des symptômes pendant quelques heures jusqu'à deux jours (nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhées, céphalées, vertiges) et 10 ont été hospitalisés (3 présentant une augmentation transitoire de la bilirubine sérique, de l'albumine urinaire et de l'hématocrite). En dépit de la contamination concomitante par l'acide borique (68 mg/L), les auteurs considèrent que le nickel est la cause principale des troubles observés (Sunderman *et al.*, 1988).

Un certain nombre d'études ont également démontré des effets dermiques chez les populations sensibilisés suite à l'ingestion de nickel. Certaines études indiquent notamment que l'ingestion de nickel peut aggraver un eczéma sans pour autant pouvoir formellement définir un seuil de déclenchement (Haber *et al.*, 2000).

5.1.2. Etude chez l'animal

Les données dont on dispose indiquent que les sels solubles de nickel (le dichlorure de nickel, le sulfate de nickel, le dinitrate de nickel et le bis (sulfate) de diammonium et de nickel) ont une toxicité aiguë qui varie de modérée à très élevée chez le rat avec des doses létales 50 (DL50) de 42,5 à 112 mg par kilogramme de masse corporelle, alors que la poudre de nickel et les sels de nickel insolubles (monoxyde de nickel vert ou noir, disulfure de trinickel et sulfure de nickel amorphe) présentent une toxicité aiguë moins élevée (DL50 de 3 235 à 9 000 mg/kg) (Camner et Johansson, 1992; Camner *et al.*, 1978).

Chez l'animal, les composés solubles du nickel apparaissent plus toxiques que les composés peu solubles après exposition orale aiguë. Les principaux signes observés incluent :

- ❖ Des troubles rénaux (rat, souris et chien) ;
- ❖ Des effets cardiovasculaires, gastro-intestinaux, hématologiques et hépatiques (rat) ;
- ❖ Une atteinte pulmonaire (chien et rat) ;
- ❖ Des troubles neurologiques, à type de léthargie, ataxie, prostration (rat) (ATSDR, 2005).

Les différentes valeurs de CL₅₀ et DL₅₀ des composés du nickel sont résumées dans le tableau ci- dessous.

Tableau 4 : Représente les valeurs de CL50 et DL50 des composés de nickel.

	COMPOSES	CL₅₀ (mg/L) ou DL₅₀ (mg/Kg)	ESPECES	REFERENCES
Inhalation	tétracarboxylnickel	0,100	Rats, 20minutes	OMS IPCS, 1991
		0,240	Rats, 30minutes	OMS IPCS, 1991
		0,067	Souris, 30minutes	OMS IPCS, 1991
Voie orale	Sulfate de nickel	39	Rats Sprague- Dawley (F)	Mastromatteo, 1986

	Acétate de nickel	116	Rats Fischer 344(F)	Haro <i>et al.</i> , 1968
		136	Souris Swisse- webster (M)	Haro <i>et al.</i> , 1968
	Monoxyde de nickel	>3930	Rats Sprague- dawley	Mastermatteo, 1986
	Sous sulfure de nickel	>3665	Rats Sprague_Dawley	Mastermatteo, 1968

5.2. Toxicité chronique

5.2.1. Etude chez l'homme

Les études chez l'homme indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel par inhalation. Une augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire a été trouvée chez des travailleurs exposés chroniquement à des concentrations supérieures à 0,04 mg de nickel /m³ sous forme de monoxyde ou de métal (Cornell et Landis, 1984).

Les effets respiratoires étaient de type bronchite chronique, emphysème, diminution de la capacité vitale. Cependant, la toxicité observée ne peut être uniquement au nickel puisque les travailleurs étaient exposés à d'autres métaux comme : l'arsenic, l'uranium, le fer, le plomb et le chrome. D'autres études ne mettent pas en évidence d'augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire (Cox *et al.*, 1981 ; Enterline et Marsh, 1982; Shannon *et al.*, 1984). Chez 28 travailleurs exposés au nickel (composé non précisé), une augmentation significative

des IgG, des IgA et des IgM et une diminution significative des IgE a été observée (Shannon *et al.*, 1991). Par ailleurs, une augmentation significative d'autres protéines sérique pouvant être impliquées dans l'immunité à médiation cellulaire (alpha1-antitrypsine, alpha2-macroglobuline) a été observée. Ces modifications suggèrent que le système immunitaire a été stimulé par l'exposition au nickel.

5.2.2. Etude chez l'animal

Des rats et des souris ont été exposés par inhalation à du sous sulfure de nickel par inhalation 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 90 jours à des concentrations de 0,1 à 1,8 mg de nickel/m³ (Bencko *et al.*, 1983 ; Dunnick *et al.*, 1989). Une hyperplasie des macrophages alvéolaire a été notée chez les rats à toutes les concentrations et chez les souris à partir de 0,2 mg/m³. Pour les plus fortes concentrations, une inflammation chronique active et une fibrose interstitielle focale chez certaines souris a été observée.

L'exposition chronique (6 heures/jour, 5 jours/semaine pendant 78 semaines) à des poussières de sous sulfure de nickel (0,97 mg/m³ de nickel, soit une concentration d'environ 0,7 mg/m³) a entraîné une augmentation des lésions pulmonaires chez des rats Fisher 344 (Benson *et al.*, 1990). Les lésions étaient de type pneumonie, atélectasie, bronchite, bronchectasie, emphysème. De plus, une diminution du poids corporel de 20 à 30% a été observée.

L'exposition chronique pendant deux ans de rats et de souris à du monoxyde de nickel (0-0,5-1-2 mg/m³ pour les rats, 0-1-2-3,9 mg/m³ pour les souris), du sous sulfure de nickel (0-0,11-0,73 mg/m³ pour les rats, 0-0,44-0,88 mg/m³ pour les souris), et du sulfate de nickel (0-0,03-0,06-0,11 mg/m³ pour les rats, 0-0,06-0,11-0,22 mg/m³ pour les souris) a entraîné des lésions respiratoires (Ottolenghi *et al.*, 1974). Les lésions incluaient une augmentation du poids des poumons, une inflammation et/ou une fibrose des poumons.

Une atrophie de l'épithélium olfactif a été observée avec le sulfate de nickel.

Une hyperplasie de la médullosurrénale a été observée chez des femelles exposées à $2\text{mg}/\text{m}^3$ de monoxyde de nickel et à $0,73\text{ mg}/\text{m}^3$ de sous sulfure de nickel.

Une diminution du poids corporel a été observée chez les souris femelles exposées à $0,22\text{ mg}/\text{m}^3$ de sulfate (12% par rapport aux témoins) et à $0,88\text{ mg}/\text{m}^3$ de sous sulfure de nickel (14% par rapport aux témoins).

Une hyperplasie des ganglions lymphatiques bronchiques a été observée avec le monoxyde de nickel ($0,5\text{ mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $1\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris), le sous sulfure de nickel ($0,11\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0,44\text{ mg}/\text{m}^3$ pour les souris) et le sous sulfate ($0,11\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0,22\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris) (Spiegelberg *et al.*, 1984).

5.3. Toxicologie subchronique

Un certain nombre d'études chez l'homme et chez l'animal suggèrent que l'exposition aux sels solubles de nickel entraîne l'apparition d'effets systémiques sur les reins, la mortalité néonatale et des effets sur le système immunitaire. Le rein constitue le principal organe cible tant chez l'animal que chez l'homme (Dieter *et al.*, 1988; Smith *et al.*, 1993).

6. Effets génotoxiques

Comme il est habituel avec les métaux, les résultats des essais de mutagenèse sont très discordants, variant largement selon le composé utilisé et les conditions expérimentales; il n'est pas possible de généraliser les résultats obtenus (Pichard, 2006).

Le nickel métal et le monoxyde de nickel donnent des résultats positifs *in vitro* dans les tests de mutations géniques sur cellules de mammifères, d'aberrations chromosomiques et dans les essais de transformations cellulaires (ATSDR, 2005).

Des résultats similaires pour d'autres composés du nickel, solubles et insolubles, suggèrent un mécanisme d'action similaire pour l'ensemble des composés nickel et l'hypothèse selon laquelle les ions nickel seraient responsables des effets observés. En effet, alors que l'ion nickel des composés solubles peut atteindre le noyau cellulaire par solubilisation et diffusion ou par les systèmes de transport des ions métalliques, les composés peu solubles sont phagocytés et les vacuoles libèrent les ions nickel dans le noyau cellulaire, qui peuvent altérer l'ADN (Figure 9) (Zhong *et al.*, 1990).

Dans une étude plus récente, Kiilunen ne met pas en évidence d'augmentation du nombre de micronoyaux dans les cellules buccales de sujets exposés à des dérivés solubles du nickel (non spécifiés) dans une entreprise de raffinage électrolytique (Kiilunen *et al.*, 1997).

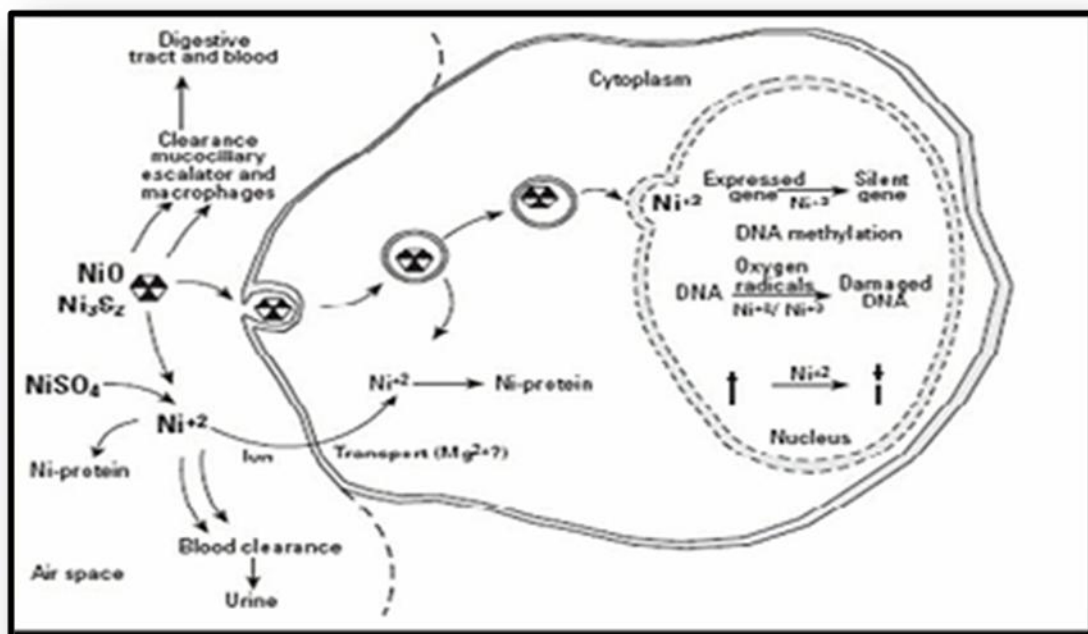


Figure 9: Représente les interactions des composés de nickel avec les cellules épithéliales (de cible) dans la région bronchioalveolar du poumon. (Oller et al. 1997).

7. Effets cancérogènes

Le nickel est cancérogène responsable de certains cancers du poumon en milieu professionnel chez l'homme et l'animal. C'est principalement l'inhalation de composés solubles qui est associée avec le risque le plus élevé de cancer des voies aériennes. En 1990 ; le nickel et les composés du nickel ont été classés par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans le groupe 1 « cancérogène chez l'animal de laboratoire (Denkhaus *et al.*, 2002). Chez des rats Fisher 344 l'exposition chronique à des poussières de nickel a entraîné une augmentation des tumeurs pulmonaires (Dunnick *et al.*, 1995).

Les études expérimentales disponibles pour juger de la cancérogénicité du nickel par voie orale sont peu nombreuses (Haber *et al.*, 2000).

8. Effets sur la reproduction

On a signalé une dégénération des testicules chez des rats exposés à du disulfure de trinickel à des concentrations de nickel de 1,8 mg/m³ et plus et chez des souris exposées au même composé à des concentrations de nickel de 3,6 mg/m³ et plus (Benson *et al.*, 1988).

En revanche, une dégénérescence tubulaire des testicules a été observée chez des rats exposés par voie cutanée avec du sulfate de nickel à la dose de 60 mg de nickel/kg/jour pendant 30 jours (Mathur *et al.*, 1977).

9. Manifestations allergiques

Le nickel est un allergène, responsable de dermatites de contact. Globalement, l'incidence de l'allergie au nickel est de l'ordre de 8 à 14 % dans la population féminine, et de 1% dans la population masculine (Haber *et al.*, 2000).

Des effets immunologiques, notamment un nombre accru de cellules formatrices d'anticorps dans les ganglions lymphatiques associés aux poumons et une activité phagocytaire réduite des macrophages alvéolaires, ont été observés chez des souris exposées pendant 65 jours, par inhalation, à des concentrations de nickel de 0,47 mg/m³ ou plus (sous forme de monoxyde de nickel) (Haley *et al.*, 1990).

De même, il y a eu une diminution du nombre de macrophages alvéolaires et de la réponse humorale chez des rats exposés pendant 4 mois, par inhalation, à une concentration de nickel de 0,025 mg/m³, sous forme de monoxyde de nickel (Spiegelberg *et al.*, 1984). On a observé une hausse de la mortalité due à des infections virales chez des souris après une instillation intratrachéale unique de 1 à 5 mg de monoxyde de nickel avec une dose de nickel de 7 à 35 mg par kilogramme du poids corporel (Port *et al.*, 1975).

III. LE SELENIUM

7. Les propriétés physico-chimiques

Le sélénium est un métalloïde de la même famille que l'oxygène ou le soufre. Il appartient au groupe VI de la classification des éléments périodique de Mendeleïev. Sa masse atomique est de 78,96 et de numéro atomique 34.

Du fait de l'identité de la couche électronique externe, les éléments de la colonne VI ont un grand nombre de propriétés physicochimiques communes. Toutefois, ils se différencient, notamment en ce qui concerne le soufre et le sélénium, par le fait qu'à pH physiologique, les groupements sélénohydriyls sont fortement dissociés (R-Se-) contrairement aux groupements sulfhydryls généralement protonés (R-SH). Cela rend compte de l'intérêt particulier du Se au niveau du site actif des enzymes séléniées comme échangeur d'électron (Jacob et coll., 2003).

Le sélénium présente de nombreux états d'oxydation (2, 0, + 2, + 4, + 6), sous forme de séléniure, sélénium élémentaire, sélénite, sélérate (Läuchli, 1993) et est capable de réagir avec de nombreux éléments pour donner des composés semblables à ceux obtenus avec le soufre (liaison Se-Se).

Ce sélénium est alors un cofacteur de plusieurs protéines, incorporé lors de leur synthèse sous forme d'un acide aminé, la sélélocystéine. (Therond *et al.*, 1997).

8. Différentes formes de sélénium

Le sélénium est présent dans la nature et les organismes animaux et végétaux sous des formes organiques et inorganiques.

Les formes organiques sont : la sélénométhionine et la sélélocystéine ;

Les formes inorganiques sont: sélénite, séléniure, sélénate et l'élément sélénium (figure 10).

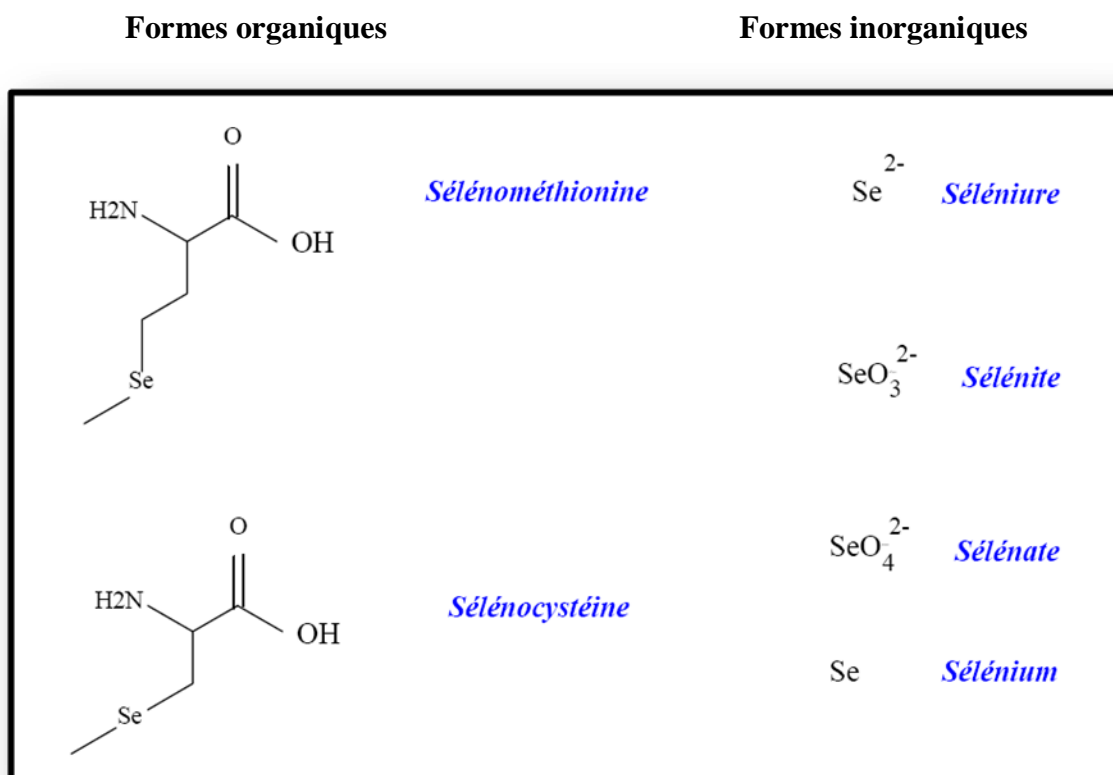


Figure 10 : Représente les formes organiques et inorganiques du sélénium (Graham, 1991).

9. Source et dose recommandée en sélénium

Dans l'écorce terrestre, le sélénium se trouve à un taux moyen de 0,2µg/g. Toutefois, sa répartition dans les sols est extrêmement variable. A partir du sol, l'élément peut-être extrait par les plantes qui le transforment en composés organiques, telle la sélénométhionine. La teneur en Se des aliments varie beaucoup selon le type d'aliment et la concentration en Se des sols utilisés pour la culture, la cuisson ou la transformation n'a que peu d'effet sur la concentration en Se des aliments (Maggee et James 1996; Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008).

Le sélénium se trouve généralement dans la fraction protéique des aliments, ce sont ceux qui sont riches en protéines qui auront les teneurs les plus élevées. C'est le cas de la viande, des poissons et des céréales, par exemple, le thon peut contenir jusqu'à 6,2 mg Se/kg de matière sèche, le saumon et le hareng possèdent jusqu'à une concentration moyenne de 1,9 mg/kg de matière sèche. Les fruits et les légumes verts, de même que le lait et les produits laitiers ne contiennent que des quantités infimes de Se (Pedrero et Madrid, 2009; Rezanka et Sigler, 2008).

Selon le tableau 5 la dose journalière de sélénium recommandée a été fixée par le *Nutrition Board* américain à 70µg pour l'homme et à 55 µg pour la femme en dehors de la grossesse (65 µg) ou de l'allaitement (75 µg) avec un maximum de 500 µg. Le tableau résume ces données en fonction de l'âge et du sexe. (Simonoff et Simonoff, 1991).

Les symptômes d'intoxication chronique apparaissent entre 2 400 et 3 000 µg, et une ingestion de 500 à 1 000 µg par jour est sans danger. La dose létale pour l'homme est estimée entre 0,5 et 1 g par jour sous forme de sélénite ou de sélénate de sodium selon les données obtenues chez l'animal. (Baruthio 1991).

Tableau 5: Représente l'apports quotidiens en sélénium recommandés par le Nutrition Board américain (Therond *et al.*, 1997).

Catégories	Ages	Apports recommandés (µg)
Enfant	0 à 6 mois	10
	6 mois à 1 an	15
	1 an à 6 ans	20
	7 ans à 10 ans	30
	11 ans à 14 ans :	
	Garçons	40
	Filles	45
	15 ans	50
Homme	16 ans à 18 ans	50
	Plus de 19 ans	70
femme	16 ans à 18 ans	50
	Plus de 19 ans	55
	Enceinte	65
	allaitante	75

10. Métabolisme du sélénium dans l'organisme

10.1. Voies de pénétration

La principale voie de pénétration du sélénium dans l'organisme est la voie orale. Les autres voies peuvent être transcutanées, cutanée et pulmonaire.

- Les voies transcutanée et cutanée représentent le mode de pénétration du Se sous forme de sulfure de Se qui est présent dans certains shampoings antipelliculaires et qui est plus facilement absorbé par un épithélium enflammé ou endommagé.
- Quant à la voie pulmonaire, ce sont le Se élémentaire et le séléniure d'hydrogène (H_2Se) qui se forme par décomposition des séléniures en milieu acide ou aqueux, qui sont surtout absorbés (Tinggi, 2003; Favier *et al.*, 1984).

10.2. Absorption

L'efficacité d'absorption intestinale du sélénium est élevée (50 à 95 %). Elle dépend de la forme d'apport du sélénium, du statut adéquat ou non en sélénium et de la présence ou non d'autres aliments. Certaines formes sont préférentiellement incorporées dans les sélénoprotéines (protéines qui nécessitent Se pour l'activité catalytique), d'autres ne sont pas spécifiquement incorporées dans les protéines, tandis que d'autres sont excrétées (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008 ; Pedrero et Madrid, 2009 ; Zeng *et al.*, 2008).

La sélénoéthionine, mieux absorbée que le sélénite, est majoritairement absorbée au niveau du duodénum par un transport actif, alors que le sélénite est absorbé par simple diffusion. Le sélémate est absorbé par un mécanisme de transport

actif. L'ensemble des formes organiques et inorganiques du sélénium peuvent être utilisées par l'organisme mais leur métabolisme est différent (Figure 11). (Ducros et Favier, 2004 ; Underwood et Suttle, 2004 ; Lebreton et al., 1998).

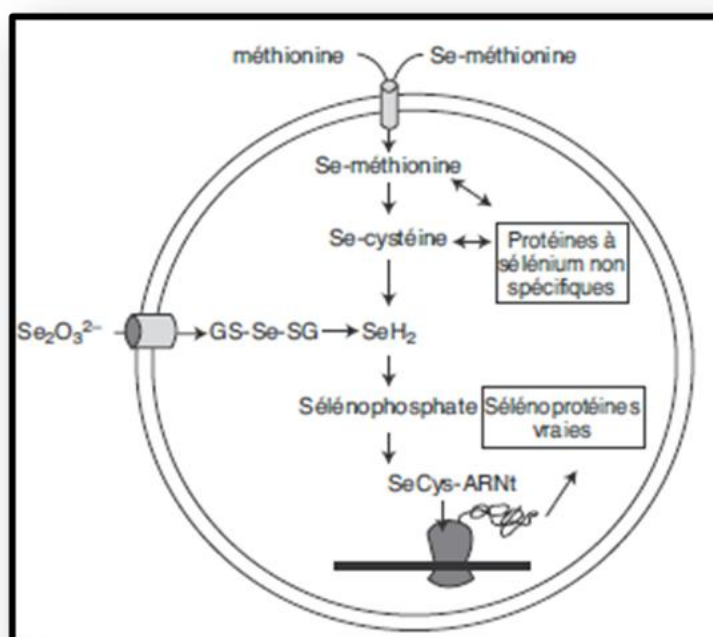


Figure 11: Représente le métabolisme cellulaire du sélénium selon Ducros et Favier, 2004.

10.3. Transport

Les formes solubles du sélénium sont redistribuées dans tout l'organisme à partir du duodénum (Graham, 1991).

Le sélénium est lié à des protéines plasmatiques identifiées comme étant des protéines de transport. Actuellement, on distingue trois entités : la glutathion peroxydase qui représente 12 à 15 % du sélénium plasmatique chez l'homme, la sélénoprotéine- P qui en représente plus de la moitié dont sa concentration varie directement avec la concentration alimentaire en sélénium lorsque celle-ci est supérieure à 0,1 mg/kg d'aliment (Saito *et al.*, 1999 Underwood et Suttle, 2004) et les sélénoprotéines non spécifiques où le sélénium est incorporé de façon non spécifique qui sont essentiellement assimilées à la sélénoalbumine car l'albumine est la protéine plasmatique la plus abondante (Behne et Kyriakopoulos, 2001).

Les formes organiques du sélénium traverseraient mieux les membranes érythrocytaires que les formes ioniques. Le sélénium se lie aux globulines, albumines et autres protéines non spécifiques (Lebreton *et al.*, 1998). Le transfert placentaire du sélénium est corrélé positivement au statut sélénié de la mère. La concentration hépatique est plus élevée chez le fœtus que chez la mère tout au long de la grossesse. Le sélénium serait alors transféré par voie transplacentaire, essentiellement en fin de grossesse (Rowntree *et al.*, 2004).

La concentration en sélénium des différents organes est variable. Deux organes sont riches en sélénium: le foie et le rein. Le rein, principal lieu de synthèse de la glutathion peroxydase plasmatique a la plus haute teneur en sélénium par unité de poids. Le muscle squelettique semble fonctionner comme un organe de stockage du sélénium, il représente 45 % du sélénium corporel total (Avissar *et al.*, 1989; Whitin *et al.*, 2002).

10.4. Métabolisme du sélénium

On sait que plusieurs espèces de Se présents dans les aliments sont généralement bien absorbés dans l'intestin des êtres humains. L'effet physiologique de la consommation du Se dépend de sa forme chimique. Le métabolisme du sélénium n'est pas totalement élucidé mais le foie joue un rôle central (Navarro-Alarcon et Cabrera-Vique, 2008). En général, le corps humain métabolise les formes diverses comme sélénite en séléniure d'hydrogène H_2Se^- . Ce dernier joue un rôle central dans le métabolisme du Se, car il est rapidement conjugué au glutathion sous forme de sélénodiglutathion au niveau de cellulaire (Pedrero et Madrid, 2009).

Entre autre, le Se de SeMet, consommé sous forme de protéines alimentaires et/ou compléments alimentaires, est ainsi transférée afin de former forme biologique du sélénium qui est l'acide aminé séléncystéine (SeCys) qui va être utilisée pour produire des sélénoprotéines (Zeng *et al.*, 2008; Ducros et Favier, 2004).

10.5. Elimination

L'excrétion du sélénium absorbé se fait sous forme de dérivés méthylés, mais l'importance relative des voies d'élimination ou d'excrétion dépend de la nature des composés sélénés ou ingérés, de la quantité absorbée et de la durée de l'exposition.

- **Les poumons** constituent une voie d'élimination mineure sous forme de diméthylsélénure qui n'intervient qu'en cas de forte absorption.
- **L'élimination urinaire** est la voie d'excrétion majoritaire. D'après Lebreton *et al.*, 1998 elle représente 60% de l'excrétion lors d'apport satisfaisant en sélénium. Le taux d'excrétion urinaire est régulé par les apports : il y a conservation du sélénium qui sera dirigé vers des organes prioritaires (cerveau, glandes endocrines...) en cas d'apports faibles (Hatfield et Gladyshev, 2002).
- **L'élimination fécale** est causée par les transformations du sélénium sous forme insoluble, tandis que la quantité de sélénium excrétée est corrélée à la quantité de sélénium ingérée (Underwood et Suttle, 2004).

11. Usages du sélénium

11.1. Utilisation du sélénium dans l'industrie

Les usages de sélénium et de ses composés peuvent être divisés en diverses catégories: applications électriques (25%), fabrication des pigments (10 %), industrie de verre (40%), métallurgie (10%), applications agricole et biologique (5%), autres usages comme vulcanisation de caoutchouc ou oxydation de catalyseur (10%) (Simonoff et Simonoff, 1991).

11.2. Utilisations médicales du sélénium

Le Se sous forme de sélénite, séléniate et Se-méthionine est utilisé pour le diagnostic de certains cancers. Le Se-sélénométhionine est utilisé, pour calculer la demi-vie des plaquettes et du fibrinogène et le turn-over des protéines. Le sélénoguanine et le sélénoguanosine ont une activité antitumorale ainsi que leurs dérivés méthylés. Le sulfure de sélénium est utilisé dans le traitement des pellicules,

de l'acné, de l'eczéma, de la dermatite séborrhéique et d'autres maladies de peau (Dubois et Belleville 1988).

12. Les fonctions du sélénium dans l'organisme

12.1. Le rôle des formes actives du sélénium

Le sélénium n'est pas actif en tant qu'élément simple mais au sein du site actif de certaines enzymes. Il y est toujours incorporé à partir de la sélénocystéine, via un transfert spécifique d'ARN. L'enzyme la plus connue, est la glutathion peroxydase, découverte en 1957 par Gordon C. Mills. Les autres enzymes sont des sélénoprotéines (Tableau 6).

Tableau 6 : Représente un récapitulatif des rôles du sélénium (Underwood et Suttle, 2004).

Nomenclature	Sélénoprotéine	Principales localisations	Fonction
GPX1	GSH peroxydase cytosolique (GPX)	Cytosol, érythrocytes	Stockage, antioxydant
GPX2	GPX plasmatique	Plasma, reins, poumons	Antioxydant extracellulaire
GPX3	GPX phospholipidique	Membranes intracellulaires	Antioxydant intracellulaire
GPX4	GPX gastrointestinal	Muqueuses intestinal	Antioxydant des muqueuses
ID1	Iodothyronine 5'-deiodinase type I		Conversion de T4 en T3
ID2	Iodothyronine 5'-deiodinase type II		
ID3	Iodothyronine 5'-deiodinase type III	Placenta	
TRR	Thioredoxine reductase	Cytosol	Redox/ antioxydant
Sel P	Sélénoprotéine P	Plasma	Transport, antioxydant, stockage, détoxifiant des métaux lourds
Sel W	Sélénoprotéine W Sélénoprotéine des testicules	Muscle Testicules	Antioxydant? Structural?

12.1.1. Glutathion peroxydase

Est une sélénoprotéine ubiquitaire ou le sélénium est le centre actif de cette protéine tétramérique. Chaque sous unité possède un atome de sélénium sous la forme d'un résidu sélélocystéine. C'est une enzyme antioxydante, constitue une des principales lignes de défense contre les agressions produites par les radicaux libres de l'oxygène (Stoytcheva et Berry, 2009; Valko *et al.*, 2006).

12.1.2. Sélénoprotéine désiodinase

La sélénoprotéine désiodinase est une enzyme monomérique qui possède un atome de sélénium par mole de protéine. Il existe une interrelation très étroite entre le métabolisme du sélénium et celui de l'iode. ce qui permet d'expliquer pourquoi le sélénium est essentiel dans l'action des hormones thyroïdiennes (Arthur *et al.*, 1990 ; Vanderpas *et al.*, 1990).

12.1.3. Thioredoxine réductase

L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos.

Sélénoprotéine dimérique récemment découverte, elle est située dans le cytoplasme des cellules humaines. Le système thiorédoxine est classiquement composé de la thiorédoxine réductase (TrxR) et de son substrat, la thiorédoxine (Trx) (Gromer et Coll., 2003; Gromer et Coll., 2004).

La réduction de la thiorédoxine par la thiorédoxine réductase serait un mécanisme important de régulation de la croissance cellulaire normale ou tumorale, mais aussi de la mort cellulaire programmée et, par conséquent ferait de la carence en sélénium un facteur de risque de développement tumoral (Didier *et al.*, 2001).

12.1.4. Sélénoprotéine P

La sélénoprotéine P n'est pas seulement la sélénoprotéine la plus abondante dans le plasma, mais c'est également elle qui constitue plus de 50% des réserves de sélénium plasmatique. Cette nouvelle molécule contient plus de dix résidus sélénium (Mostert, 2000; Burk et Hill, 2005).

Il a été proposé que sa fonction primaire soit le stockage et le transport de sélénium dans l'organisme (Saito et Takahashi, 2002). Par ailleurs, Ses propriétés rédox ainsi que la capacité du sélénium à se lier aux métaux lourds suggèrent également un rôle antioxydant extracellulaire.

La sélénoprotéine-P posséderait également une activité peroxydase spécifique des phospholipides (Saito *et al.*, 2000; Tujebajeva *et al.*, 2000; Rayman, 2009).

12.1.5. Sélénoprotéine W

La sélénoprotéine W a d'abord été isolée à partir du cœur et des muscles et contient 1 gramme d'atome de sélénium par mole. Des fonctions antioxydants ont été suggérées pour cette protéine capable de lier le glutathion (Underwood et Suttle, 2004 ; Ducros et Favier, 2004).

12.2. Rôle immunomodulateur

Le sélénium présent en quantité importante dans les tissus à vocation immunitaire comme le foie, la rate, et les ganglions lymphatiques. Son rôle de modulateur de la réponse inflammatoire et immunitaire passe par son action sur la phagocytose aussi bien que par l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes contrôlant ainsi l'expression des gènes lors de la réponse immunitaire. Les sélénoenzymes pourraient prévenir l'apoptose, en protégeant les membranes (par les GPx phospholipidiques) et les fragmentations de l'ADN par les peroxydes cytosoliques (Kayanoki *et al.*, 1996; Forceville et Van Antwerpen, 2008).

12.3. Sélénium et cancer

Le Se pourrait inhiber la carcinogénèse, par augmentation de la réponse immunitaire primaire, en protégeant les cellules contre les oxydations aberrantes, et en diminuant la formation de métabolites cancérigènes. Il a un rôle comme inhibiteur de la croissance tumorale et comme toxique spécifique vis-à-vis des cellules tumorales (Simonoff et Simonoff, 1991).

12.4. Sélénium et fertilité

Le sélénium est essentiel pour la fertilité masculine; nécessaire à la biosynthèse de la testostérone et à la spermatogénèse et il a été également constaté que des taux plasmatiques de sélénium particulièrement faibles avaient été observés chez des femmes ayant subi plusieurs interruptions naturelles de grossesse. Une première explication moléculaire a été apportée concernant les problèmes d'infertilité masculine, et correspond au rôle structural que peut avoir la GPx4 dans la spermatogénèse (Behne et Kyriakopoulos, 2001; Oldereid *et al.*, 1998).

12.5. Fonctionnement de la thyroïde

Le sélénium intervient dans la régulation de la fonction thyroïdienne, et permet la maturation et la dégradation des hormones thyroïdiennes, car les désiodases essentielles pour la régulation des taux de T3, sont des sélénoprotéines (Bianco *et al.*, 2002).

En cas de déficit alimentaire en sélénium dans la thyroïde, comme dans le cerveau. Une interaction du sélénium avec l'iode est également décrite, la carence séléniée aggravant le déficit iodé et ses conséquences (Kohrle, 2005).

12.6. Le sélénium dans le cerveau humain

Le cerveau représente un organe privilégié pour fournir le sélénium. Il contient de grandes quantités de cet oligo-élément essentiel, qui est conservé de manière efficace même dans des conditions de carence en sélénium. Toutes les parties du cerveau et du système nerveux contiennent sélénium dépendant de la GSH-Px (Christopher Newland *et al.*, 2006; Nazoruglu, 2009).

12.7. Détoxification des xénobiotiques et des métaux lourds

Les rôles essentiels précédemment décrits sont complétés par d'autres fonctions essentielles du sélénium, telles que son rôle de détoxification des métaux lourds (cadmium, mercure, plomb) ou son effet activateur de la métabolisation des xénobiotiques organiques (Roussel et Hininger-Favier, 2009).

12.8. Modulation de l'inflammation

D'autres situations de stress oxydant et d'inflammation ont été associées au statut en sélénium. En plus de ses effets antioxydants. Lors de traumatisme vasculaire ou de stress oxydatif, c'est-à-dire lorsque la quantité d'hydroperoxydes d'acides gras est trop importante, la cellule s'active par une production accrue de produits proagrégants et pro-inflammatoires. Entre autre le sélénium exhibe des propriétés anti-inflammatoires par la régulation de la concentration en peroxydes au site inflammatoire.

Le sélénium intervient dans la synthèse de l'hémoglobine par son effet réducteur puissant sur les enzymes du métabolisme de l'hème oxygénase (Rayman, 2000 ; Vitoux, 1996).

13. Carence, apport supplémentaire et toxicité

Les carences vraies en sélénium se rencontrent lorsque les apports alimentaires quotidiens sont très faibles, en particulier pour des raisons géographiques (sols pauvres en sélénium). Deux maladies ont été associées à une carence endémique sévère en sélénium : la maladie de Keshan et la maladie de Kaschin-Beck.

Une supplémentation à dose supranutritionnelle est souvent préconisée dans les stratégies de prévention des pathologies associées aux déficits séléniés, cancers de la prostate en particulier, mais le risque de toxicité doit également être évalué pour ces doses élevées potentiellement pro-oxydantes. Les intoxications chroniques ou aiguës par le Se du fait de l'alimentation sont rares chez l'homme. La dose létale (DL50) est fixée chez l'homme entre 500 mg et 1 g de sélénium sous forme minérale (sélénite ou sélérate de sodium) (Roussel et Hininger-Favier, 2009).

Des signes évidents de sélénose ont été rapportés par Yang *et al.*, 1983 chez un homme de 62 ans ayant ingéré quotidiennement 1 mg de sélénium sous forme de sélénite de sodium pendant une période de deux ans. Des signes d'intoxication ont été rapportés (perte de cheveux, des irritations bronchiques et dermiques, et fragilité des ongles...), entraînant la mort dans certains cas (Combs, 1994; Ducros et Favier, 2004).

VI. LA VITAMINE E

1. Définition et structure de la vitamine E

Les vitamines sont par définition des micronutriments qui ne sont pas synthétisés par l'organisme humain et doivent être apportés dans l'alimentation. Seules les vitamines K et D ne répondent pas à cette définition puisqu'elles peuvent être synthétisées par l'organisme. Les vitamines sont séparées en deux classes : les hydrosolubles et les liposolubles, dont l'absorption intestinale suit celle des graisses, c'est-à-dire nécessite les acides biliaires et une fonction pancréatique satisfaisante (Salle *et al.*, 2005).

La vitamine E, appelée aussi α -tocophérol est l'antioxydant majeur des milieux lipidiques (huiles, membranes biologiques, lipoprotéines) (Leger, 2000), et qui correspond à une famille de huit molécules est bien connue pour son pouvoir antioxydant et son caractère indispensable à la fertilité. α -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E chez les humains et est un antioxydant biologique puissant qui est considéré comme le principal antioxydant stabilisateur des lipides membranaires (Valko *et al.*, 2006).

Le terme générique vitamine E regroupe deux grands groupes de molécules : les tocophérols et les tocotrienols, comprenant chacun différentes formes moléculaires : des vitamines alpha, beta, gamma et delta (α , β , γ et δ) dépend du nombre et de la position des groupements méthyles sur le cycle aromatique (Jensen et Lauridsen, 2007 ; Aggarwal *et al.*, 2010 ; Brigelius-Flohe, 2009; Azzi, 2007 ; Traber et Atkinson, 2007). Leurs structures chimiques se composent d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri méthyle auquel est rattachée une chaîne latérale à 16 atomes de carbone. (Figure 12). Cette chaîne permet de définir les deux grandes familles :

- ✓ les tocophérols présentent une chaîne latérale saturée.
- ✓ les tocotrienols avec une chaîne latérale présentant trois insaturations.

Parmi les quatre tocophérols, l'alpha-tocophérol est la forme de vitamine E la plus présente dans l'organisme, est l'antioxydant liposoluble majeur qui protège les membranes et les lipides de la peroxydation lipidique en neutralisant les radicaux peroxyde, alkyle et alcoxyde (ROO•). Il est aussi l'unité de mesure pour les apports nutritionnels recommandés et la teneur en vitamine E des aliments (Herrera et Barbas, 2001).

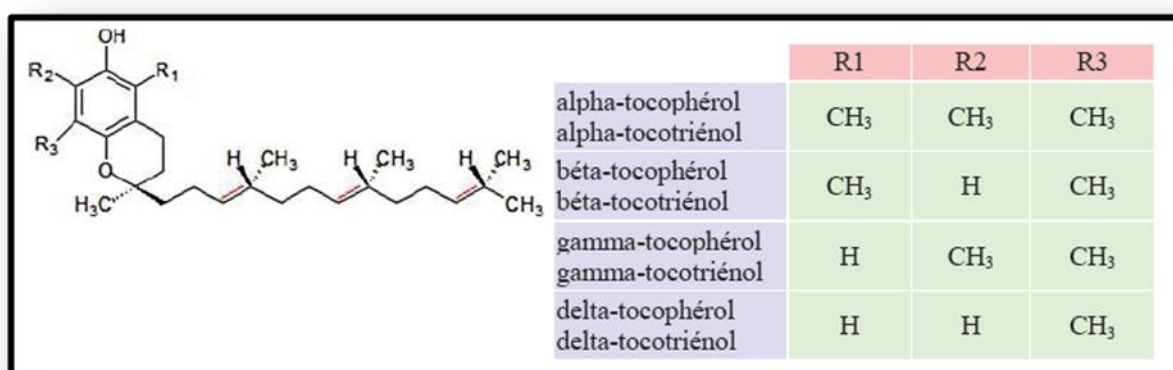


Figure 12 : Représente la structure chimique de la Vitamine E. Les doubles liaisons indiquées en rouge ne sont pas présentes dans les tocophérols (Hoppe et Krennrich, 2000).

2. Les principales sources de vitamine E

Dans notre alimentation, les céréales (germes de blé 22 mg de vitamine E pour 100 g d'aliment) et les huiles végétales (30-100 mg de vitamine E pour 100 g d'aliment) comme l'huile de tournesol ou l'huile d'olive, constituent la source majeure de vitamine E. On la retrouve aussi dans les fruits secs (noisettes et amandes sèches), les légumes verts, le beurre et la margarine (10-80 mg de vitamine E pour 100g d'aliment) ainsi que les poissons gras parmi lesquels on peut citer le thon, le saumon etc. (Jiang *et al.*, 2001 ; Desmettre T *et al.* 2004).

3. Besoins physiologiques et supplémentation en vitamine E

Les apports nutritionnels conseillés (ANC) en vitamine E sont variables en fonction de l'âge et de l'état physiologique (Martin, 2001). Ainsi les besoins en vitamine E des adultes sont estimés à 12 mg par jour tandis que chez les enfants, ils sont compris entre 4 et 11 mg (Tableau 7).

Il existe une relation directe entre suppléments en vitamine E (dans une gamme allant de moins de 50 mg/j à plus de 1 000 mg/j) et l'enrichissement en vitamine E du plasma, l'enrichissement en vitamine E des LDL et l'augmentation de la protection anti-oxydante des LDL (Léger, 2000).

Des études, chez l'homme, ont montré que la supplémentation orale par la vitamine E augmente la résistance des LDL à l'oxydation (Jialal et Grundy, 1993). Divers travaux ont également suggéré que l'apport de vitamine E pouvait élever la concentration du HDL-cholestérol (Hercberg *et al.*, 1996).

De ce fait, en regroupant les données de différentes études d'intervention, nous avons en effet rapporté que l'augmentation de la résistance à l'oxydation des LDL circulantes était directement liée à la dose d'apports supranutritionnels de vitamine E (Carbonneau *et al.*, 1998 ; Tribble *et al.*, 1995).

Les niveaux de supplémentation en vitamine E dépassent de très loin l'apport nutritionnel conseillé dans : l'anémie hémolytique du nouveau-né prématuré (10 à 20 mg/kg/j), les pathologies du prématuré occasionnées par l'oxygénothérapie (100 mg/kg/j dans la fibroplasie rétrolentale (Wilfond *et al.*, 1994), la malabsorption chronique due à des anomalies génétiques (50 UI/j dans la mucoviscidose (Peters et Kelly, 1996), l'ataxie avec déficience isolée en vitamine E (1200 UI deux fois par jour), la maladie d'Alzheimer (2000 UI/j), et chez les patients hémodialysés chroniques (500 UI/j) (Vatassery *et al.*, 1999).

Tableau 7 : Représente les apports Nutritionnels conseillés (d'après Martin, 2001).

Catégorie de la population	Vitamine E (mg par jour)
Nourrissons	4
Enfants de 1 à 3 ans	6
Enfants de 4 à 6 ans	7.5
Enfants de 7 à 9 ans	9
Enfants de 10 à 12 ans	11
Adolescents et adolescentes (13 à 19 ans)	12
Adultes de sexe masculin ou féminin	12
Femmes enceintes	12
Femme allaitantes	12
Personnes âgées	20 à 50

4. Métabolisme, absorption, distribution et excrétion

La première phase du processus de digestion-absorption est la dissolution des vitamines liposolubles, et d'une façon générale des micronutriments liposolubles, dans la phase lipidique du repas. Cette phase est ensuite émulsifiée en gouttelettes lipidiques au niveau stomacal puis duodéal.

Il ne semble par ailleurs exister aucun métabolisme de ces vitamines (dégradation ou absorption) au niveau de l'estomac (Borel, 2003 ; Borel *et al.*, 2001).

Dans la suite du processus de digestion, les vitamines lipophiles se retrouvent incorporées, avec les autres composants lipidiques, dans des micelles mixtes, de cette façon la vitamine E est absorbée de 55-79 %, depuis la lumière intestinale par un processus de diffusion passive à travers l'entérocyte en même temps que les lipides alimentaires (Reboul, 2011). Par ailleurs, il est admis que la vitamine E est incorporée sous forme libre dans les chylomicrons. Ce processus implique la MTP (microsomal triglycerides transfert protein) (Anwar *et al.*, 2007).

La vitamine E restant dans les chylomicrons résiduels, c'est-à-dire celle qui n'a pas été échangée avec d'autres lipoprotéines ou distribuée aux tissus périphériques lors de la lipolyse par les lipases endothéliales, est captée par le foie. L' α -tocophérol est incorporée dans les very low density lipoprotein (VLDL), selon un mécanisme non élucidé, ce qui va permettre sa distribution aux tissus périphériques. Cette incorporation met en jeu l' α -tocopherol tranfert protein (α - TTP), qui possède une stéréospécificité forte pour le RRR- α -tocophérol, ce qui explique la prépondérance de ce vitamère dans le plasma (Traber, 2007).

En plus La protéine du transfert plasmatique des phospholipides (PLTP), qui est connue pour favoriser l'échange de phospholipides et d'autres composés amphiphiles entre les structures lipidiques, facilite l'échange du α -tocophérol entre les High-density lipoproteins (HDL) et les Low-density lipoproteins (LDL) (Desrumaux *et al.*, 1999). Approximativement la moitié du α -tocophérol plasmatique est présente dans les LDL et l'autre moitié est distribuée entre les VLDL et les HDL, voir figure 13 (Cuvelier *et al.*, 2003).

La vitamine E connaît 2 voies d'excrétion : une excrétion urinaire pour les métabolites résultant de l'action antioxydante du α -tocophérol et ceux qui proviennent d'une voie d'excrétion non oxydative. L'excrétion fécale est majeure pour la vitamine E ingérée (Traber et Kayden, 1989).

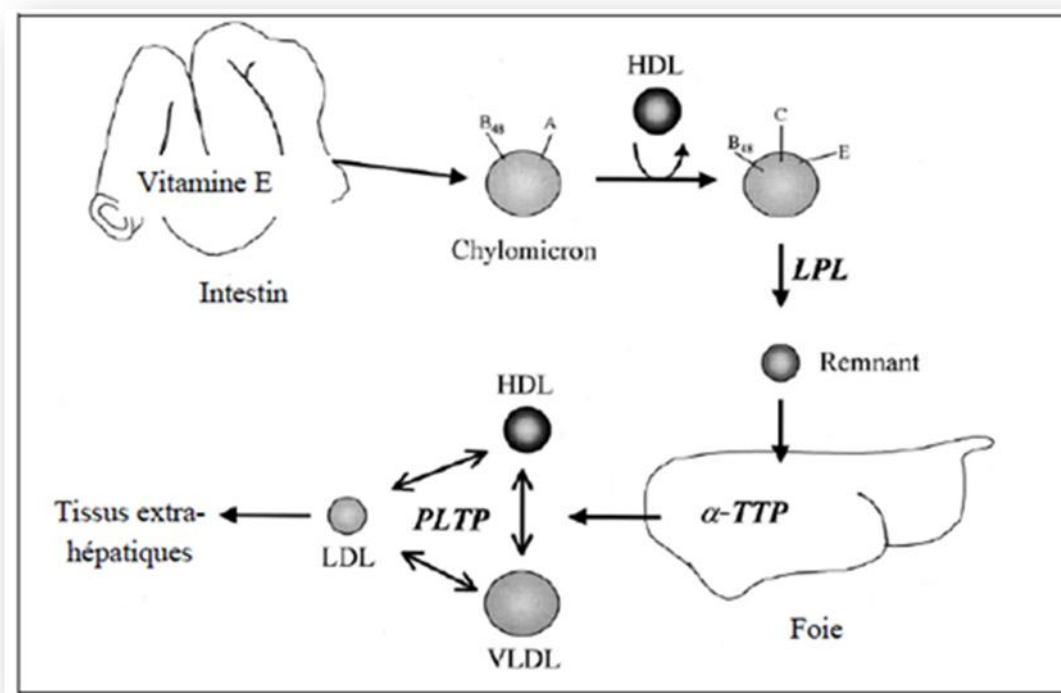


Figure 13 : Représente le mécanisme d'absorption, transport, distribution de la vitamine E d'après Azzi et stocke, 2000.

5. Les interactions entre la vitamine E et certains antioxydants

Aucun facteur vitaminique ne peut être considéré isolément. En effet, l'activité de la plupart des vitamines dépend souvent d'un ou plusieurs autres nutriments (vitamines, minéraux et oligoéléments). Les interactions vitaminiques peuvent s'exercer au niveau de l'absorption intestinale, du métabolisme et des mécanismes d'action des vitamines. Les interactions vitaminiques se traduisent soit par des effets additifs, soit par des effets synergiques, soit par des effets antagonistes. Dans le premier cas, l'interaction des deux vitamines résulte en l'addition de l'effet de chacune des deux vitamines tandis que dans le deuxième cas, l'interaction résulte en un effet supérieur à la somme des effets produits par chaque vitamine. Dans le troisième cas, la somme des effets est inférieure à l'effet propre de chaque vitamine (Guilland, 2011).

5.1. Interactions entre les vitamines E et C

Le stress oxydatif induit des dommages irréversibles dans les molécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN. Il a été impliqué dans la genèse de nombreuses maladies (cancers, athérosclérose, diabète sucré, maladie d'Alzheimer...) (Tribble *et al.*, 1995).

La régénération du radical tocophéroxyde par la vitamine C est bien démontrée *in vitro*. Le mécanisme de cette synergie est basé sur la réduction des radicaux tocophéroxydes (α -TO•) par l'acide L-ascorbique pour régénérer le α tocophérol, la vitamine E serait régénérée à l'interface cytosol (phase aqueuse)/membrane cellulaire (bicouche de phospholipides) et l'interaction ascorbate/radical tocophéroxyde serait facilitée par le positionnement du noyau chromanoxyde à proximité de la surface de la membrane. Dans ce modèle, la queue phytyle du tocophérol est bien ancrée dans la double couche lipidique et le noyau chromanol « flotte » au contact de l'interface phase aqueuse/phase lipidique afin de rendre accessible à l'ascorbate la fonction hydroxyle en position 6 du noyau chromanol qui est oxydé. ce mécanisme a été mis en évidence par Niki *et al.*, 1982. Cette réaction fait partie du système de protection antiradicalaire des membranes biologiques (Jacques *et al.*, 1995).

En fait, la régénération de la vitamine E ne dépend pas que de l'ascorbate : le radical tocophéroxyde pourrait aussi arracher un électron à l'ubiquinol (coenzyme Q10) membranaire.

De même, l'acide lipoiq, le glutathion et le β -carotène semblent interagir entre eux et avec la vitamine E afin de maintenir la constance de l'état redox cellulaire. Un schéma hypothétique a donc été proposé (Figure 14) (Bertinato *et al.*, 2007).

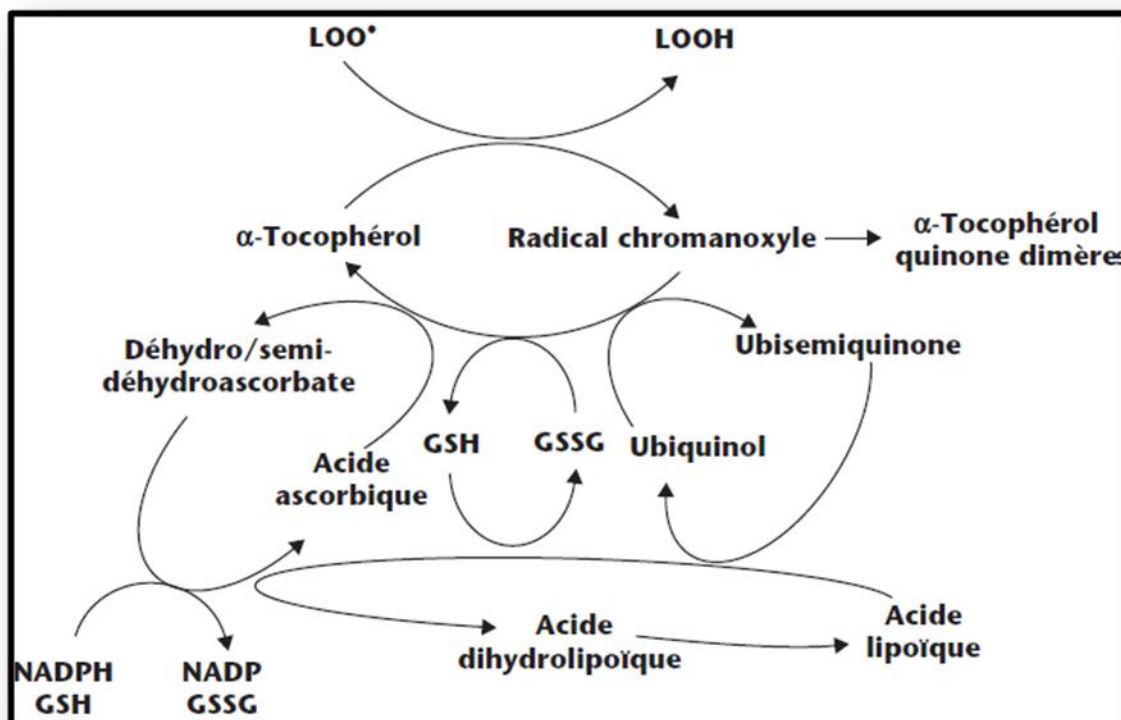


Figure 14 : Représente la régénération de la vitamine E à partir de sa forme radicalaire et synergies probables entre différents couples oxydoréducteurs (Guilland, 2011).

5.2. Interactions entre les vitamines E et A

Les mécanismes par lesquels la vitamine E épargne la vitamine A incluent : une protection de la vitamine A de l'oxydation dans la lumière intestinale; une augmentation de l'absorption intestinale de la vitamine A et une augmentation du stockage de cette vitamine. Il existe également une relation entre le niveau des réserves de vitamine A et la teneur du régime en vitamine E a été établie par plusieurs auteurs. (Moore, 1940; Sklan et Donoghue, 1982; Abawi et Sullivan, 1989).

Les résultats des études qui ont investigué les effets de l'administration de vitamine A (25 000 UI/j) associée au β -carotène (30 mg/j) pendant six ans induit une augmentation faible mais significative de la concentration sérique de l' α -tocophérol (Goodman *et al.*, 1994).

Des travaux anciens montrent qu'un apport normal de vitamine E stimule la conversion du β -carotène en vitamine A, des doses élevées de vitamine E réduisent significativement la quantité de vitamine A formée et stockée dans le foie (Johnson et Baumann, 1948). Cet effet est observé même lorsque le β -carotène est administré par voie intraveineuse avec l' α -tocophérol (Mc Gilivray et Worker, 1958). Les doses élevées de vitamine C semblent aussi moduler l'utilisation du β -carotène (Mayfield et Roehm, 1956).

5.3. Interactions entre les vitamines E et K

Bien que l'existence d'interactions entre les vitamines E et K soit connue depuis plus de 50 ans, les mécanismes impliqués ne sont pas encore précisés.

La vitamine E pourrait avoir un effet anticoagulant en modulant le métabolisme de la vitamine K. l'étude de Glynn *et al.*, 2007 a montré que la consommation de suppléments de vitamine E diminue le risque de thrombose veineuse de 21 %.

La vitamine K intervient à la phase post-transcriptionnelle de la synthèse de plusieurs protéines de la coagulation, dont le facteur IX, par une réaction de carboxylation qui transforme des précurseurs inactifs en protéines fonctionnelles.

La vitamine E bloque cette réaction de carboxylation de la prothrombine, il donc probable que la vitamine E a un effet antithrombotiques grâce à son pouvoir d'inhiber l'agrégation plaquettaire. ainsi que le montrent Tovar *et al.*, 2006)

5.4. Interactions entre les vitamines E et le sélénium

La vitamine E est une vitamine liposoluble, et se concentre dans les parties riches en matières grasses du corps. Au niveau cellulaire cela signifie que la vitamine E se trouve dans la membrane cellulaire, où elle fonctionne comme un antioxydant protégeant la cellule contre l'oxydation toxique. La vitamine E agit comme antioxydant en coopération étroite avec le Sélénium, oligo-élément, qui se trouve, lui, à l'intérieur de la cellule (Pharazyn *et al.*, 1990).

La biodisponibilité de la vitamine E et le sélénium est influencé par la quantité et la nature des protéines présentes dans la ration alimentaire (Barbezat et coll, 1984 ; Greger et Marcus, 1981) et la présence de la vitamine E modifient le degré de toxicité du sélénium dans certains cas de toxicité au sélénium (Levander et Morris, 1970 ; Wittinget Horwitt, 1964).

Des données récentes confirment le rôle majeur que joue le sélénium dans de nombreuses situations physiopathologiques. Une carence modérée en sélénium, surtout lorsqu'elle est associée à un statut en vitamine E bas, semble accroître la sensibilité à diverses maladies dans lesquelles le stress oxydant est impliqué.

Le sélénium entre dans la composition de la glutathion-péroxydase, une enzyme isolé dans les hématies humaines (Auasthi *et al.*, 1975). Il semble y avoir interaction entre cet enzyme et la vitamine E pour prévenir toute destruction oxydative de la membrane cellulaire (Gibson et Scythes, 1984; Thompson et Robinson, 1980).

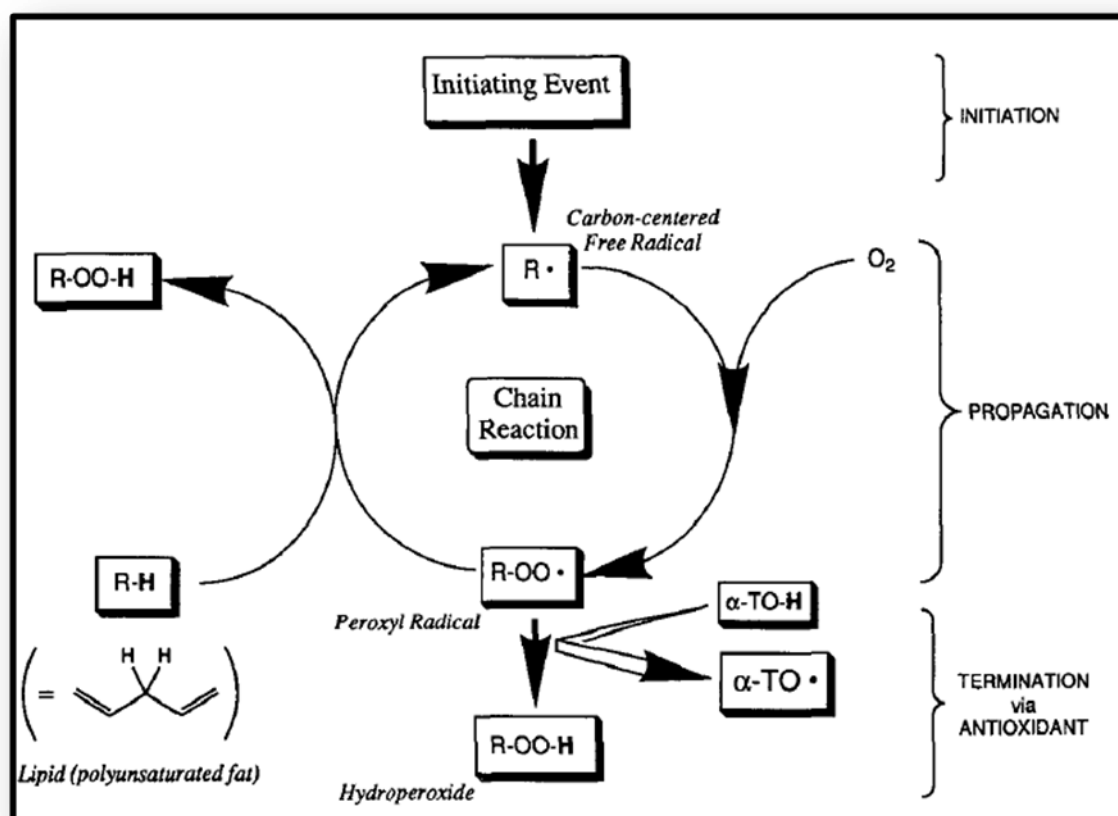
6. Rôles biologiques de la vitamine E

La vitamine E est l'anti-oxydant liposoluble majeur des lipides. Elle protège *in vivo* les structures moléculaires particulièrement sensibles à l'oxydation (doubles liaisons des acides gras polyinsaturés) et les structures condensées riches en lipides (membranes, lipoprotéines) (Léger, 1992). Elle protège également de l'oxydation les bases nucléotidiques des brins d'ADN et des protéines (Duthie *et al.*, 1996).

Les lipides membranaires sont particulièrement sensibles aux radicaux oxygénés (effet polaire). Leur réaction avec l'oxygène (autoxydation) génère des radicaux peroxyalkyles instables qui évoluent pour fournir des aldéhydes ou des cétones susceptibles d'altérer les molécules d'ADN et les protéines. De nombreux phénomènes inflammatoires ont pour origine des réactions en chaîne induites par des radicaux libres oxygénés.

Les constituants de la vitamine E sont aptes à céder de façon efficace leur atome d'hydrogène phénolique aux radicaux hydroxyles (OH•) ou peroxydes (ROO•). Ce

transfert d'atome ne réduit bien sûr pas la concentration en radicaux libres puisqu'il se forme un radical aryloxy (tocophéryloxy). La durée de vie du radical tocophéryle est de l'ordre de la seconde. (Figure 15). Il peut donc se coupler avec un autre radical (par exemple alkylperoxy) et conduire ainsi à la formation de peroxydes qui peuvent être éliminés : il y a rupture de la chaîne d'autoxydation (disparition de radicaux) ; une particularité des radicaux tocophéryles par rapport à des radicaux oxygénés plus simples est leur relative inertie chimique vis-à-vis d'une liaison C-H ce qui bloque la



chaîne d'autoxydation afin de stabiliser les membranes cellulaires (Burkitt, 2001).

Figure 15: Représente l'effet de la vitamine E au niveau des trois phases de la peroxydation lipidique (Burton, 1990).

Ce rôle essentiel lui confère le pouvoir de stabilisateur de membrane et donc de protection des membranes cellulaires (myocarde, système nerveux), des globules

rouges, de l'endothélium vasculaire, de la peau et des acides gras essentiels. Elle protège également la membrane des spermatozoïdes (Van Acker *et al.*, 1993).

Des études animales ont montré des effets bénéfiques de suppléments de vitamine E, tels que modulation de la réponse immunitaire, diminution de la peroxydation des lipides, réduction de la mortalité chez la souris brûlée infectée (Kuroiwa *et al.*, 1991), Peck et Alexander, 1991; Lennon *et al.*, 1993), diminution de l'accumulation intra-pulmonaire de leucocytes et augmentation de la synthèse hépatique de protéines en réponse à l'injection d'endotoxine (Grimble, 1993).

I. MATÉRIELS ET MÉTHODES

5. Matériel biologique et conditions d'élevage

Nous avons utilisé 70 rats blancs mâles *Rattus rattus* de la souche *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger. Agés de 8-9 semaines, d'un poids vif moyen de 270 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche.

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de l'animalerie; à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré, dont la composition est détaillée dans le tableau 8.

Tableau 8 : Représente la composition de l'alimentation pour 1 kilogramme d'aliment (Upreti *et al*, 1989).

Matières alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	420	42
Soja	260	26
Saccharose	210	21
Huile	20	2
Son	60	6
Vitamine	30	3

6. Traitement des rats

Les rats mâles ont été repartis en 7 groupes de 10 rats, il s'agit de :

Groupe 1 : rats témoins ont reçu une eau physiologique par injection intra-péritonéale.

Groupe 2 : rats traités par la vitamine E sous forme de α -tocophérol à raison de 15 mg/kg de poids corporels (Pari et Prasath, 2008).

Groupe 3 : rats traités par le sélénium sous forme de sélénite de sodium à raison de 10 μ g/100 g de poids corporels (Pari et Prasath, 2008).

Groupe 4 : rats traités par le nickel sous forme de sulfate de nickel à raison de 20 mg/kg de poids corporel chaque jour (Sakly *et al*, 2003).

Groupe 5 : rats traités par le sulfate de nickel avec la même dose que celle du groupe 4 avec supplémentation quotidienne en α -tocophérol à raison de 15 mg/kg de poids corporel.

Groupe 6 : rats traités par le sulfate de nickel avec la même dose que celle du groupe 4 avec supplémentation quotidienne en sélénite de sodium à raison de 10 μ g/100 g de poids.

Groupe 7 : rats traités par le sulfate de nickel avec la même dose que celle du groupe 4 avec supplémentation quotidienne en α -tocophérol et en sélénite de sodium avec les mêmes doses précédemment déterminés.

Ce traitement s'est poursuivi pendant 21 jours par voie intra-péritonéale pour les sept groupes.

7. Sacrifices et prélèvements des organes

7.1. Prélèvement sanguin

Après 21 jours de traitement les 7 groupes sont sacrifiés (par décapitation), le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes polyéthylènes étiquetés. L'un contient l'anticoagulant EDTA et l'autre étant sec, ce dernier est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 minutes, les échantillons obtenus ont été stockés au congélateur à -20°C jusqu'à l'analyse. Alors que les tubes à EDTA ont été utilisés pour déterminer la formule de numération sanguine (FNS).

7.2. Prélèvement des organes

Les animaux sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement de certains organes :

- ✓ Les reins, les testicules et le cerveau ont été stockés au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant.
- ✓ Le foie a été stocké selon deux méthodes : la moitié au congélateur pour le dosage des paramètres du stress oxydant, et l'autre moitié fixée dans le Bouin alcoolique afin de réaliser des coupes histologiques.

La Figure16 schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

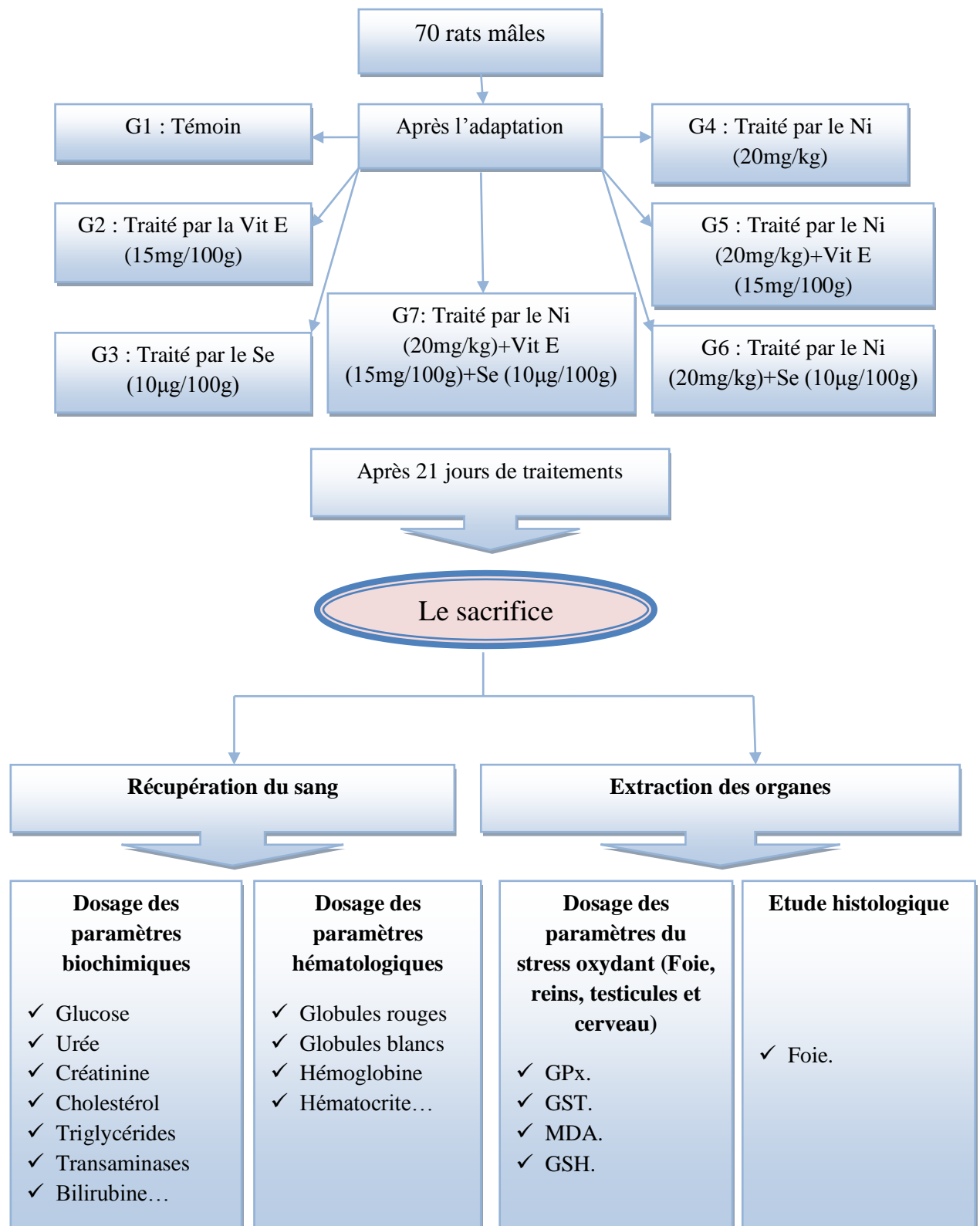


Figure 16 : Représente le schéma récapitulatif du protocole expérimental.

8. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

8.1. Protéines totales

Le dosage de protéine a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique (Spinreact).

8.1.1. Principe

Les liaisons peptidiques réagissent avec les sulfates de cuivre en milieu alcalin formant une coloration violette (bleu-violet) dont l'intensité mesurée à 550 est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans le milieu (Burtis *et al*, 1999).

8.1.2. Réactifs

Réactif du Biuret	Tartrate de potassium sodium	15 mmol/l.
	Iodure de sodium	100 mmol/l.
	Iodure de potassium	5 mmol/l.
	Sulfate de cuivre	19 mmol/l.
Calibrant	Sérum albumine bovin (standard)	70 g/l.

8.1.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	25	-
Echantillon (µl)	-	-	25

Mélanger, incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à une température ambiante.
Lire les densités optiques des échantillons et de l'étalon contre le blanc à 550 nm.

8.1.4. Calcul de la concentration

La concentration des protéines totales est calculée par la formule suivante :

$$\text{Protéine totale (g/l)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times \text{concentration de l'étalon (70 g/l)}$$

8.2. Dosage d'albumine

La détermination de la concentration de l'albumine a été réalisée par la méthode colorimétrique.

8.2.1. Principe

L'albumine réagit avec le vert de bromocrésol (BCG), pour former un complexe coloré. Le pH du milieu est maintenu à 4.2 par le tampon. Après l'incubation, l'absorbance du mélange est mesurée à 628 nm (Doimas, 1971).

8.2.2. Réactifs

Réactif 1 :	Vert de bromocrésol	0.14 g/L.
	Tampon succinate pH 4,2	75 mmol/L.
	Brige 35	7 ml/L.
Calibrant	Sérum albumine bovin (standard)	50 g/L.

8.2.3. Mode opératoire

Blanc	Etalon	Echantillon
-------	--------	-------------

Réactif (ml)	5	5	5
Etalon (µl)	-	20	-
Echantillon (µl)	-	-	20

Mélanger, incuber pendant 5 min à 37°C. Lire les densités optiques contre le blanc à 628 nm.

8.2.4. Calcul de la concentration

La concentration d'albumine est calculée par la formule suivante :

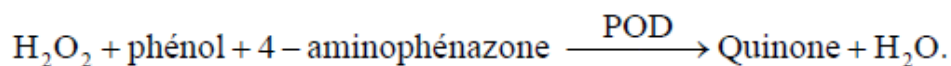
$$\text{Albumine (g/l)} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}}}{\text{DO}_{\text{étalon}}} \times \text{concentration de l'étalon (50 g/l)}$$

8.3. Dosage du glucose

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique à la glucose oxydase selon la fiche technique (Spinreact).

8.3.1. Principe

Le glucose est transformé par la glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (Kaplan, 1984 ; Trinder, 1996), selon les réactions suivantes :



8.3.2. Réactifs

Réactif 1 :	Tris pH 7.4	92 mmol/l.
Tampon	Phénol	0.3 mmol/l.
Réactif 2 :	Glucose oxydase (SOD)	15000 U/l.

Enzyme	Peroxydase (POD)	1000 U/l.
	4-Aminophenazone (4-AP)	2.6 mmol/l.
Glucose calibrant	Glucose aqueous (standard)	100 mg/dl.

Réactif de travail: dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement.

8.3.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Mélanger, incuber pendant 10 min à 37°C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

8.3.4. Calcul de la concentration

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{étalon}}} \times \text{concentration de l'étalon (100 mg/dl)}.$$

8.4. Dosage de la créatinine

La détermination de la créatinine a été réalisée par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

8.4.1. Principe

L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec acide picrique : c'est la réaction de JAFFE. La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour donner un

complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murray, 1984).

8.4.2. Réactifs

Réactif 1 :	Acide picrique	17.5 mmol/l.
Réactif 2 :	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/l.
Créatinine calibrant	Créatinine aqueux (standard)	2 mg/dl.

Réactif de travail: mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2.

8.4.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-	-	100

Mélanger, déclencher le chronomètre. Lire à 492 nm la densité optique (DO1) après 30 secondes et la densité optique (DO2) après 90 secondes.

8.4.4. Calcul de la concentration

La concentration de la créatinine est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Créatinine (mg/dl)} = \frac{\Delta DO_{\text{échantillon}} - \Delta DO_{\text{blanc}}}{\Delta DO_{\text{étalon}} - \Delta DO_{\text{blanc}}} \times \text{concentration de l'étalon (2 mg/dl)}$$

$$\Delta DO = (DO1 - DO2)$$

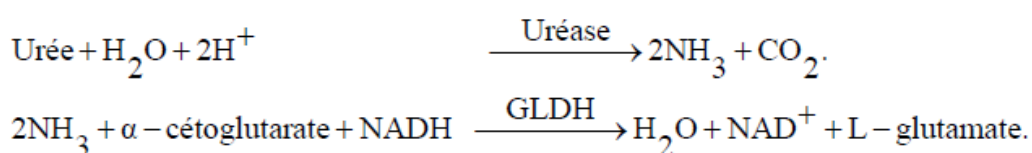
8.5. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (Kit Spinréact).

8.5.1. Principe

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH₃) et le dioxyde de carbone (CO₂).

L'ion ammonium réagit avec l'alpha-cétoglutarate en présence de la glutamate déshydrogénase et du système NADH/NAD⁺ servant l'indicateur, où la diminution de l'absorbance à 340 nm due à la transformation du NADH en NAD⁺, cette diminution est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984), selon les réactions ci-dessous :



8.5.2. Réactifs

Réactif 1 :	Tris pH 7.8	80 mmol/l.
Tampon	α-cétoglutarate	6 mmol/l.
Réactif 2 :	Uréase	3750 U/l.
Enzymes	Glutamate déshydrogénase (GLDH)	6000U/L.
	NADH	0.32 mmol/l.
Urée calibrant	Urée aqueux (standard)	50 mg/dl.

Réactif de travail: dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 et mélanger légèrement.

8.5.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0

Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Mélanger, Lire les densités optiques de l'échantillon et de l'étalon après 30 secondes (DO1) et après 90 secondes (DO2) à 340 nm.

8.5.4. Calcul de la concentration

La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{\Delta \text{DO}_{\text{échantillon}}}{\Delta \text{DO}_{\text{étalon}}} \times \text{concentration de l'étalon (50 mg/dl)}$$

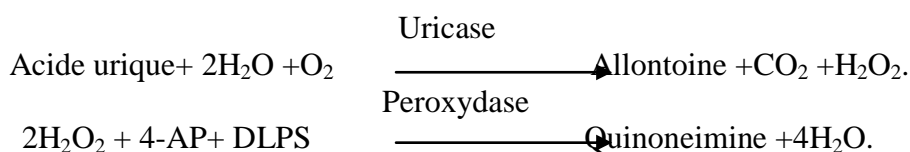
$$\Delta \text{DO} = (\text{DO 2} - \text{DO 1})$$

8.6. Dosage de l'acide urique

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé des coffrets (Spinreact).

8.6.1. Principe

L'oxydation de l'acide urique en allantoïne et peroxyde d'hydrogène par l'uricase. Sous l'action de la POD-4 aminophénazone (4-AP) et le 2-4 dichlorophénol sulfaté (DLPS) ; le peroxyde forme un composant rouge de Quinoneimine.



8.6.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
R1	Phosphate pH7.4	50 mmol/L
Tampon	2-4 Dichlorophenol sulphonate (DCPS)	4 mmol/L

R2	Uricase	60 U/L
Enzyme	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbate oxidase	200 U/L
	4- Amino antipyrine (4-AP)	1 mmol/L
R3	Etalon de l'acide urique aqueux primaire	6 mg/dl
Etalon		

Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1. Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète.

8.6.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1	1	1
Etalon (µl)	-	25	-
Echantillon (µl)	-	-	25

Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10min à 15-25 minutes.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon. Après incubation du mélange à 37°C⁰, et à une longueur d'onde $\lambda=520$ nm. Les densités optiques de l'échantillon et du standard sont déterminées contre celle du blanc. La persistance de la couleur a duré 30 minutes.

8.6.4. Calcul de la concentration

Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 520nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

La formule donnant la concentration de l'acide urique est la suivante :

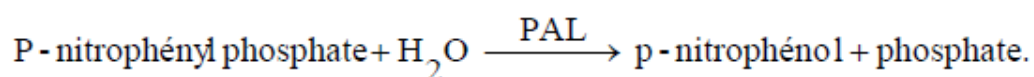
$$\text{Acide urique} = \frac{\text{DO Echontillon}}{\text{DO Standard}} \times 6 \text{ (concentration du standard).}$$

8.7. Dosage de la phosphatase alcaline

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé des coffrets (Spinreact).

8.7.1. Principe

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate (Wenger *et al*, 1984 ; Rosalki *et al*, 1993), selon la réaction suivante :



La formation de p-nitrophénol est mesurée photométriquement, où elle est proportionnelle à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon.

8.7.2. Réactifs

Réactif 1 :	Diethanolamine (DEA) pH 10.4	1 mmol/l.
Tampon	Chlorure de magnésium	0.5 mmol/l.
Réactif 2 :	p-nitrophényl phosphate (pNPP)	10 mmol/l.
Substrat		

Réactif de travail : dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans le tampon (réactif 1).

8.7.3. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.2
Echantillon (µl)	20

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 405 l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

8.7.4. Calcul de la concentration

Pour estimer l'activité enzymatique de la PAL, on utilise la formule suivante :

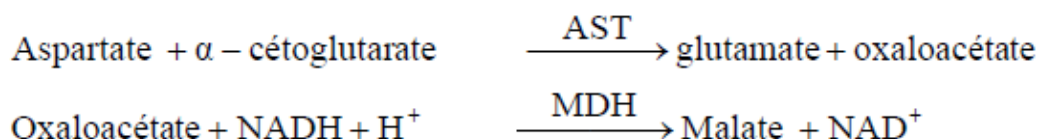
$$\text{PAL (UI/L)} = \Delta \text{ DO/min} \times 3300$$

8.8. Dosage d'Aspartate aminotransférase

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

8.8.1. Principe

L'aspartate aminotransférase (AST) appelée aussi L'oxaloacétate de glutamate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétooglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH,H⁺ (Reitman, 1957; Murray, 1984):



8.8.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
R1	Tris pH 7.8	80 mmol/L
Tampon	L-Aspartate	200 mmol/L
R2	NADH	0.18 mmol/L
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/L
	α -cétooglutarate	12 mmol/L

Réactif de travail (RT) : Dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1. Ce réactif est stable 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

8.8.3. Mode opératoire

L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos.

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (µl)	100

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 340 l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

8.8.4. Calcul de la concentration

La concentration d'aspartate aminotransférase calculée par la formule suivante :

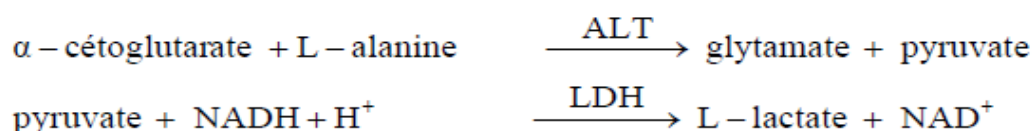
$$\text{ASAT (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

8.9. Dosage d'Alanine aminotransférase

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

8.9.1. Principe

Le principe est présenté selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Reitman, 1957; Murray, 1984).

8.9.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
R1	Tris pH 7.8	100 mmol/L
Tampon	L-Alanine	500 mmol/L
R2	NADH	0.18 mmol/L
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L

	Oxoglutarate	15 mmol/L
--	--------------	-----------

Réactif de travail (RT) : Dissoudre le contenant du R2 dans le flacon de R1. Ce réactif est stable 2 semaines à 2-8°C.

8.9.3. Mode opératoire

Réactif de travail (ml)	1.0
Echantillon (µl)	100

Mélanger, incuber pendant une minute à température ambiante et lire l'absorbance initiale à 340 nm. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes (Δ Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs

8.9.4. Calcul de la concentration

La concentration d'alanine aminotransférase est calculée par la formule suivante :

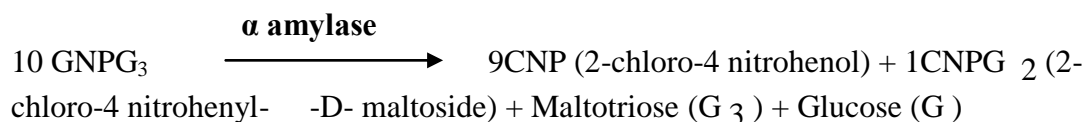
$$ALAT \text{ (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

8.10. Dosage de α amylase

Nous avons utilisé des coffrets (Spinreact) pour réaliser ce dosage.

8.10.1. Principe

Le taux de la formation de 2-chloro-4 nitrohenol est directement proportionnel à la concentration catalytique de α -amylase dans l'échantillon.



8.10.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
----------	-------------	---------------

R	MSE pH 6	100 mmol/l
	CNPG3	2.25 mmol/l
	Sodium clorhidre	350 mmol/l
	Calcium acetate	6 mmol/l
	Potassium thiocyanate	900 mmol/l
	Sodium acide	0.95 gr/l

8.10.3. Mode opératoire

Température	37°C
Réactif : (ml)	1
Echantillon (µl)	20

Mélanger et incuber 30 secondes, à une température 37°C. Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 405 nm par minute pendant 1 à 3 minutes

8.10.4. Calcule de la concentration

Activité (AMS) UI/L = $\Delta DO \times 3954$

8.11. Dosage de la bilirubine totale

La détermination de la bilirubine a été réalisée par la méthode colorimétrique (selon la fiche technique Spinreact).

8.11.1. Principe

La bilirubine réagit avec l'acide sulfanilique diazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée), par contre avec la bilirubine totale (bilirubine non conjuguée) elle est indirecte nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO). (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Malloy *et al*, 1937 ; Kaplan *et al*, 1984).

8.11.2. Réactifs

Réactif 1 :	Acide sulfanilique	30 mmol/l.
Bilirubine totale	Acide chlorhydrique	50 mmol/l.
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mmol/l.
Réactif 2	Nitrite de sodium	29 mmol/l.
Calibrant	Il est sous la référence :	1002250

8.11.3. Mode opératoire

	Blanc	BL totale
Réactif 1 : BL totale (ml)	1.5	1.5
Réactif 2 : (µl)	-	50
Echantillon/calibrant (µl)	100	100

Mélanger et lire la densité optique après 5 minutes d'incubation à une longueur d'onde 555 nm.

8.11.4. Calcul de la concentration

La concentration de la bilirubine est calculée par la formule suivante :

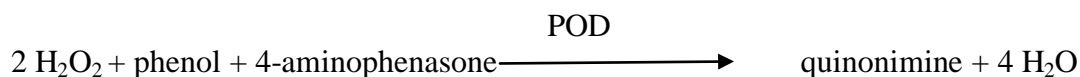
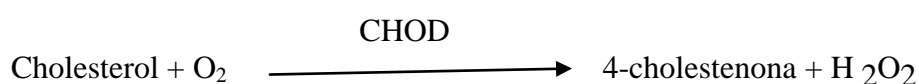
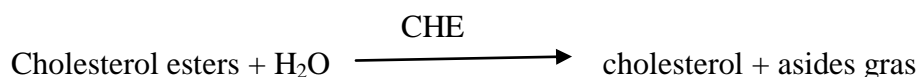
$$\text{Bilirubine totale} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO blanc échantillon}}{\text{DO calibrant} - \text{DO blanc calibrant}} \times \text{Concentration de calibrant}$$

8.12. Dosage du cholestérol

8.12.1. Principe

La méthode est celle décrite par Trinder, 1969. Le cholestérol et ses ester, sont libérés à partir lipoprotéines par les détergents. Le cholestérol estérase hydrolyse les esters. Le H₂O₂ est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol oxydase. Ce dernier réagit avec le phénol pour produire le quinonimine.

Le cholestérol est présent dans l'échantillon sous forme d'un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

8.12.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	Pipes pH 6,9	90 mmol/L

	phénol	26 mmol/L
R2 enzymes	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/L
	Cholesterol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4- aminophenasone (4-AP)	0.4 mmol/L
Calibrant	Etalon de cholestérol aqueux primaire	200mg/dL

Réactif de travail : Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole R1.

Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 moi à 2-8 C° à l'abri de la lumière.

8.12.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantion
RT (ml)	1.5	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10min à la température de 25C°.

Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 60min.

8.12.4. Calcule

(A) échantillon

$$\frac{\text{A} \times 200}{\text{A} \text{ Etalon}} = \text{mg/dl cholestérol de l'échantillon}$$

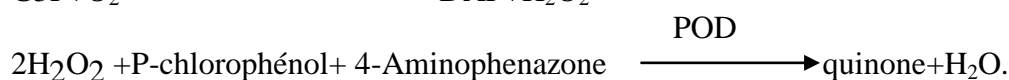
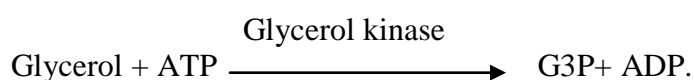
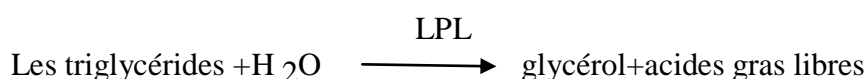
(A) Etalon

Facteur de conversion : mg/dLx0,0258=mmol/L.

8.13. Dosage des triglycérides

8.13.1. Principe

La méthode utilisée est celle décrite par Tietz, 1990. Les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipases. L'indicateur est un quinoneimine formé à partir du peroxyde d'hydrogène, du 4-aminophénazone et du 4-chlorophénol sous l'influence catalytique de la peroxydase. Les triglycérides présents dans l'échantillon sous la forme d'un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

8.13.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
	p-chlorophenol	2 mmol/L
R2 enzyme	Lipoprotéin lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycérolkinase(GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxidase(GPO)	2500 U/L

	Peroxidase(POD)	440 U/L
	4-aminophenazone(4-AP)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
Calibrant	Etalon de triglycéride primaire	200 mg/dL

Réactif de travail : Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole R1.

Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 moi à 2-8c° ou une semaine à 15-25C°.

8.13.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

Agiter bien et incuber pendant 5min à 37°C, ou 10 min à la température de 25C°.

Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505nm et de l'étalon contre le blanc, la Couleur est stable après 30 min.

8.13.4. Calcule

(A) échantillon

$\frac{\text{A échantillon}}{\text{A étalon}} \times 200 \text{ (étalon concentration)} = \text{mg/dl triglycérides de l'échantillon}$

L'apport du sélénium et de la vitamine E dans la toxicité du nickel chez le rat Wistar Albinos.

(A) étalon

8.14. Dosage des lipides totaux

La méthode utilisée est celle décrite par Kaplan *et al*, 1984. Selon la fiche technique Spinreact.

8.14.1. Principe

Les lipides insaturés réagissent avec l'acide sulfurique pour former des ions carbonium ensuite ces ions forment avec le phosphovainille un complexe rose.

8.14.2. Réactifs

Réactifs	Composition	Concentration
Réactif principale	phosphovainilline	235 mmol/L
Etalon	Etalon des lipides totaux	750 mg/dl
Réactif optimal	Acide sulfurique H ₂ SO ₄	80%

8.14.3. Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
H ₂ SO ₄ (ml)	2.5	2.5	2.5
Etalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-	-	100

Mélanger bien et incuber les tubes préparés pendant 10 min dans un bain marie à 100°C. Refroidissez dans la glace et transférez dans une cuvette.

Blanc	Etalon	Echantillon
-------	--------	-------------

H ₂ SO ₄ (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon d'acide condensé (μl)	-	50	-
Echantillon d'acide condensé (μl)	-	-	50

- ✓ Secouer entièrement les tubes, utiliser un provocateur mécanique.
- ✓ Incuber pendant 15 min à 37°C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 520 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 1 heure.

8.14.4. Calcule

$$\frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ étalon}} \times 750 = \text{mg/dl concentration des lipides totaux}$$

(A) étalon

9. Dosage des paramètres hématologique

La toxicité hématologique a été mise en évidence à travers la détermination de la formule numérique sanguine (FNS) à l'aide d'un Coulter automatique. Les paramètres mesurés sont les globules rouges et blancs, l'hémoglobine (Hb), l'hématocrite (Ht), le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH).

10. Dosage des paramètres du stress oxydant

10.1. Préparation de l'homogénat

Un gramme de foie, des reins, des testicules ou du cerveau des rats des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), puis le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydatif.

10.2. Dosage du glutathion des organes

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de Ellman (1959) modifié par Jollow *et al.*, 1974. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- ✓ 0.2 ml de la solution d'acide salicylique (0.25%).
- ✓ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH 9.6.
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M.

Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéine}}$$

- DO : Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.
- 0.8 : Volume de l'homogénat.
- 0.5 : Volume du surnageant.

10.3. Dosage des protéines

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie.
- 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) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (voir fig.12).

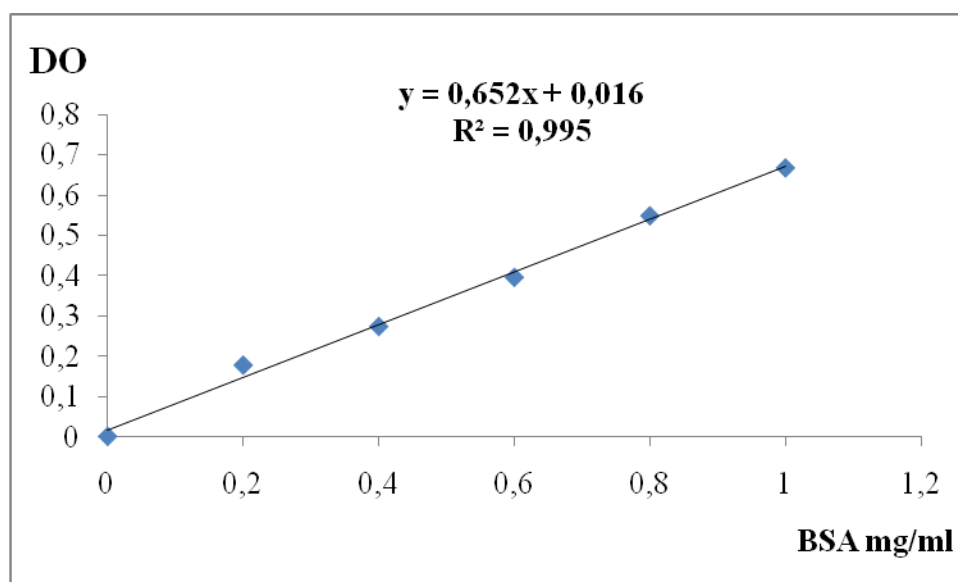


Figure 17 : Représente la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines.

10.4. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipopéroxydation *in vitro*. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'Esterbauer *et al*, (1992).

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

La procédure expérimentale du dosage, est la suivante :

- ✓ Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant).
- ✓ Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- ✓ Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- ✓ Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.
- ✓ Prélever 400 µl du surnageant.
- ✓ Ajouter 80 µl du HCl 0.6 M.
- ✓ Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM).
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La densité optique a été enregistrée à $\lambda = 530$ nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = E.C.L$):

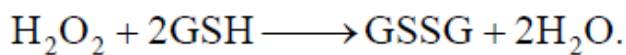
$$C \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot \chi \cdot Fd}$$

- C : Concentration en nmoles/mg de protéines ;
- DO : Densité optique lue à 530 nm ;
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

- L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
- X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;
- Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

10.5. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Pour cela que, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- ✓ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- ✓ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- ✓ Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- ✓ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- ✓ Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- ✓ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- ✓ Prélever 0.48 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- ✓ Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM)
- ✓ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GPx}(\mu\text{mol GSH/mg protein}) = \frac{(\text{DO échantillon} \times \text{DO étalon} \times 0.04)}{\text{DO étalon}} \times 5 / [\text{protéine}] \text{mg/ml}$$

- DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

10.6. Dosage de l'activité de Glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité des GST, consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du (CDNB) 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène, qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

10.6.1. Protocole expérimental

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig *et al* (1974) ; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDNB) à une température de 37°C et à un pH de 6.5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (0.1M) pH 6.5	850	830
CDNB (0.02M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100
Homogénat	-	20

La valeur de la densité optique du blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST(nmol GST/min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO échant/min} - \text{DO blanc/min})}{9,6 \times \text{mg de protéine}}$$

- Do : Densité optique de l'échantillon /min.
- Do/min blanc : Densité optique du blanc /min
- 9.6 : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en mM. Cm.

11. Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital d'Ibn Roched d'Annaba, Service de l'Anatomie Pathologique. La technique utilisée est celle décrite par (Houlod, 1984) qui comporte les étapes suivantes :

➤ **Fixation** : La fixation des échantillons à été faite dans le Bouin alcoolique

Préparation du Bouin alcoolique (100ml)

- Solution d'acide picrique 1% dans l'éthanol à 95% : 45 ml.
- Formol : 26 ml.
- Acide acétique : 07 ml.
- Eau distillée : 22 ml.

Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

➤ **Déshydratation des échantillons**

Au début, il faut déshydrater les échantillons à l'aide d'un appareil automatique qui permet le passage automatiques et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 95% et 100%).

➤ **L'inclusion et réalisation des blocs**

Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide.

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

La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 μm en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés « Microtomes ». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

➤ **La coloration**

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

- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée.
- Immerger dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) ; déposer ensuite les lames dans un bain d'eau du robinet et vérifier la différenciation au microscope.
- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale.
- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

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

12. Traitement statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins (Moy \pm SEM) l'écart type moyen, la comparaison entre les différents groupes sont effectuées après une analyse de la variance (ANOVA) et une comparaison des moyennes par le test Whitney. L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 16.1.1.0).

Les différences sont considérées comme :

- significatives lorsque ($P \leq 0,05$).
- hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).
- significatives comparant au lot traité par le toxique seul ($P \leq 0,05$).
- hautement significative comparant au lot traité par le toxique seul ($P \leq 0,01$).
- très hautement significative comparant au lot traité par le toxique seul ($P \leq 0,001$).
- Avec P : Seuil de signification.

II. RÉSULTATS

1. Paramètres de croissance

1.1. La croissance corporelle

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) de poids corporel chez le lot traité par le sulfate de nickel (-24.45%) par rapport au groupe témoin, et une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité par Ni+Vit E, tandis que, on n'enregistre aucune différence significative du poids corporel chez les lots traités par le sélénite de sodium, la vitamine E et par les combinaisons; Ni+Se et Ni+Vit E+Se comparant aux rats témoins.

En effet, nous remarquons une diminution de 22,7g du gain du poids corporel des rats traité par le sulfate de nickel comparativement aux rats témoins et aux rats traités par la vitamine E sous forme de α -tocophérol ; le sélénite de sodium et les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) où nous avons enregistré des augmentations au niveau du gain de poids corporel de +38,7g jusqu'à +54,9g (Tableau 9).

En revanche on a remarqué une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) des combinaisons Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se comparativement au lot traité par le sulfate de nickel (Tableau 9 ; Figure 18).

1.2. Etat pondéral de certains organes

1.2.1. Foie

On Note une diminution significative ($P \leq 0,05$) du poids absolu (Tableau 10, figure 19) chez les groupes traité par le sulfate de nickel (+6,82%) comparants au groupe témoin, et une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) du poids relatif chez le même lot comparativement au lot témoin. Par contre, on n'enregistre aucune différence significative chez les lots traités par la vitamine E, sélénium, Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se (Tableau 10, figure 19, figure 20) avec une différence significative ($P \leq 0,05$) du lot traité à la combinaison Ni+Vit E+Se comparativement aux rats traités par le Ni (Tableau 10, figure 20).

1.2.2. Reins

Nos résultats montrent qu'il y a une différence significative ($P \leq 0,05$) du poids absolu et une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) du poids relatif des reins chez le groupe traité par le nickel (+11,11%) comparant au groupe témoin. Et qu'il n'y a pas eu de variations statistiquement significatives du poids relatif ainsi que celle du poids absolu des reins chez les lots traités par la vitamine E, le sélénium et par les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) comparant aux rats témoins. On a enregistré une différence significative ($P \leq 0,05$) des combinaisons (Ni+Vit E et Ni+Vit E+Se) comparativement au lot traité par le nickel (Tableau 10, figure 21, figure 22).

1.2.3. Cerveau

Les résultats du tableau 10 et des figures 23 et 24 révèlent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) du poids relatif du cerveau chez le lot traité par le nickel (+5,80%) et non significative chez les rats traité par la vitamine E, le sélénium et par les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) comparant aux rats témoins. Par ailleurs, on n'enregistre aucune différence significative du poids absolu du cerveau chez l'ensemble des lots traités comparativement au lot témoin. On note une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) comparativement au lot toxique chez les lots traités par la vitamine E et/ou le sélénium.

1.2.4. Testicules

Au niveau des testicules les résultats des poids absolus et relatifs ne présente aucunes variations significatives chez les rats traités par la vitamine E, le sélénium et par les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) comparant aux rats témoins. Mais, on note une différence significative du poids absolu ($P \leq 0,05$) et une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) du poids relatif chez les rats traité au nickel (+7,28%) comparant aux rats témoins. En revanche, il existe une différence significative ($P \leq 0,05$) chez les rats traité à la combinaison Ni+Se et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez le lot traité par le Ni+Vit E+Se en comparant avec le lot traité au Ni (Tableau 10 et des figures 25 et 26).

Tableau 9: Représente la variation de poids corporel (g) et le gain de poids (g) chez les rats témoins et les rats traité par la vitamine E (Vit E), le sélénite de sodium (Se), le sulfate de nickel (Ni) et les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux						
	<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
<i>Poids initial</i> (g)	229,3 ± 14,66	228,2 ± 15,54	230,8 ± 10,39	233,4 ± 34,38	229,7 ± 12,46	229,6 ± 35,21	229,5 ± 4,92
<i>Poids final</i> (g)	278,9 ± 12,52	279,2 ± 9,68	281,8 ± 8,56	210,7 ± 33,28 ^c	268,4 ± 7,96 ^{af}	271,2 ± 20,08 ^f	284,4 ± 6,27 ^f
%	-	+0,10 %	+1,03 %	-24,45 %	-3,76 %	-2,76 %	+1,97 %
<i>Gain de poids</i> (g)	+49,6	+51	+51	-22,7	+38,7	+41,6	+54,9

^a : Différence significative comparant au témoin (P ≤ 0,05). ^c : Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤ 0,001).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤ 0,001). P : Seuil de signification.

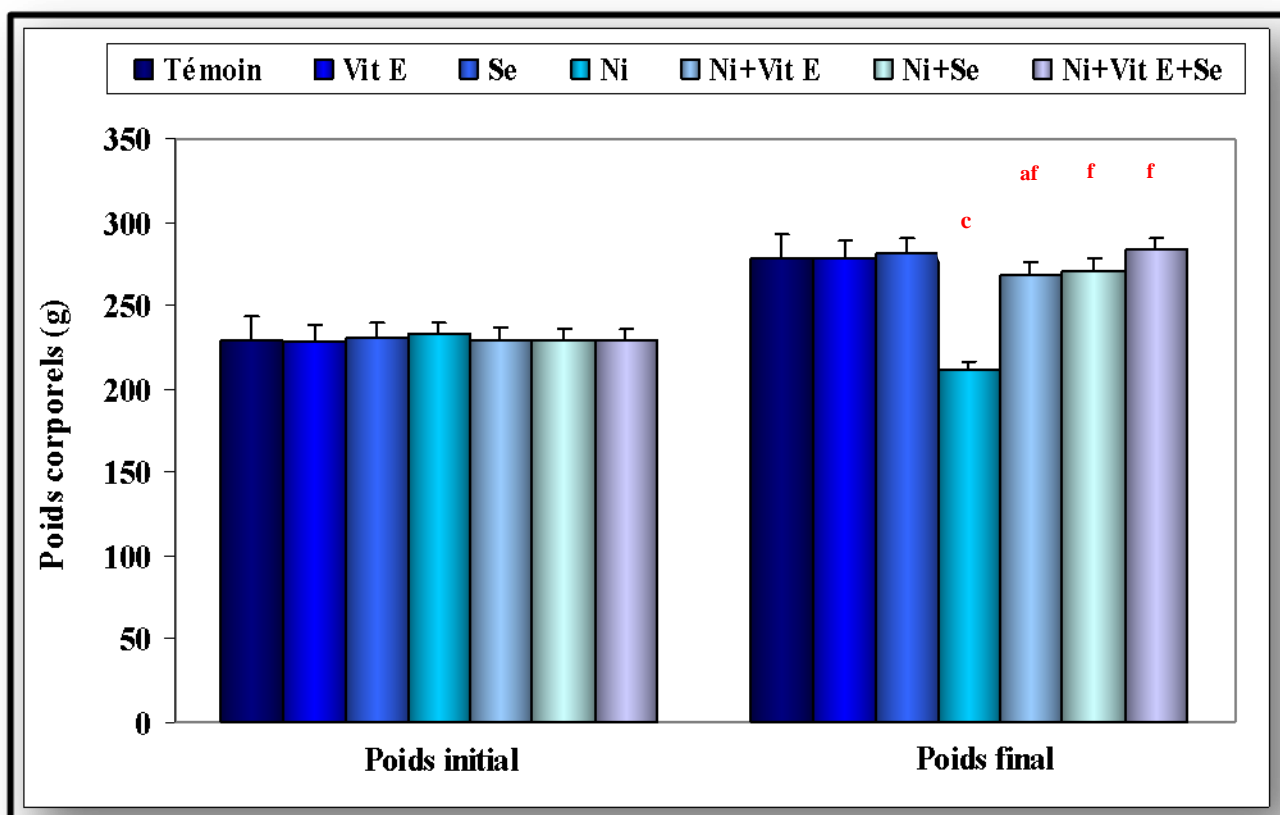


Figure 18 : Représente la variation du poids corporel en (g) des rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

^a : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$).

P : Seuil de signification.

Tableau 10 : Représente la variation des poids absolus (PA) (g) et relatif (PR) (g/100g de poids corporel) des organes (foie, rein, cerveau et testicules) chez les rats témoins et les rats traité par la vitamine E (Vit E), le sélénite de sodium (Se), le sulfate de nickel (Ni) et les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Organes		Lots expérimentaux						
		<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
Foie	PA	8,94 ± 0,25	8,88 ± 0,24	8,89 ± 1,23	9,55 ± 0,78 ^a	8,99 ± 0,52	8,95 ± 0,53	8,91 ± 0,27 ^d
	PR	3,21±0,19	3,18±0,16	3,16±0,16	4,65±0,92 ^c	3,35±0,19 ^f	3,30±0,16 ^f	3,13±0,10 ^f
%		-	-0,67%	-0,55%	+6,82%	+0,55%	+0,11%	-0,33%
Reins	PA	0,72±0,05	0,71±0,06	0,70±0,07	0,80±0,07 ^a	0,70±0,07 ^d	0,75±0,10	0,71±0,03 ^d
	PR	0,26±0,06	0,25±0,01	0,25±0,02	0,38±0,05 ^c	0,26±0,03 ^f	0,27±0,03 ^f	0,25±0,01 ^f
%		-	-1,38%	-2,77%	+11,11%	-2,77%	+4,16%	-1,38%
Cerveau	PA	1,55±0,18	1,53±0,15	1,51±0,18	1,64±0,15	1,62±0,05	1,59±0,08	1,56±0,09
	PR	0,56±0,08	0,54±0,05	0,53±0,07	0,79±0,10 ^c	0,60±0,02 ^f	0,59±0,06 ^f	0,55±0,04 ^f
%		-	-1,29%	-2,58%	+5,80%	+4,51%	+2,58%	+0,64%
Testicules	PA	1,51±0,12	1,52±0,11	1,53±0,11	1,62±0,10 ^a	1,53±0,09	1,52±0,07 ^d	1,50±0,07 ^e

	<i>PR</i>	0,54±0,05	0,54±0,04	0,54±0,04	0,78±0,15^c	0,57±0,03^f	0,56±0,06^f	0,52±0,03^f
%		-	+0,66%	+1,32%	+7,28%	+1,32%	+0,66%	-0,66%

^a : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$). ^c : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

^d : Différence significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,05$). ^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,01$). ^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$). P : Seuil de signification.

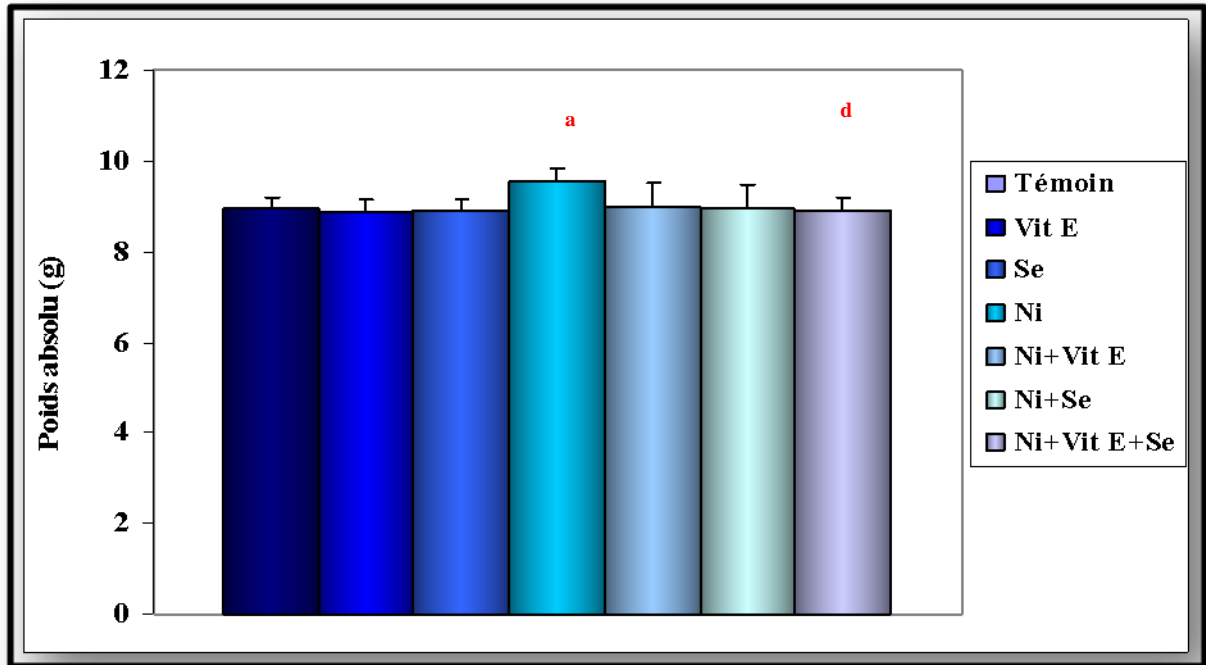


Figure 19 : Représente l'évolution du poids absolu du foie (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

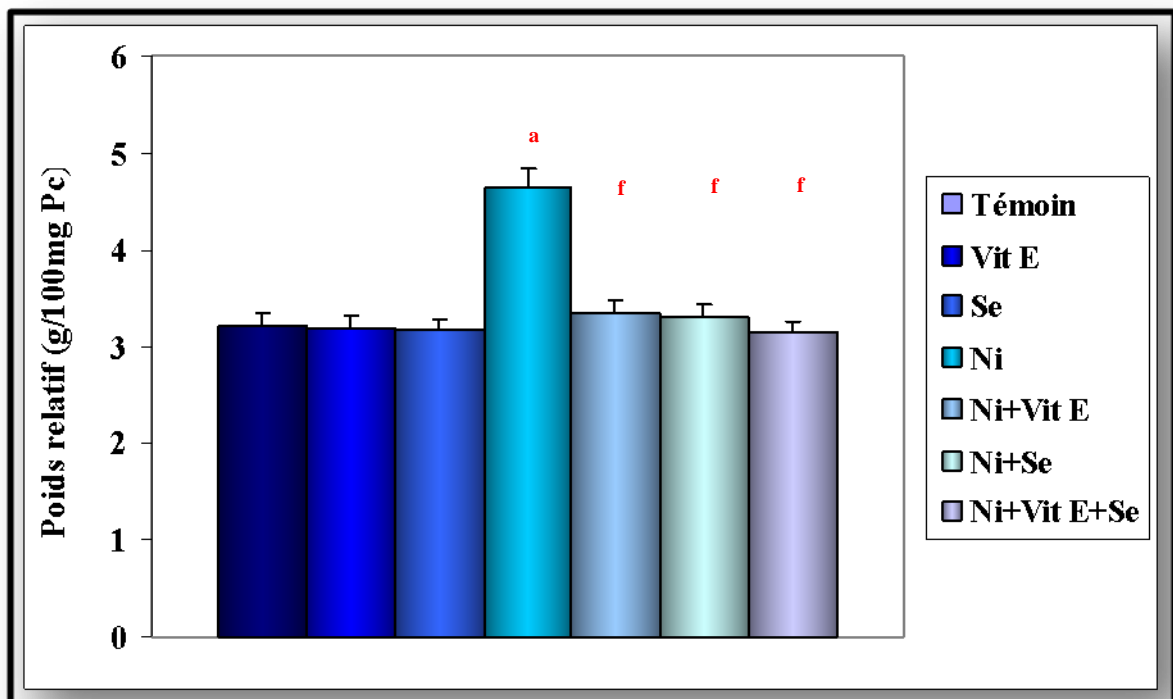


Figure 20 : Représente l'évolution du poids relatif du foie (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

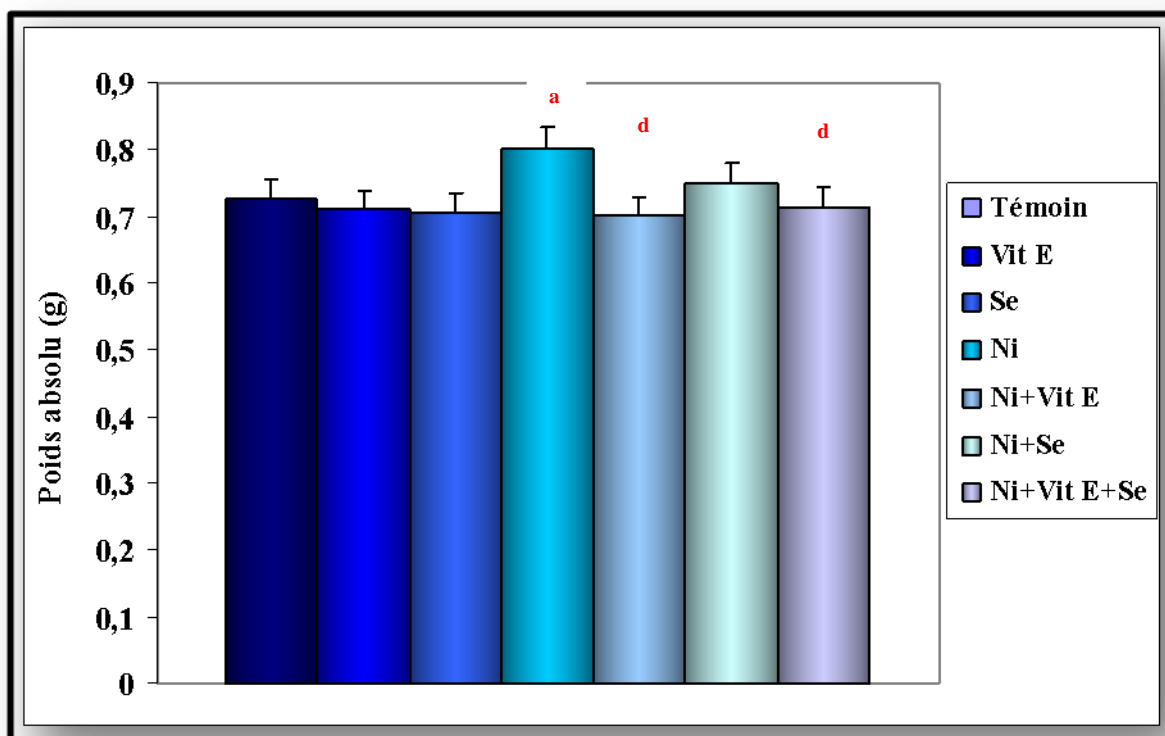


Figure 21 : Représente l'évolution du poids absolu des reins (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

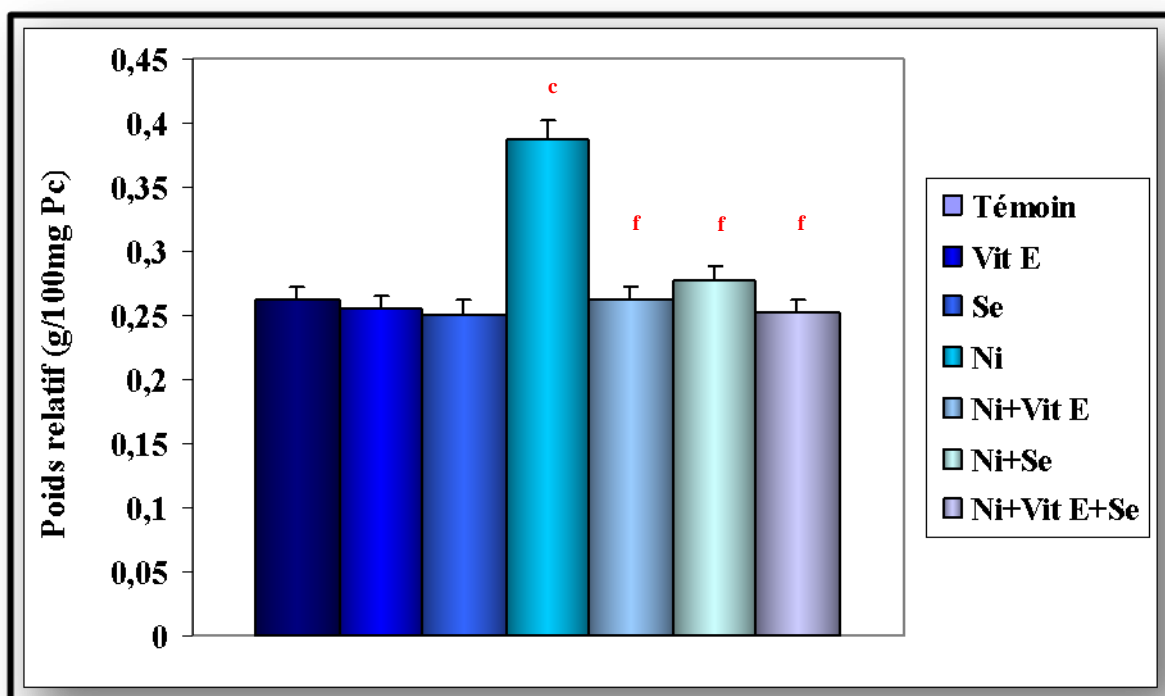


Figure 22 : Représente l'évolution du poids relatif des reins (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

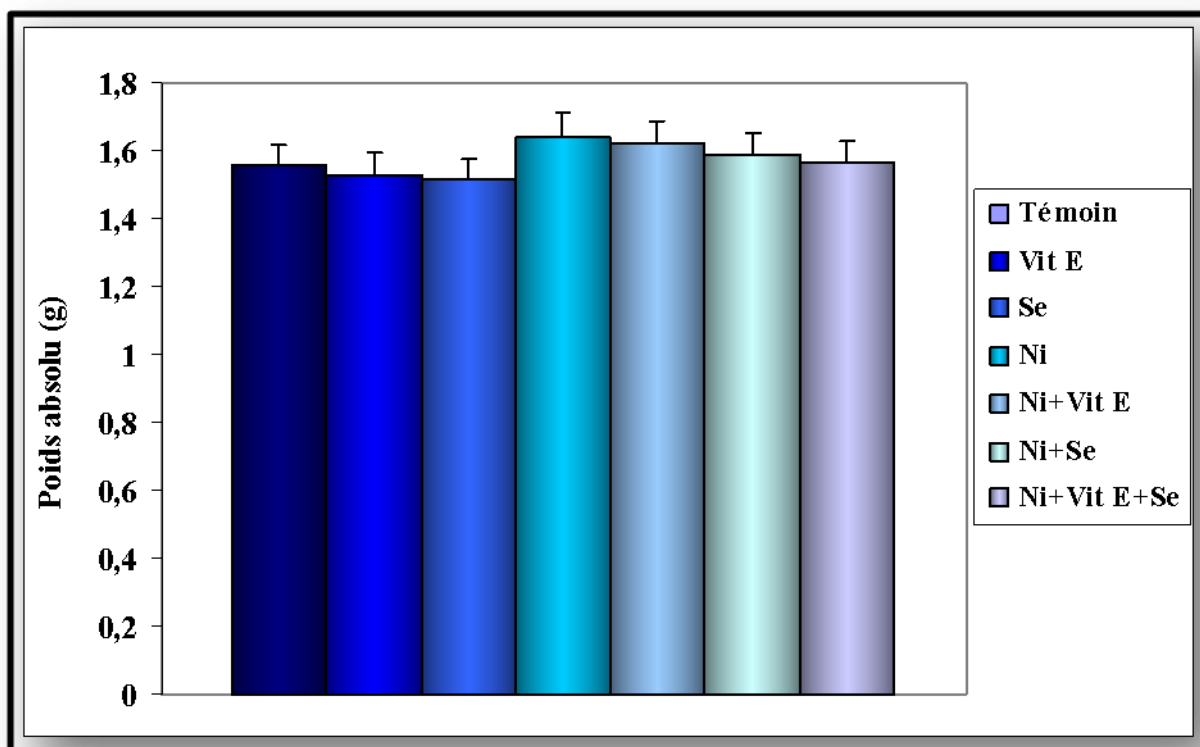


Figure 23: Représente l'évolution du poids absolu du cerveau (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

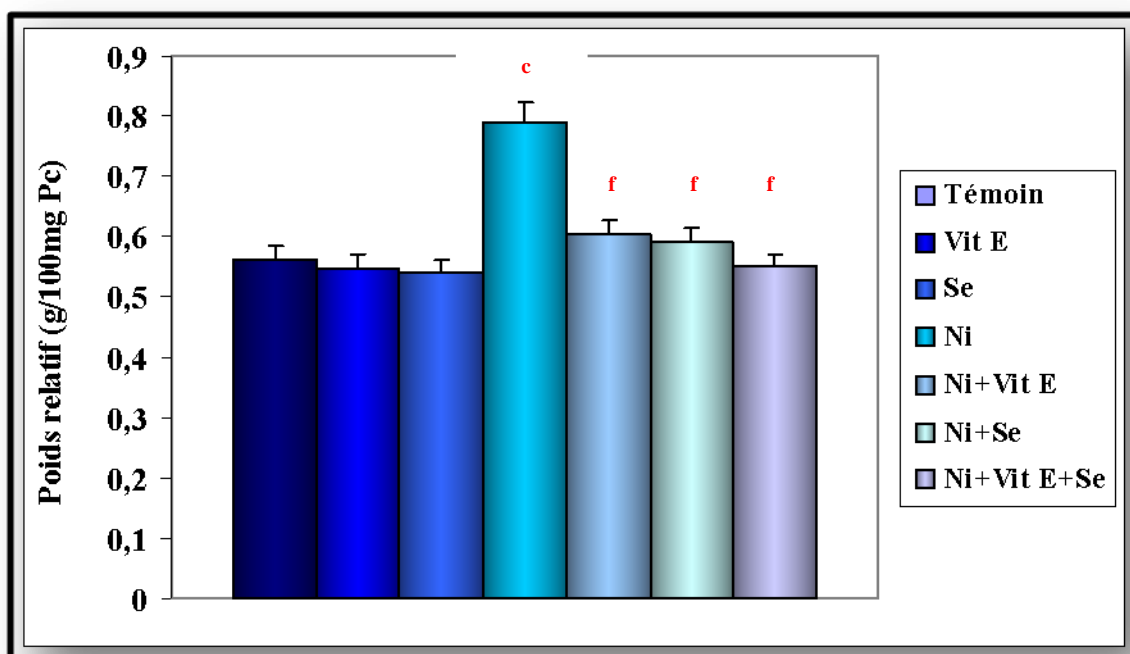


Figure 24: Représente l'évolution du poids relatif du cerveau (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

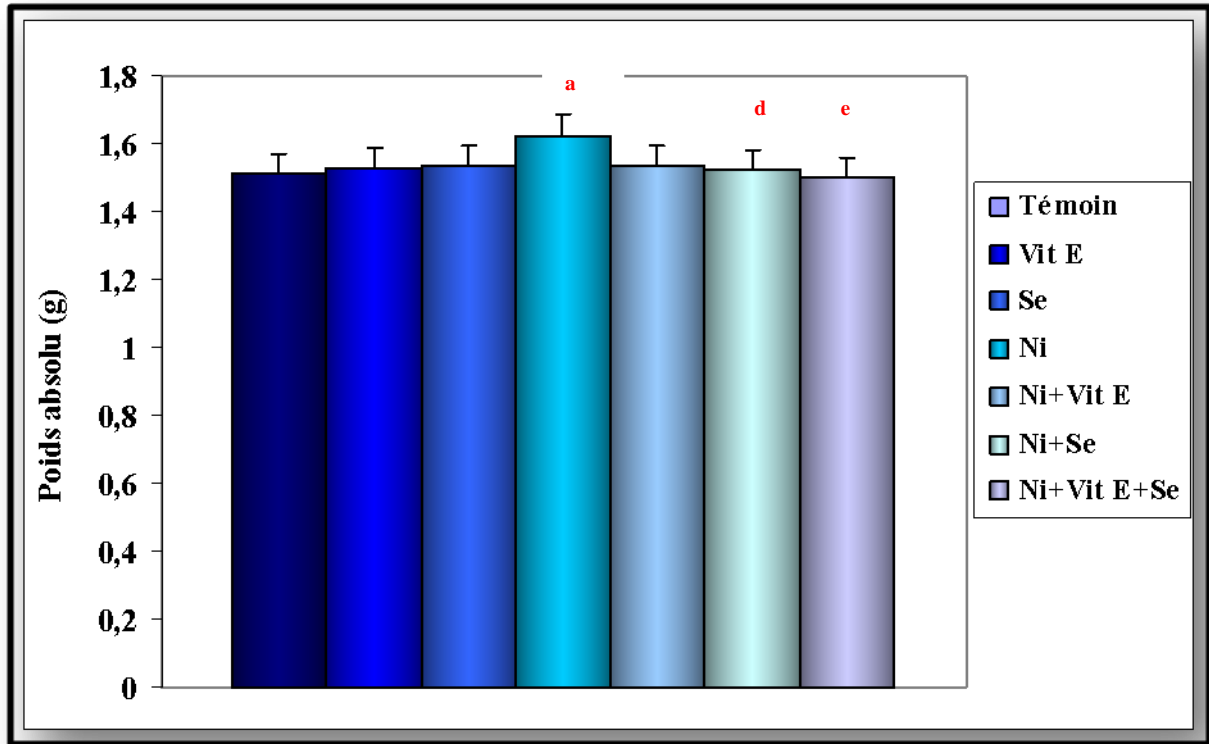


Figure 25 : Représente l'évolution du poids absolu des testicules (g) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

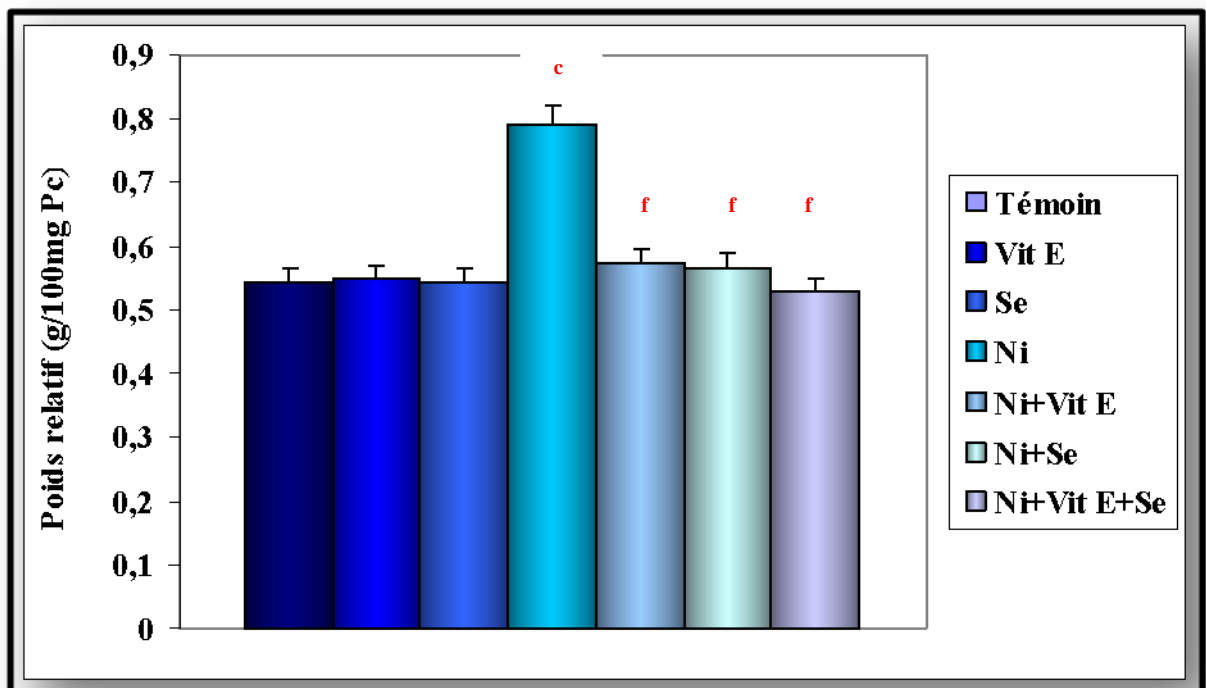


Figure 26 : Représente l'évolution du poids relatif des testicules (g/100mg Pc) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

DISCUSSION

Notre étude est réalisée avec une concentration de 20 mg/kg poids corporel de sulfate de nickel, une dose de 10µg/100g du sélénite de sodium et une dose de 15 mg/100g de α -tocophérol en se référant respectivement aux travaux effectués par Pari et Prasath, 2008; Sakly *et al*, 2003.

La réduction du poids corporel est utilisée comme un indicateur général de l'état de santé du rat. Dans nos conditions expérimentales, l'administration intra-péritonéale du sulfate de nickel, pendant 21 jours chez le rat *Wistar* males a provoqué une diminution très hautement significative du poids corporel par rapport aux rats témoins. Cette réduction peut être due à la faible consommation de la nourriture, un déséquilibre hormonal et la réduction des taux de protéines (Pardeep *et al*, 2004; Smialowicz *et al*, 1987).

Cet effet peut être aussi expliqué par l'action du nickel sur le transport des éléments nutritifs (les acides aminés, le glucose et les minéraux essentiels comme le zinc, le magnésium, le fer...) par le sang et par conséquent, ils peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps. Dieter *et al*, 1988; Cempel et Janicka, 2002 ont signalé que la baisse du gain de poids corporel peut-être dû à la dégradation augmentée de lipides et de protéines par suite de toxicité du nickel. Notre étude est concomitante à celle de (Mandava *et al*, 2009).

En revanche, le traitement des rats par la combinaison sélénite de sodium et/ou la vitamine E chez les rats traités par le sulfate de nickel a entraîné une amélioration des poids corporels, (Ben Amara *et al.*, 2011; Mandava *et al*, 2009) ces auteurs expliquent le gain de poids corporel de l'animal par une augmentation de l'appétit, d'autres études ont suggéré que la supplémentation du sélénium chez des êtres humains volontaires a diminué les dépenses énergétiques et donc causé le gain de poids et que cette amélioration est due à l'effet protecteur du sélénium et de la vitamine E contre la toxicité des métaux lourds (Jotty *et al*, 2009; Soudani *et el*, 2011).

En ce qui concerne les effets sur le poids absolu des organes (foie, reins, testicules et cerveau), nous avons remarqué une augmentation significative au niveau de foie, les reins et

les testicules par contre aucune différence significative du poids absolu au niveau du cerveau. L'augmentation de poids absolu et relatif peut être due à l'accumulation de nickel dans les organes étudiés ou à l'hypertrophie tissulaire de ces organes causé par ce métal ; ces résultats est en accord avec les travaux de Novelli *et al*, 1998 ; Misra *et al*, 1990 ; Leelavinothan et Kasinathan, 2011.

En revanche, le traitement des rats par le sélénium et la vitamine E a entraîné une amélioration des poids corporels et des poids relatifs des organes, cette amélioration est due à l'effet protecteur du sélénium et de la vitamine E contre la substance toxique (Soudani *et al*, 2010; Cemek *et al*, 2010)

Nos résultats sont en accord avec les données bibliographiques (Aposhian *et al*, 2000) qui ont montré que l'administration des antioxydants a augmenté l'excrétion biliaire et réduit les concentrations hépatiques des métaux lourds, ce qui conduit à la réduction de les effets toxiques des ces substances toxiques.

L'ensemble de ces résultats montre que la vitamine E et le sélénium semble protéger le foie, les reins les testicules ainsi que le cerveau de l'accumulation du sulfate de nickel.

2. Paramètres biochimiques

2.1. Bilan énergétique

2.1.1. Glucose

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une variation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration sérique du glucose (+12,94%) chez le lot traité au nickel comparant au groupe témoin, le groupe traité par la combinaison Ni+Vit E présente une différence significative ($P \leq 0,05$) par rapport au lot témoin (+8,44%). Tandis que, la comparaison entre les groupes traités par le Sélénium, la vitamine E et par les combinaisons (Ni+Se et Ni+Vit E+Se) ne présente aucune différence significative. Il existe une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se comparativement au lot traité par le sulfate de nickel (Tableau 11, Figure 27).

2.1.2. Protéines totales

La concentration sérique des protéines totales présente une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez le lot traité au nickel (-18,65%) par rapport au témoin, on note une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez les lots traités par la combinaison Ni+Vit E (-5,73%) par rapport au lot témoin et aucune différence significative chez les rats traités uniquement par le sélénium, uniquement par la vitamine E, et par la combinaison nickel, sélénium et vitamine E comparant au lot témoin. En revanche, on a enregistré une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez les lots traités par les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) par rapport aux rats traité par le nickel (Tableau 11, Figure 28).

2.1.3. Albumine

L'analyse du taux sérique de l'albumine révèle l'existence d'une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez les rats traits par le sulfate de nickel (-10,40%) et une diminution significative chez le lot traités par la combinaison Ni+Vit E (-3,13%) comparativement aux rats témoins avec une différence hautement significative comparativement au lot traité au nickel. Cependant, il n'existe plus de différences hautement significatives ($P \leq 0,01$) chez les lots traits par la vitamine E, le sélénium, Ni+Se et Ni+Vit E+Se par rapport au lot témoin. Par contre on a enregistré une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) en comparant au lot traité au nickel (Tableau 11, Figure 29).

Tableau 11 : Représente la variation de quelques paramètres énergétiques chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux						
	Témoin	Vit E	Se	Ni	Ni+Vit E	Ni+Se	Ni+Vit E+Se
Glucose (mg/dl)	98,70± 5,70	98,33± 5,61	97,05± 4,65	111,48± 11,32 ^b	107,04 ± 9,67 ^a	101,87 ± 13,97	95,04 ±6,90 ^e
%	-	-0,37%	-1,67%	+12,94%	+8,44%	+3,21%	-3,70%
Protéines totales mg/dl)	6,97 ± 0,37	6,88± 0,35	6,81± 0,33	5,67 ± 0,27 ^c	6,57 ± 0,35 ^{af}	6,6 ± 0,29 ^{af}	6,94 ±0,34 ^f
%	-	-1,29%	-2,29%	-18,65%	-5,73%	-5,30%	-0,43%
Albumine (g/l)	52,58 ± 0,28	52,53 ± 0,17	52,38± 0,25	47,11 ± 0,35 ^c	50,93 ± 2,05 ^{ae}	52,30 ± 0,51 ^f	52,81 ±0,42 ^f
%	-	-0,09%	-0,38%	-10,40%	-3,13%	-0,53%	+0,43%

^a : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$).

^b : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,01$).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$).

P : Seuil de signification.

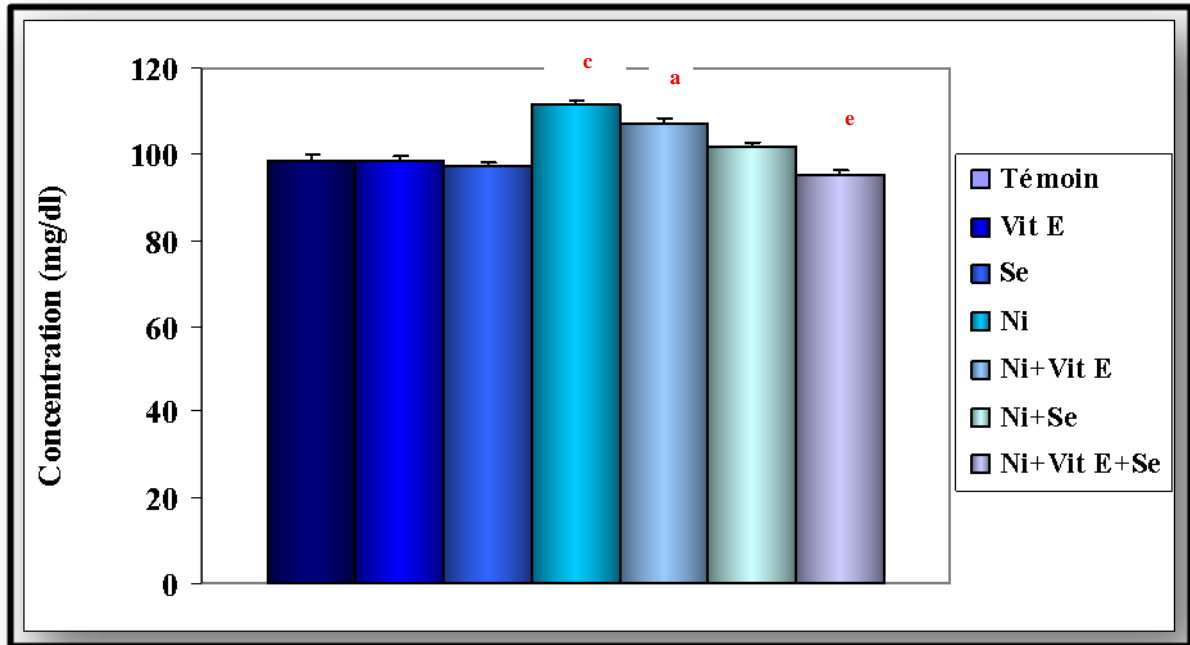


Figure 27: Représente la variation de la concentration sérique en glucose (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

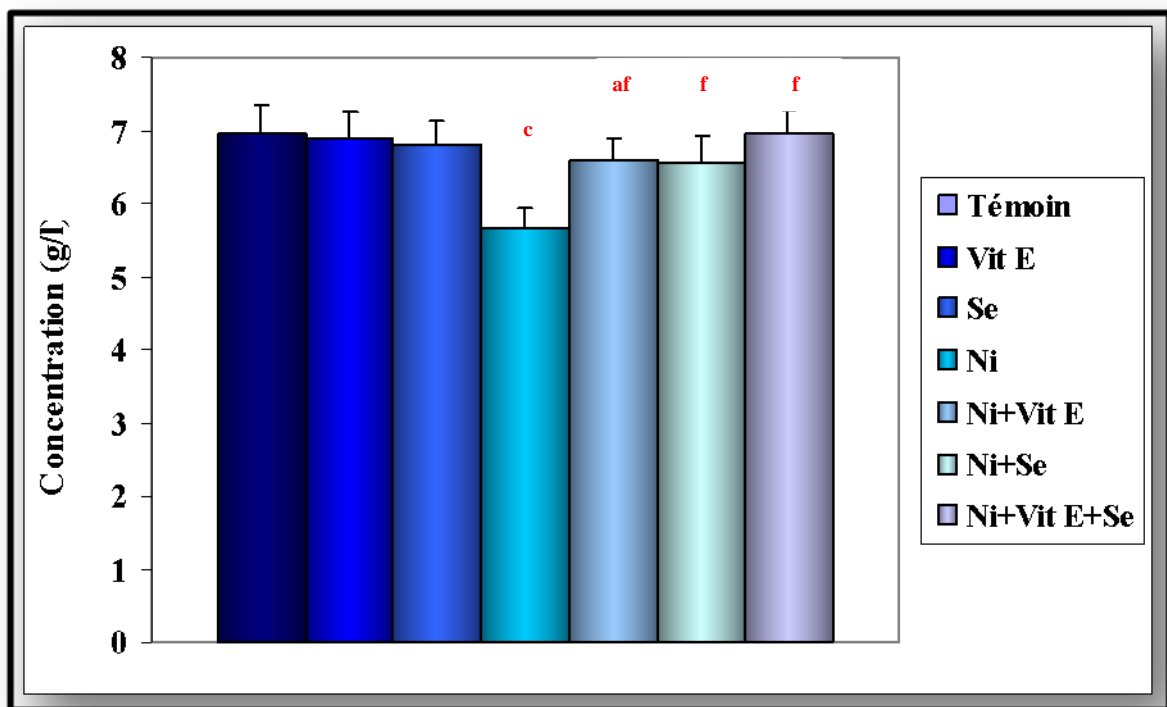


Figure 28: Représente la variation de la concentration sérique en protéines totales (g/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

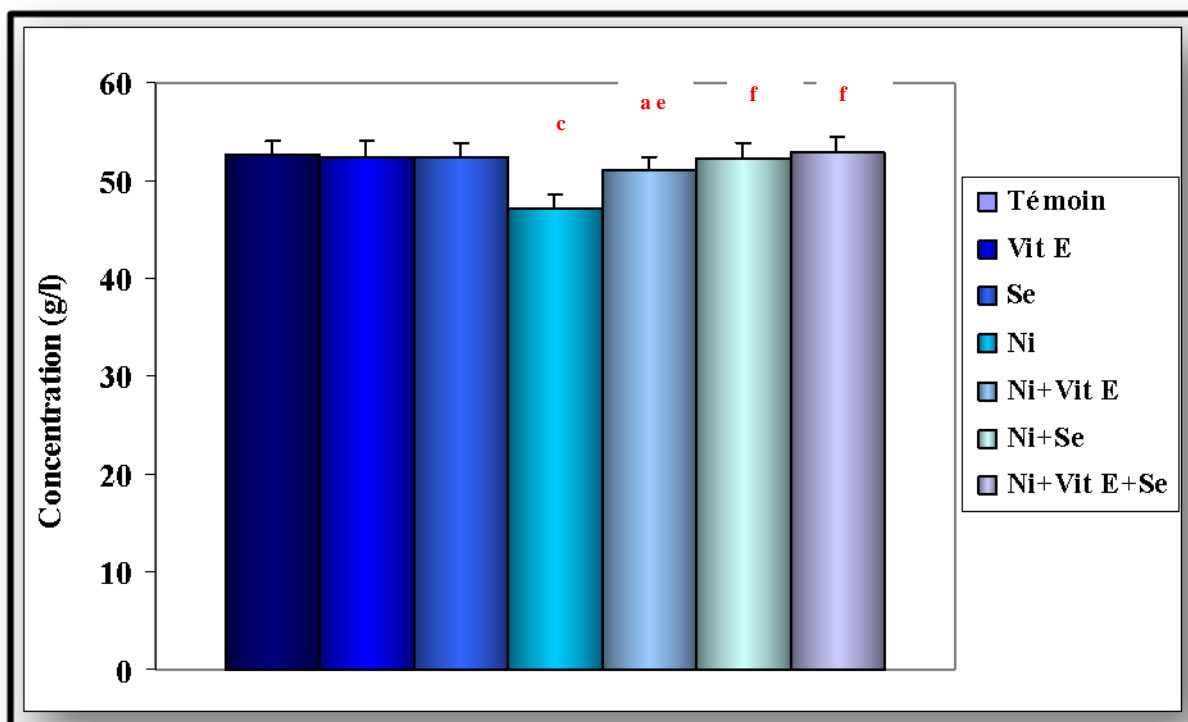


Figure 29: Représente la variation de la concentration sérique en albumine (g/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

2.2. Bilan rénal

2.2.1. Urée

L'administration, du nickel seul induit une augmentation (+37,48%) très hautement significative du taux de l'urée ($p < 0,001$) avec une augmentation significative ($p < 0,05$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E (+9,68%) ainsi que la combinaison Ni+Se (+5,04%) l'apport du sélénium et de la vitamine E chez le même lot traité au nickel tend à normaliser ces valeurs. Par contre, il existe une différence très hautement significative ($p < 0,001$) chez les lots traités aux combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) comparativement au lot traité au nickel (Tableau 12, figure 30).

2.2.2. Créatinine

Les résultats montrent une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) du taux sérique en créatinine chez les rats traité au nickel (+45,46%) et une augmentation significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité à la combinaison Ni+Vit E (+27,11%) comparant au groupe témoin. En revanche, on note aucune différence significative de la créatinine chez les rats traités par le sélénium, la vitamine E et les combinaisons (Ni+Se et Ni+Vit E+Se) par rapport au lot témoin avec une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) comparativement au lot traité par le toxique seul (Tableau 12, figure 31).

2.2.3. Acide urique

Les niveaux de l'acide urique on été seulement sensiblement augmentés (+18,68%) d'une façon hautement significative ($P \leq 0,01$) chez le groupe traité au nickel par rapport au groupe témoin. Par contre, il n'existe aucune différence significative chez les autres lots traités.

De plus, on enregistre une différence significative ($P \leq 0,05$) chez les rats traités aux combinaisons Ni+Vit E et Ni+Se, et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez le lot traité à la combinaison Ni+Vit E+Se par rapport au groupe traité au sulfate de nickel (Tableau 12, figure 32).

Tableau 12 : Représente la variation de quelques paramètres rénaux (urée, créatinine et acide urique) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux						
	<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
<i>Urée (mg/dl)</i>	34,71 ± 1,42	34,36 ± 1,46	34,09 ± 1,65	47,72 ± 1,51^c	38,07 ± 4,93^{af}	36,46 ± 3,40^{af}	35,91 ± 2,21^f
%	-	-1%	-1,78%	+37,48%	+9,68%	+5,04%	+3,45%
<i>Créatinine (mg/dl)</i>	0,59 ± 0,18	0,57 ± 0,16	0,58 ± 0,15	0,86 ± 0,14^b	0,75 ± 0,13^a	0,63 ± 0,15^e	0,58 ± 0,19^e
%	-	-3,38%	-1,69%	+45,46%	+27,11%	+6,77%	-1,69%
<i>Acide urique (mg/dl)</i>	4,71 ± 0,72	4,70 ± 0,73	4,62 ± 0,68	5,59 ± 0,64^b	4,91 ± 0,33^d	4,88 ± 0,34^d	4,57 ± 0,59^e
%	-	-0,21%	-1,91%	+18,68%	+4,24%	+3,60%	-2,97%

^a : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$).

^b : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

^d : Différence significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,05$).

^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,01$).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$).

P : Seuil de signification.

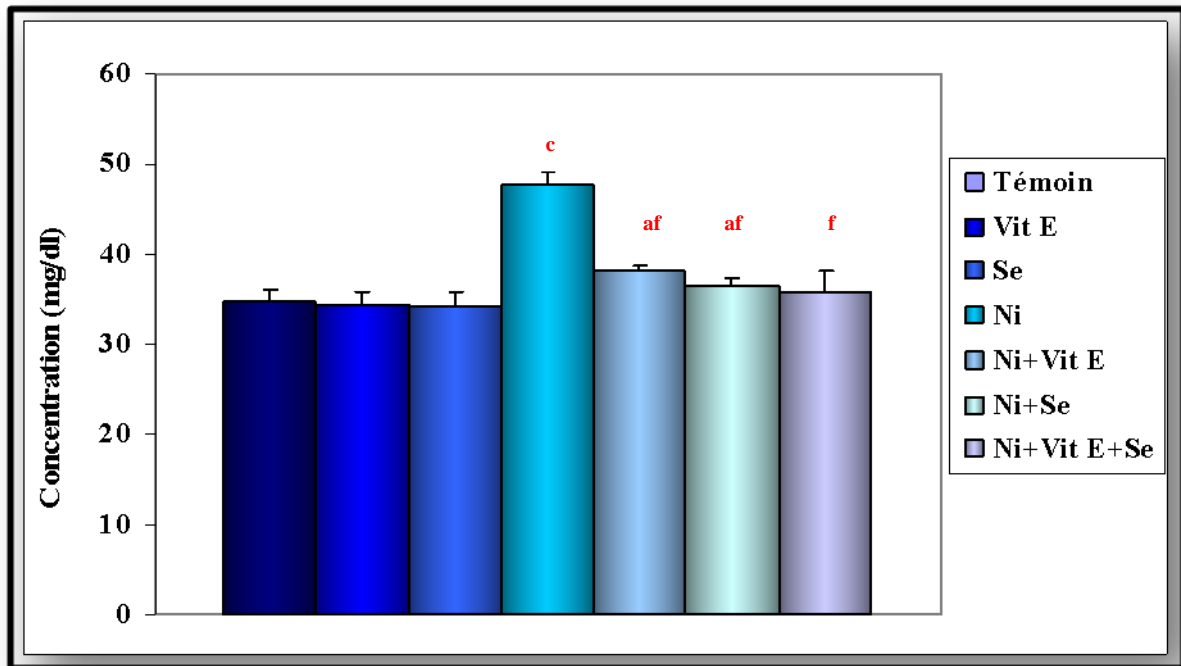


Figure 30: Représente la variation de la concentration sérique en urée (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

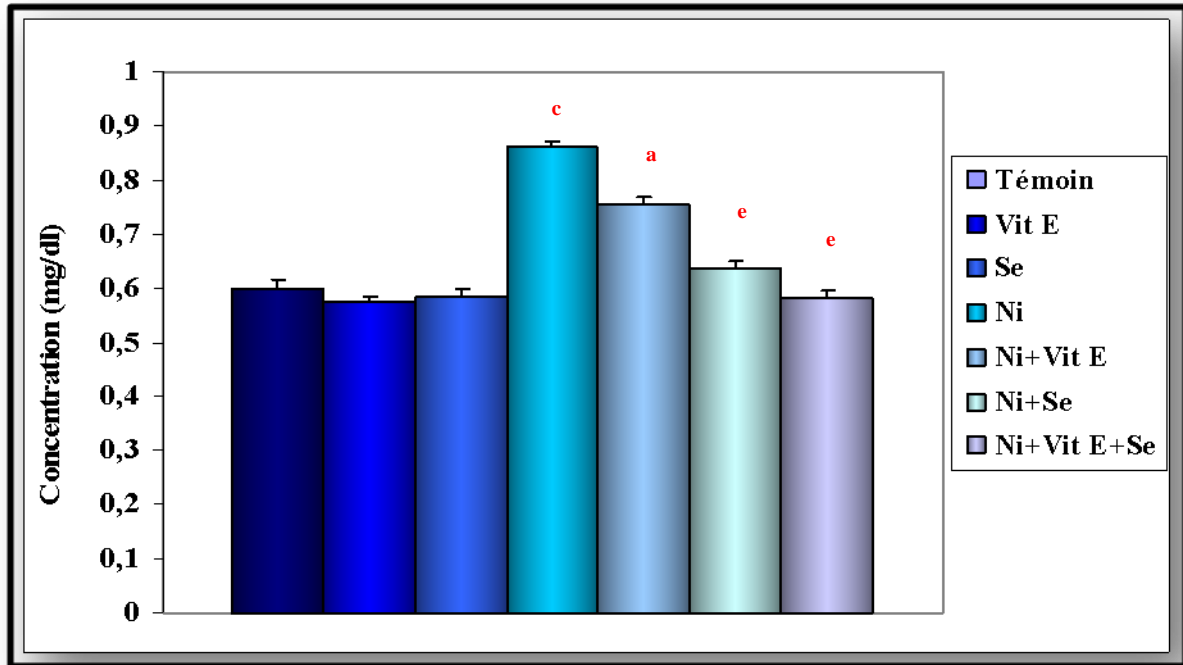


Figure 31 : Représente la variation de la concentration sérique en créatinine (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

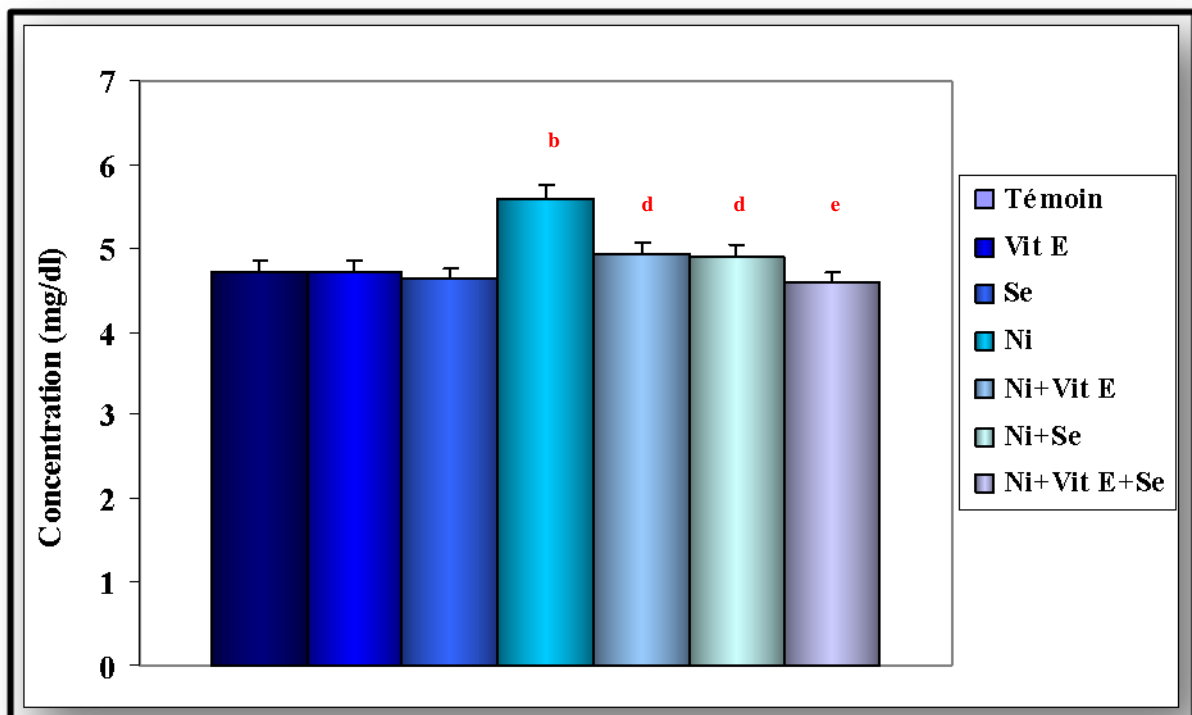


Figure 32 : Représente la variation de la concentration sérique en acide urique (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

2.3. Bilan lipidique

2.3.1. Cholestérol

Les résultats obtenus révèlent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la concentration sérique du cholestérol chez le lot traité au Ni (+28,32%), une augmentation significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité par la combinaison nickel et le sélénium (+6,65%) et la combinaison nickel et vitamine E (+6,69%) par rapport aux groupe témoins. En revanche, l'administration du sélénium et de la vitamine E chez le lot traité au nickel a amélioré de sorte significative l'effet du toxique de nickel.

En revanche, on enregistre une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez les rats traités par les combinaisons (Ni+Vit E, Ni+Se et Ni+Vit E+Se) comparativement au lot traité au sulfate de nickel (Tableau 13, figure 33).

2.3.2. Triglycérides

L'analyse du taux des triglycérides révèle l'existence d'une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) significative chez les rats traités au Ni (+14,13%) par rapport aux témoins. Cependant, on ne note aucune différence significative chez les lots reçus une addition du sélénium et/ou vitamine E par rapport au lot témoin.

Alors que, comparativement au lot traité par le sulfate de nickel, il existe une différence significative ($p < 0.05$) chez les lots traités par Ni+Vit E et Ni+Se, avec une différence très hautement significative ($p < 0.001$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se (Tableau 13, figure 34).

2.3.3. Lipides totaux

D'après le tableau 13 et la figures 35, la concentration sérique des lipides totaux augmente de façon très hautement significative ($p < 0.001$) chez le lot traité par le sulfate de nickel (+17,57%) et une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le lot traité par le nickel et la vitamine E (+4,14%) par rapport au lot témoin; en revanche, on n'enregistre aucune différence significative chez le lot traité par sélénium, la vitamine E et les combinaisons

(Ni+Se et Ni+Vit E+Se) par rapport au lot témoin.

D'après nos résultats, on enregistre une différence très hautement significative ($p < 0.001$) chez les lots traités par la vitamine E et/ou le sélénium comparativement aux rats traités au sulfate de nickel.

Tableau 13: Représente la variation de quelques paramètres lipidiques (cholestérol, triglycérides et lipides totaux) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux						
	<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
<i>Cholestérol</i> (mg/dl)	85,47 ± 7,74	84.81± 7.50	84.69± 7.50	109.68± 7.70 ^c	91.19± 2.90 ^{af}	91.16± 4.42 ^{af}	83,95 ±2,46 ^f
%	-	-0,77%	-0,91%	+28,32%	+6,69%	+6,65%	-1,77%
<i>Triglycérides</i> (mg/dl)	77,45 ± 6,89	76.95± 6.91	76.02± 7.85	88.40± 6.79 ^b	82,20± 3,73 ^d	81,48 ± 2,59 ^d	76,70±4,80 ^f
%	-	-0,64%	-1,84%	+14,13%	+6,13%	+5,20%	-0,96%
<i>Lipides totaux</i> (mg/dl)	332,03 ± 15,88	331,59 ± 16,50	328,02± 16,07	390,39 ± 12,87 ^c	345,80 ± 11,25 ^{af}	340,60 ± 17,13 ^f	330,25 ± 15,55 ^f
%	-	-0,13%	-1,20%	+17,57%	+4,14%	+2,58%	-0,35%

^a : Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05).

^b : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01).

^c : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001).

^d : Différence significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,05).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,001).

P : Seuil de signification.

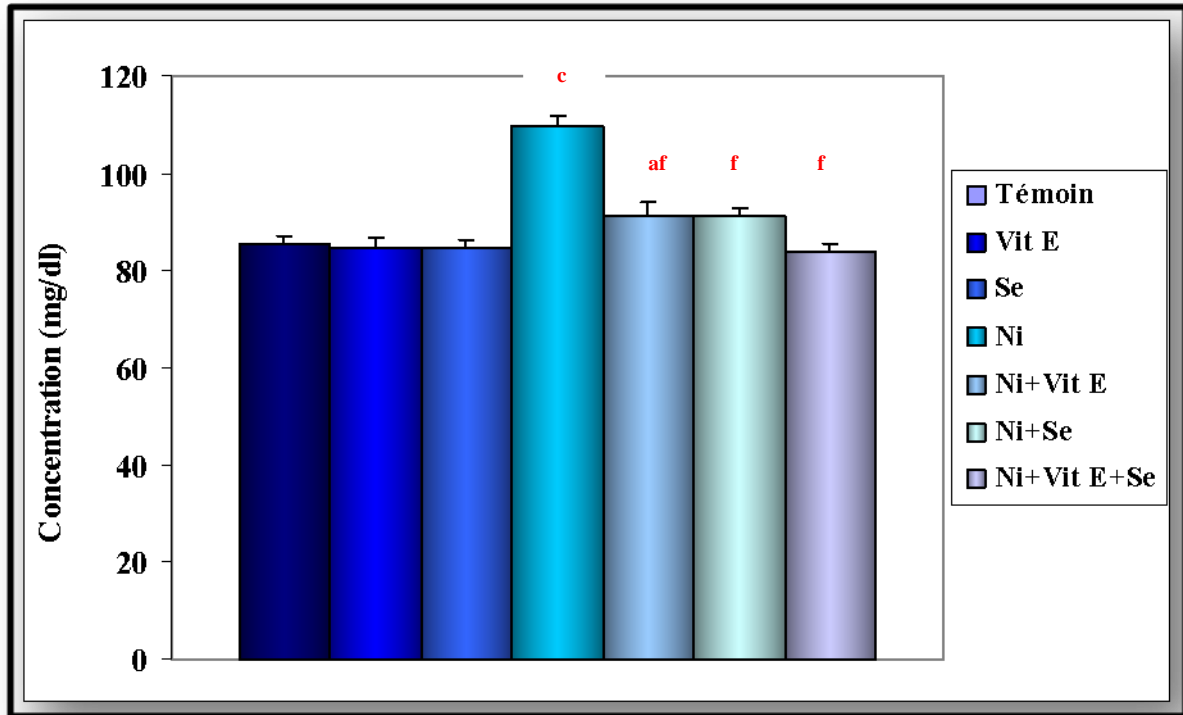


Figure 33 : Représente la variation de la concentration sérique en cholestérol (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

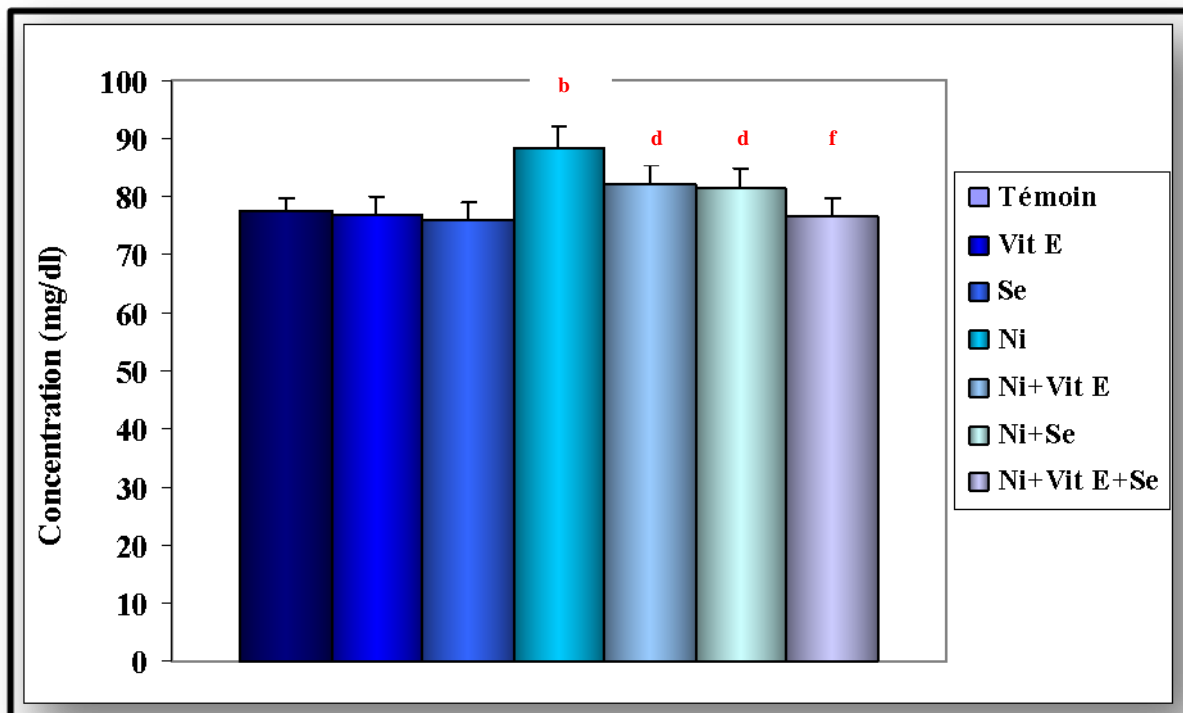


Figure 34 : Représente la variation de la concentration sérique en triglycérides (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

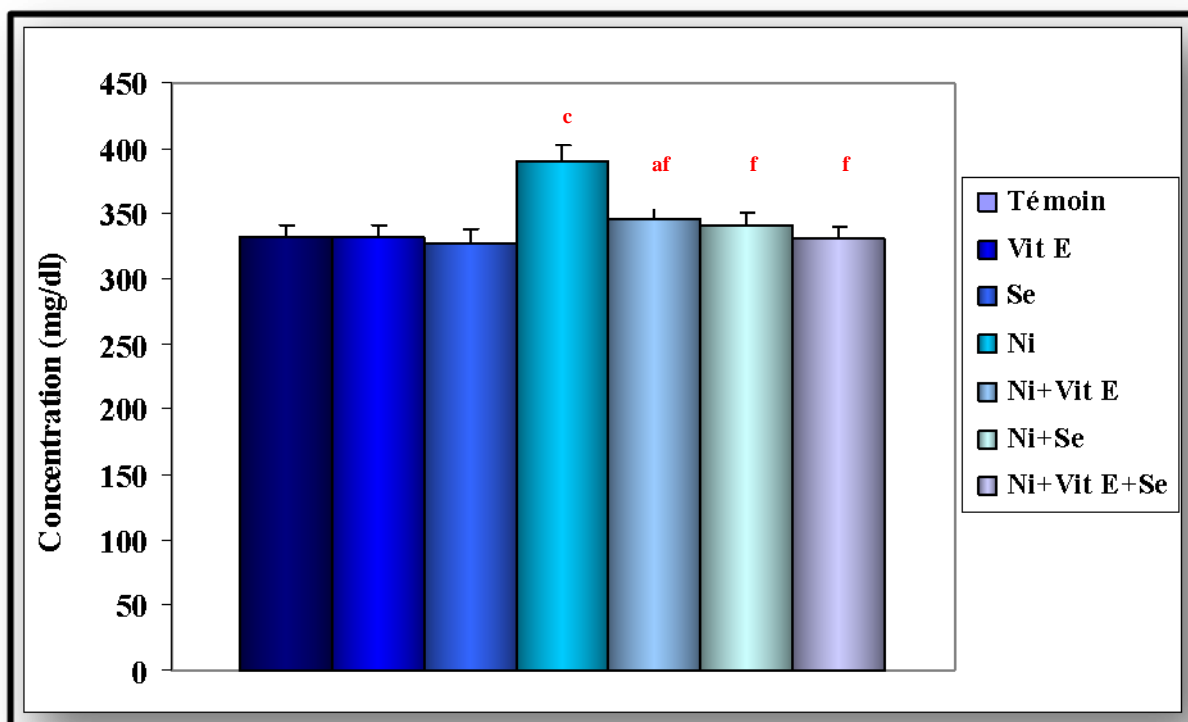


Figure 35: Représente la variation de la concentration sérique des lipides totaux (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

2.4. Bilan hépatique et enzymatique

2.4.1. Transaminases

Le traitement des rats par le sulfate de nickel induit une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la concentration enzymatique du TGO (+83,35%), une augmentation significative ($P \leq 0,01$) du TGP (+51,79%), une augmentation significative du TGO (+31,76%) et TGP (+20,56%) chez les lots traités par le nickel et la vitamine E, et une augmentation significative ($P \leq 0,05$) des transaminases chez le lot traité par la combinaison Ni+Se comparativement au groupe témoin. Par contre au note aucune différence significative de la concentration enzymatique des transaminases chez les rats traités uniquement par le sélénite de sodium et uniquement par la vitamine E et la combinaison Ni+Vit E+Se comparant aux rats témoins.

En revanche, comparativement au lot traité au sulfate de nickel, on enregistre une

différence hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration enzymatique du TGO chez les rats traité par le Ni+Vit et Ni+Se avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se. Entre autre, nos résultats montrent une différence significative ($P \leq 0,05$) de la concentration enzymatique du TGP chez les ratés par le Ni+Vit E et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les combinaisons Ni+Se et Ni+Vit E+Se par rapport au lot traité au nickel (Tableau 14, figure 36 et 37).

2.4.2. Phosphatase alcaline

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la phosphatase alcaline chez les rats traités par le sulfate de nickel (+39,34%) par rapport aux rats témoins, en revanche on note aucune différence significative chez les rats traités par le sélénium, la vitamine E et la combinaison Nickel et vitamine E, Nickel et sélénium et enfin la combinaison Ni+Vit E+Se, toujours par rapport aux rats témoins.

Par ailleurs, on enregistre une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration enzymatique de la phosphatase alcaline chez les lots traités par le Ni+Vit E et Ni+Se et une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se comparativement au lot traité par le sulfate de nickel seul (Tableau 14, figure 38).

2.4.3. α amylase

Les résultats illustrés dans le tableau 14 et figure 39, montrent que la concentration enzymatique de la α amylase augmente d'une façon statistiquement hautement significative ($P \leq 0,001$) chez les rats traités au nickel (+6,64%) par rapport aux témoins. Aussi, on note une augmentation significative de cette enzyme chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E (+3,84%). Par contre, aucune différence significative chez les lots traités par la vitamine E seul, le sélénium seule et les combinaisons Ni+Se et Ni+Vit E+Se comparativement au lot témoin.

Entre autre, comparativement au lot traité par le nickel, on enregistre une différence significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se.

2.4.4. Bilirubine totale

L'administration de sulfate de nickel chez les rats induit une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration plasmatique en bilirubine totale (+41,37%), ainsi qu'une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité par Ni+Vit E et Ni+Se. Tandis que, nos résultats ne montrent pas de variations statistiquement significatives chez les rats traités par Vit E ; Se ; Ni+Vit E+Se comparant aux rats témoins.

Nos résultats montrent une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez le traité par la combinaison Ni+Vit E+Se comparativement aux rats traités par le sulfate de nickel (Tableau 14, figure 40).

2.4.5. Bilirubine directe

Nos résultats exposent que l'administration de du sulfate de nickel (+57,14%) chez les rats provoque une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) et chez le lot traité par le Ni+Vit E on a enregistré une augmentation significative ($P \leq 0,05$) de la teneur plasmatique en Bilirubine directe (+32,35%). Par contre, chez les rats traités uniquement par le sélénite de sodium, la vitamine E et par les combinaisons Ni+Se et Ni+Vit E+Se, on n'enregistre aucune différence significative comparant aux rats témoins.

Par ailleurs, on enregistre une différence significative ($P \leq 0,05$) chez le lot traité par le Ni+Se et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se par rapport au lot traité par le nickel (Tableau 14, figure 41).

Tableau 14 : Représente la variation de quelques paramètres hépatiques et enzymatiques (TGO, TGP, PAL, α amylase, bilirubine totale et directe) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel; la vitamine E sous forme de α -tocophérol; le sélénium sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+ Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux						
	Témoin	Vit E	Se	Ni	Ni+Vit E	Ni+Se	Ni+Vit E+Se
TGO (UI/L)	88,00± 27,27	87,95± 27,32	87,42± 26,98	161,35± 23,70 ^c	115,95± 28,88 ^{ae}	117,52± 35,49 ^{ae}	88,69±23,50 ^f
%	-	-0,05%	-0,65%	+83,35%	+31,76%	33,54%	+0,78%
TGP (UI/L)	39,00± 7,26	38,47± 6,92	38,82± 7,10	59,20± 16,56 ^b	47,02± 7,37 ^{ad}	41,80± 4,40 ^e	36,92±10,64 ^e
%	-	-1,35%	-0,46%	+51,79%	+20,56%	+7,17%	-5,33%
PAL (UI/L)	131,67± 19,14	131,01± 19,37	129,36± 17,02	183,48± 19,50 ^c	146,29± 20,21 ^e	147,79± 19,30 ^e	129,18±12,72 ^f
%	-	-0,50%	-1,75%	+39,34%	+11,10%	+12,24%	-1,89%
α amylase (UI/L)	428,50± 16,22	429,00± 12,76	427,63± 15,83	456,97± 19,93 ^b	444,96± 15,55 ^a	441,85± 17,31	437,50±16,87 ^d
%	-	+0,11%	-0,20%	+6,64%	+3,84%	+3,11%	+2,10%
Bilirubine totale (mg/dl)	1,16± 0,24	1,16± 0,24	1,13± 0,24	1,64± 0,40 ^b	1,41± 0,19 ^a	1,40± 0,56 ^a	1,15±0,15 ^e
	-	0%	-2,58%	+41,37%	+21,55%	+20,68%	-0,86%
Bilirubine directe (mg/dl)	0,70± 0,32	0,70± 0,31	0,69± 0,33	1,10 ± 0,21 ^b	0,93 ± 0,17 ^a	0,91 ± 0,23 ^d	0,69±0,27 ^e
%	-	0%	-1,42%	+57,14%	+32,35%	+30%	-51,70%

- a** : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$).
- b** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- c** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).
- d** : Différence significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,05$).
- e** : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,01$).
- f** : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$).
- P : Seuil de signification.

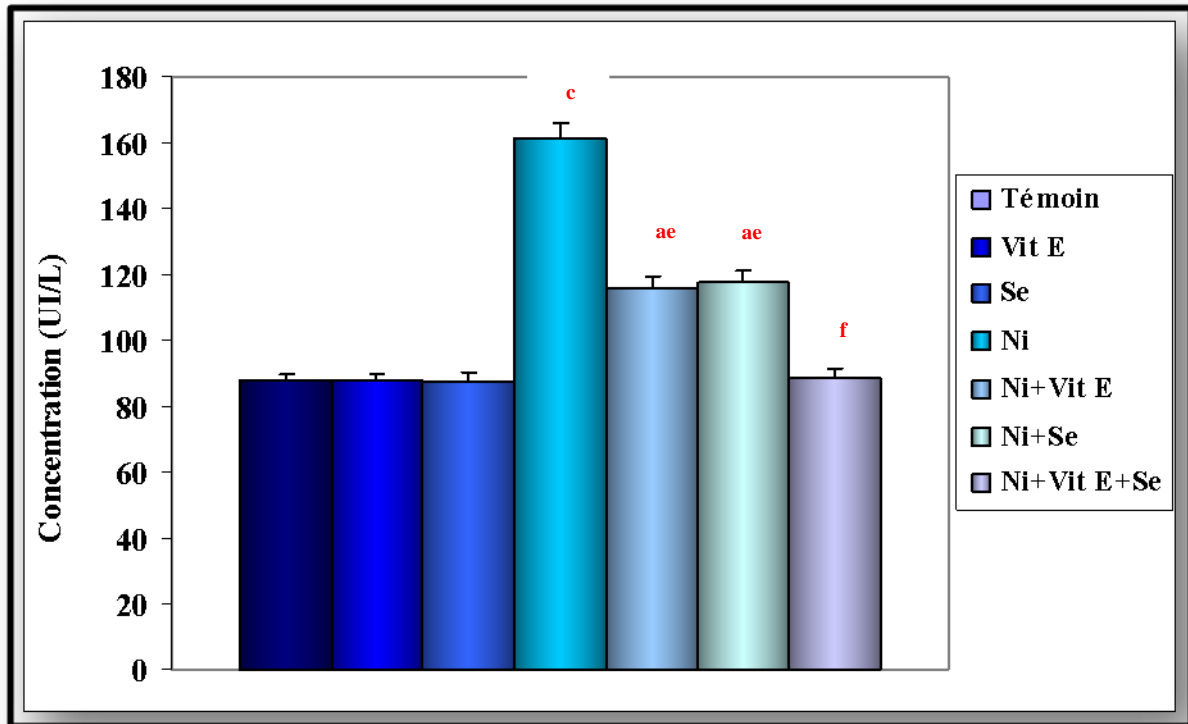


Figure 36 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la TGO (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

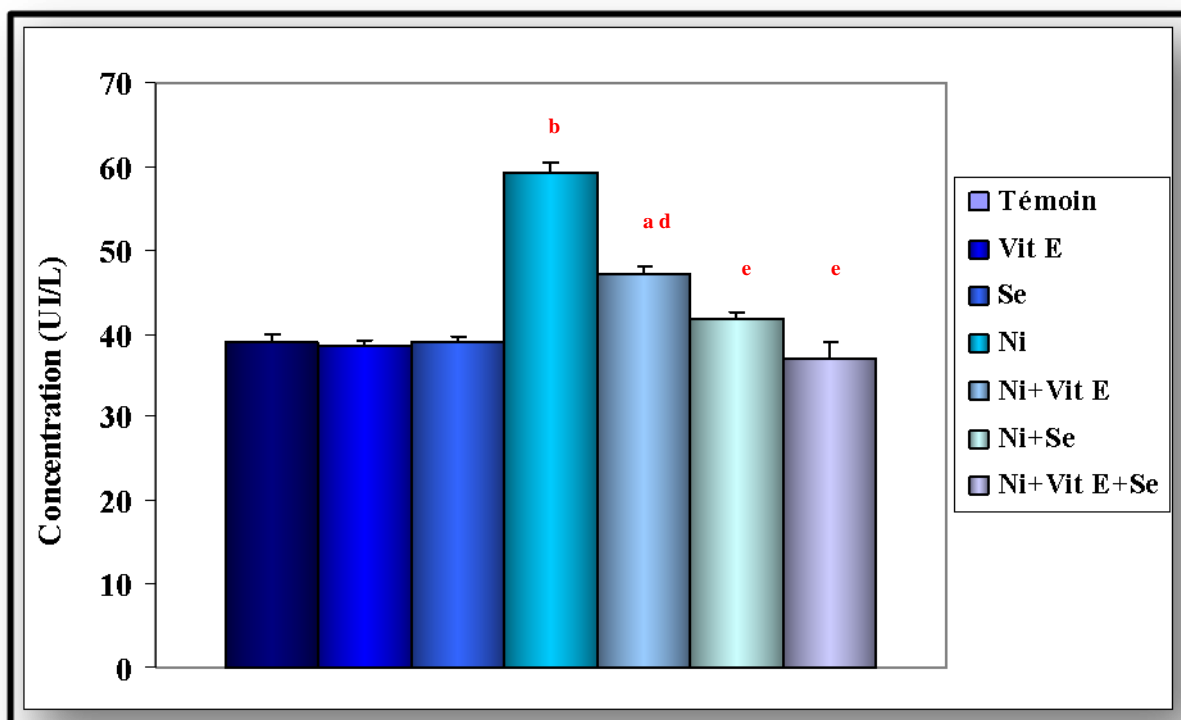


Figure 37 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la TGP (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

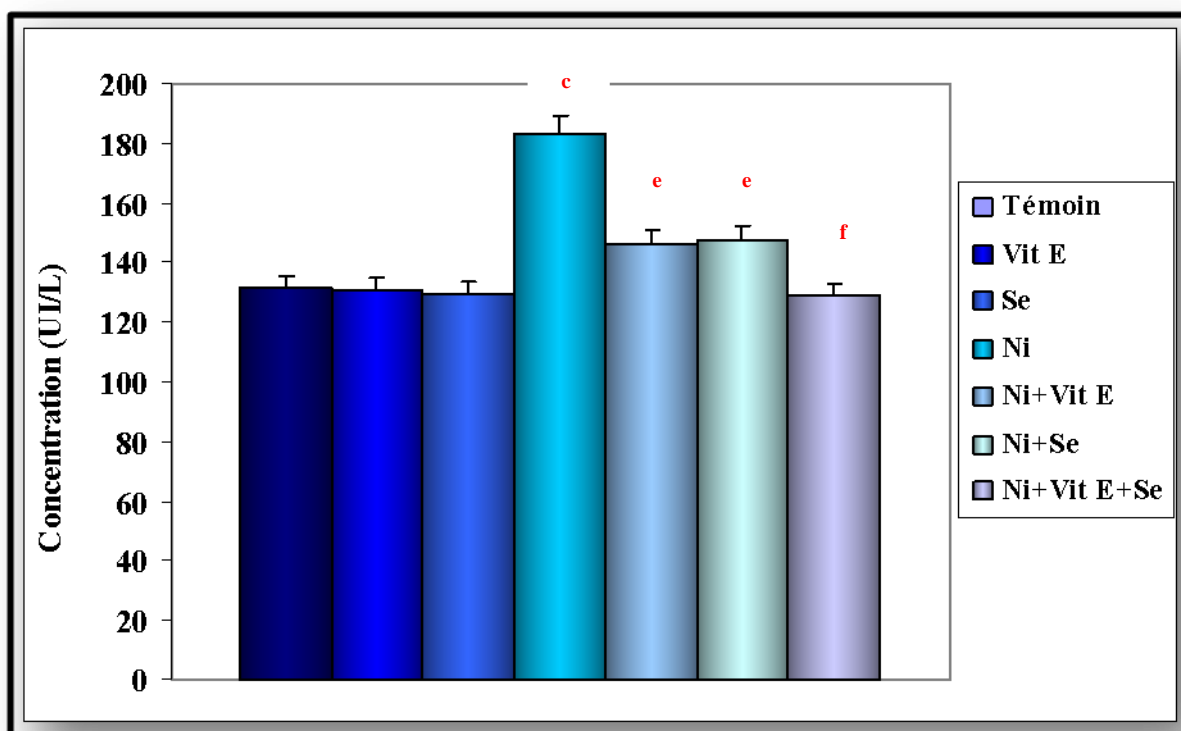


Figure 38 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la PAL (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

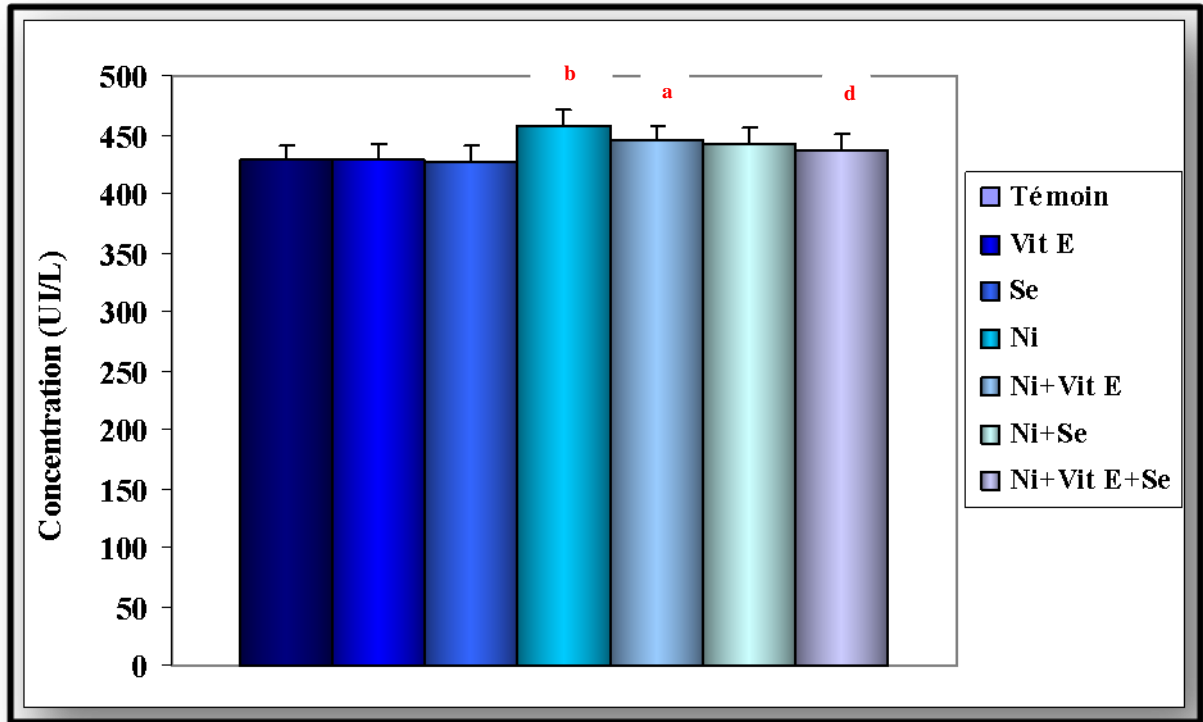


Figure 39 : Représente la variation de l'activité enzymatique de la α amylase (UI/l) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

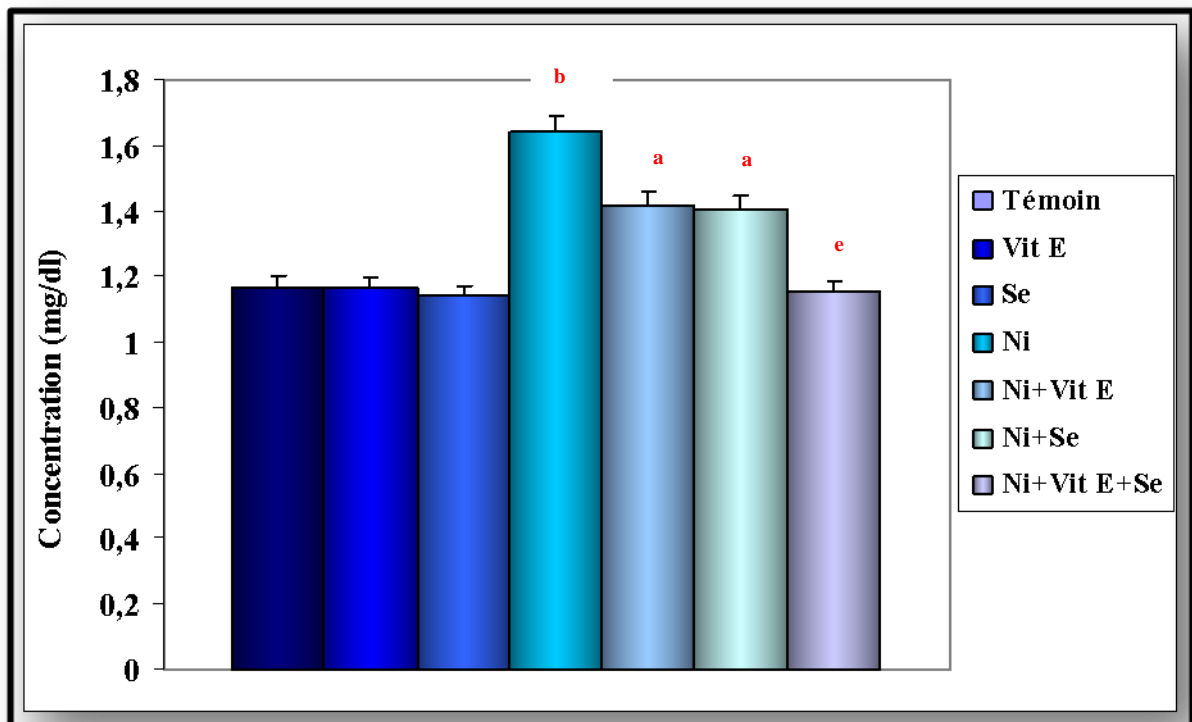


Figure 40 : Représente la variation de la concentration sérique de la bilirubine totale (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

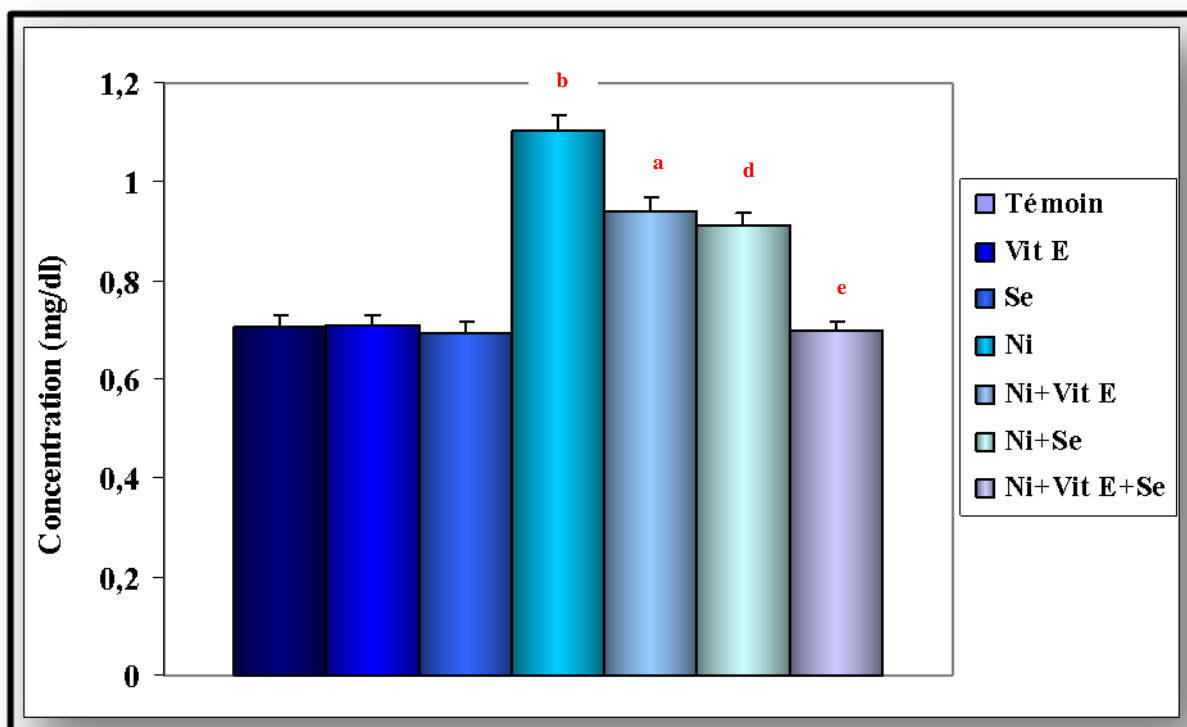


Figure 41 : Représente la variation de la concentration sérique de la bilirubine directe (mg/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

DISCUSSION

Il a été enregistré une augmentation significative du glucose sérique chez les rats traités au sulfate de nickel par rapport aux témoins. Des changements similaires de la concentration sérique de glucose ont été observées chez les rats traités avec une solution de nickel (4 mg (30 μ mol)/kg du poids corporel) (Hfaiedh *et al*, 2008) et chez les rats traités avec du sulfate de nickel (20 mg / kg de poids corporel, ip) (Pari et Prasad, 2008).

Le traitement au nickel a entraîné des perturbations du métabolisme des glucides qui se manifeste par une augmentation du taux sérique du glucose, ou il bloque l'utilisation du glucose par les cellules et mène à la présence d'une concentration élevée d'insuline (Eva et Sunderman, 1975 ; Sunderman *et al*, 1976 ; Gisela *et al*, 1981).

L'augmentation de la glycémie résulte probablement de l'effet inhibiteur de nickel sur la libération d'insuline par le pancréas ou des effets directs sur le pancréas (Mathur et Tandon, 1979).

D'autres études ont montré que le nickel inhibe la libération d'insuline dans les îlots de rat en réponse à des différents stimuli. Ces études suggèrent une possible implication de nickel dans la libération de l'hormone pancréatique. Des études ont également suggéré que le nickel peut provoquer une hyperglucagonémie qui semble être responsable d'une hyperglycémie (Sanjay *et al*, 2000).

Il a également été rapporté que le Ni peut augmenter l'excrétion urinaire de corticostéroïdes, en outre les glucocorticoïdes diminuent l'absorption du glucose périphérique et stimulent la libération de glucagon qui explique l'hyperglycémie chez les rats traité au nickel (Jordi et Luis, 1992; Horak *et al*, 1975). Cette hyperglycémie est donc due aux effets du stress oxydant induit par le nickel

Tandis que, la diminution des taux sériques en glucose vers le niveau de contrôle a été remarqué chez les rats administrés par le sélénium seul, la vitamine E seul et Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se peut être due à la capacité du sélénium et de la vitamine E de neutraliser les ROS avant qu'ils ne causent des dommages (Bansal *et al.*, 2005) ainsi que la supplémentation de la vitamine E pourrait modifier les récepteurs d'insuline des tissus musculaires et adipeux par l'augmentation de la perméabilité de la membrane afin d'améliorer l'absorption du glucose (Bierenbaum *et al.*, 1985 ; Moorthi *et al*, 2006). Nos résultats sont en accord avec les résultats antérieurs de Faure, *et al*, 2009.

Dans la présente étude, une diminution significative du niveau de l'albumine et de protéines plasmatiques a été enregistrée chez le lot traité par le sulfate de nickel. Les résultats des études de Mandava *et al*, 2009 ont démontré aussi une baisse significative du taux des protéines après un traitement au nickel chez les souris. Cette réduction peut être expliquée par ; le fait que les ions de nickel ont une très grande affinité pour les protéines et les acides aminés possèdent des groupements (SH, OH) et capable de produire l'oxydation des protéines dans les cellules. La liaison du nickel avec de certaines protéines de la chromatine dans les cellules somatiques peut entraîner des dommages oxydatifs et structurelles importantes (Costa *et al*, 1994; Kasprzak, 2003).

Par ailleurs, l'injection du sélénium et/ou la vitamine E aux groupes traités au nickel, aide à élever le contenu des protéines, il l'apporte presque aux limites normales et d'autres études

similaire ont montré l'effet protecteur du sélénium et de la vitamine E (Karakilçik *et al*, 2009; El-Demerdash *et al*, 2009).

Nous avons constaté une augmentation de la concentration sérique des triglycérides du cholestérol et des lipides totaux chez les rats traités au nickel par rapport aux témoins. Des études similaires ont été observés chez les rats traités avec du sulfate de nickel (20 mg / kg de poids corporel, ip) (Das *et al*, 2006). Ils ont trouvé que le traitement au nickel a entraîné des perturbations du métabolisme lipidique qui se manifeste par une augmentation des taux sériques de cholestérol et de triglycérides. Notre étude est concomitante à celle de Hfaiedh *et al*, 2008.

Ces résultats peuvent être expliqué par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus lipidiques pour assure l'énergie nécessaire aux fonctions vitale de l'organisme, avec diminution de l'absorption d'acides gras par le tissu adipeux (Gupta *et al*, 2008).

Par contre, le traitement avec le sélénium et/ou Vit E a relativement améliorée le profil lipidique chez le lot traité par le nickel, ces résultats sont en accord avec les d'autres études (Bansal *et al*, 2005; Lehr *et al*, 1999). Entre autre la vitamine E est un antioxydant important qui diminue la peroxydation des lipides insaturés par radicaux libres; Il contribue ainsi à la stabilité des membranes cellulaires. Il existe des interactions entre les groupes méthyles du tocophérol (vitamine E) et de la double liaison cis des acides gras insaturés à créer une stabilité dans les phospholipides de la membrane cellulaire (Gupta *et al*, 2008; Lieber, 1993). Tandis que le sélénium a influencé sur le profile lipidique par son pouvoir au niveau des enzymes antioxydantes qui permettent non seulement la suppression de la toxicité ROOH mais elles permettent aussi la régénération des molécules lipidiques par le recyclage au niveau de la membrane cellulaire (Karakilçik *et al*, 2003).

La membrane basale glomérulaire des reins n'a pas l'habitude de permettre le passage des protéines de grande taille, et l'excrétion de ces protéines est actuellement l'un des indices d'un dysfonctionnement rénal.

Notre étude sur la fonction rénale à montré une augmentation des taux sériques en l'urée, en créatinine et en acide urique chez les rats traités par le nickel, est considérée comme

un biomarqueur du dysfonction rénale et les dommages rénaux provoqué par le nickel (Prasad *et al*, 1995, Novelli *et al*, 1998). Le niveau accru des marqueurs rénaux après un traitement au nickel reflète son interaction avec la membrane cellulaire, conduisant à modifiée la perméabilité de ces membranes (Prasad *et al*, 2006), l'intoxication par le nickel et de nombreux métaux lourds, induit un dysfonctionnement tubulaire ou une néphropathie tubulo-interstitielle, qui évolue vers une insuffisance rénale. Sur le plan clinique, la néphropathie tubulo-interstitielle chronique est diagnostiquée par l'augmentation de l'urée et/ou de la créatinine sanguines expliqué par l'augmentation du catabolisme protéique, puisque ces dernières peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine en présence de certains facteurs (Hfaïedh *et al*, 2005) est en accord avec nos résultats.

le nickel influence sur l'activité de l'ADN et l'ARN polymérase, il provoque ainsi la dégradation intense du matériel génétique, ce qui conduit au catabolisme des bases pyrimidiques (Das et Das, 2004) et enfin la libération de l'acide urique, l'un des antioxydants hydrosolubles endogènes majeurs de l'organisme (Delattre *et al*, 2005). Ce qui explique l'augmentation de la concentration sérique en acide urique chez le lot traité par le sulfate de nickel.

Dans le présent travail, nous avons étudié l'efficacité du sélénium et de la vitamine E contre la néphrotoxicité induite par le nickel. L'administration du sélénium et/ou de la vitamine E chez les lots traités par le nickel par voie intrapéritonéale protège la fonction rénale de l'intoxication du nickel, comme il est indiqué par une restauration significative de l'urée plasmatique, de la créatinine ainsi que de l'acide urique. Des études récentes ont montré que le sélénium a des effets protecteurs contre les dommages rénaux induits par certains métaux lourds comme le chrome (Soudani *et al*, 2010). Les auteurs suggèrent aussi que la vitamine E est un agent de protection efficace pour les reins car il augmente les processus de défense cellulaire vis-à-vis les effets cytotoxiques du stress oxydant induit par le nickel et réduise la production des radicaux libres (Al-Attar, 2011).

Nos résultats révèlent aussi une augmentation de l'activité enzymatique de l' α amylase, qui peut être expliqué par des changements dans la synthèse et la sécrétion de cette enzyme au niveau du pancréas traduisant les troubles de la fonction de cet organe (Dormer *et al*, 1973).

L'administration de la vitamine E et du sélénium a rétabli l' α amylase à la normale ce qui indique l'amélioration des fonctions pancréatiques grâce à l'amélioration de la perméabilité membranaire (El-Demerdash *et al*, 2009), ce qui confirme nos précédents résultats ou on a enregistré une amélioration de la concentration sérique en glucose chez les lots traités par les combinaisons Vit E et/ou Se chez les rats traités au sulfate de nickel.

Dans plusieurs organes, les dommages cellulaires sont suivis par la libération d'un certain nombre d'enzymes cytoplasmiques dans le sang, un phénomène qui fournit la base pour le diagnostic clinique. Dans la présente étude, la toxicité du au traitement du nickel a été incontestablement prouvée par l'augmentation de l'activité enzymatique de l'ASAT (aspartate aminotransferase), ALAT (alanine aminotransferase) et de la PAL (phosphatase alcaline) ce qui montrant que certains organes ou tissus ont été endommagés. Ces paramètres hépatiques ont été considérés comme un outil considérable afin d'étudier la viabilité des différentes cellules et les différents changements de la perméabilité des membranes cellulaires (Vonen and Morland, 1984; Misra *et al*, 1990).

L'augmentation sérique des aminotransférases est liée à l'effet hépatotoxique du nickel, nos résultats sont cohérents avec les résultats de Misra *et al*, 1990; après le traitement des rats male par 107 μ mol/kg d'acétate de nickel.

L'augmentation est probablement attribuée à une atteinte hépatique résultant en une libération accrue d'enzymes fonctionnelles de la biomembranes ou sa synthèse accrue. Selon d'autres mécanismes, une augmentation de l'activité enzymatique du TGO, de TGP et de la phosphatase alcaline à cause d'une fuite de ces enzymes qui peuvent être dues à des lésions tissulaires enjointrai par la toxicité du nickel entraînant ainsi la perméabilité des membranaires altérées, ce dernier étant la condition nécessaire pour la libération de ces enzymes à partir de le tissu dans le plasma (Pardeep *et al*, 2004; Leelavinothan et Kasinathan, 2011; Pari et Prasath, 2008; El-Elaimy et El-Nabi, 1990).

D'après nos résultats, le traitement par le sélénium et/ou la vitamine E a amélioré les l'activité des enzymes étudié, cette étude est en accord avec celle observée par (Abdelaziz and Ashour, 2011). Mais l'effet du traitement de sélénium était plus puissant que chez le groupe traité à la vitamine E. En effet le sélénium est connu par sa capacité antioxydante afin d'inhiber les processus oxydatifs des lipides et des lipoprotéines dans les membranes

cellulaires par le biais de sa relation interactive avec les métabolites intermédiaires (Ozardalia *et al*, 2004; Karakilçik *et al*, 2003).

Des études récentes ont montré que le sélénium a un effets protecteurs contre les dommages du foie induite par certains métaux lourds comme l'arsenic (Nielson, 1995) et le chrome (Ozardalia *et al*, 2004) indiquant l'importance du rôle du sélénium dans la protection de l'intégrité et le fonctionnement des tissus et des cellules hépatiques par son interaction avec certains métabolites intermédiaires produits suite à un effet stressant du nickel sur les lipides insaturés des membranes cellulaires d'une part.

D'autre part, la vitamine E et le sélénium sont bien connus par leurs capacités d'inhiber le processus oxydative des lipides et des lipoprotéines au niveau des membranes cellulaires, ce qui assure la stabiliser des membranes cellulaires hépatiques et de protéger les hépatocytes contre les effets toxiques du nickel qui permet ainsi de diminuer la fuite des enzymes dans la circulation sanguine (McPherson, 1994).

L'élévation observée de la concentration sérique de la bilirubine totale et directe chez les rats traités par le sulfate de nickel est aussi compatible avec la présence de lésions hépatiques qui est un indicateur de la présence d'une hyperbilirubinémie est clairement démontre par (Leelavinothan and Kasinathan, 2011).

Chez le lot traité par la combinaison sélénium et/ou vitamine E, on a constaté précédemment que le sélénium et la vitamine E peuvent stabiliser la membrane cellulaire hépatique contre les différentes répercussions cellulaire provoquer par l'effet hépatotoxique du nickel. Cela peut être attribué à la propriété antioxydante du sélénium et de la vitamine E (Karakilçik *et al*, 2003 Soudani *et al*, 2011).

3. Paramètres hématologiques

3.1. Nombre des globules rouges et taux d'hémoglobine

Selon le tableau 16 et les figures 42 et 43, chez le lot traité par le sulfate de nickel nous avons constaté une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux d'hémoglobines (-5,36%) et du nombre des globules rouges (-5,74%) comparativement au lot témoin et une diminution significative ($P \leq 0,05$) du nombre des globules rouges (GR) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E par rapport au rats témoin. Par ailleurs, il n'existe aucune différence significative chez le lot traité par la Vit E, Se et les combinaisons Ni+Se et Ni+Vit E+Se.

Par contre, on enregistre une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux d'hémoglobines et du nombre des globules rouges chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se. Entre autre, il existe une différence significative ($P \leq 0,05$) du nombre des globules rouges chez le lot traité par le Ni+Vit E et le lot traité par le Ni+Se comparativement aux rats traités par le nickel.

3.2. Nombre des globules blancs

Nos résultats révèlent l'existence d'une légère augmentation significative ($P \leq 0,05$) des lots traités par les combinaisons Ni+Se (+9,57%) et Ni+Vit E+Se (+9,32%) du nombre de globules blancs (GB) comparant au groupe témoin. Par contre, aucune différence significative chez les lots traités par le Ni, Vit E, Se, Ni+Vit E+Se comparativement au lot témoin.

Par ailleurs, il existe une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) du nombre de globules blancs chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se par rapport au lot traité par le sulfate de nickel (Tableau 15, figure 44).

3.3. Volume globulaire moyen et du taux de l'hématocrite

Le traitement des rats par le sulfate de nickel, entraîne une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) du taux d'hématocrite (-12,54%) et une diminution significative ($P \leq 0,05$) du volume globulaire moyen (VGM) comparativement aux rats témoins (-5,91%) (Tableau 15, figure 45). En revanche, chez les rats traités par la combinaison Ni+Vit E on

enregistre une différence significative ($P \leq 0,05$) du taux de l'hématocrite et aucune différence significative chez les lots traités par la Vit E, Se et les combinaisons Ni+Se et Ni+Vit E+Se en comparaison avec le groupe témoin.

D'après nos résultats, on enregistre une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux d'hématocrite chez les lots traités par le nickel et la vitamine E et/ou le sélénium plus comparativement au x rats traités par le nickel seul. En plus, il existe une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) du VGM des rats traités par la combinaison Ni+Vit E+Se par rapport au lot traité par le sulfate de nickel (tableau 15, figure 46).

3.4. Concentration corpusculaire moyen en hémoglobine et de la teneur globulaire moyenne en hémoglobine

On constate une diminution statistiquement non significative de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine et de la teneur globulaire moyen en hémoglobine chez le lot traité par le nickel comparativement au lot témoin (Tableau 15).

Tableau 15 : Représente la variation du nombre des globules rouges (GR), globules blancs (GB), du taux moyen d'hémoglobine (Hb), du pourcentage d'hématocrite, du volume globulaire moyen (VGM), de la concentration corpusculaire moyen en hémoglobine (CCMH) et de la teneur globulaire moyen en hémoglobine (TGMH), chez les rats témoins et les traités après 21 jours de traitement.

Paramètres	Lots expérimentaux						
	Témoin	Vit E	Se	Ni	Ni+Vit E	Ni+Se	Ni+Vit E+Se
GR ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	8,01± 0,20	8,02± 0,19	8,05± 0,21	7,55± 0,36 ^b	7,81± 0,15 ^{ad}	7,84± 0,15 ^d	8,31±0,45 ^f
%	-	+0,12%	+0,49%	-5,74%	-2,49%	-2,12%	+3,74%
GB ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	7,83± 0,88	7,82± 0,89	7,80± 0,90	7,92± 0,49	7,84± 0,58	8,58± 0,73 ^a	8,56±0,53 ^{ae}
%	-	-0,12%	-0,38%	+1,14%	+0,12%	+9,57%	+9,32%
Hémoglobine (g/dl)	15,09± 0,65	15,10± 0,64	15,19± 0,66	14,28± 0,48 ^b	14,64± 0,29	14,50± 0,72	15,25±0,57 ^f
%	-	+0,06%	+0,66%	-5,36%	-2,98%	-3,90%	+1,06%
Hématocrite (%)	49,28± 3,77	49,35± 3,70	49,53± 3,71	43,10± 0,99 ^b	46,72± 1,35 ^{af}	46,66± 1,17 ^{af}	50,44±1,54 ^f
%	-	+0,94%	+0,50%	-12,54%	-5,19%	-5,31%	+2,35%
VGM (fl)	52,62± 3,77	52,87± 4,05	53,53± 3,45	49,51± 1,25 ^a	50,65± 2,04	51,46± 3,48	52,07±1,37 ^e
%	-	+1,12%	+1,72%	-5,91%	-3,74%	-2,20%	-1,04%
CCMH (pg)	17,87± 0,54	17,94±0, 45	18,01± 0,46	17,82± 0,28	17,98± 0,51	17,84± 0,46	17,79±0,43

TGMH (g/dl)	34,11± 0,78	34,04±0, 81	33,92± 0,36	33,59± 0,80	33,56± 0,77	33,66± 0,60	33,94± 0,57
-------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	-------------

- * : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$).
- ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).
- ^a : Différence significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,05$).
- ^b : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,01$).
- ^c : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$).
- P : Seuil de signification.

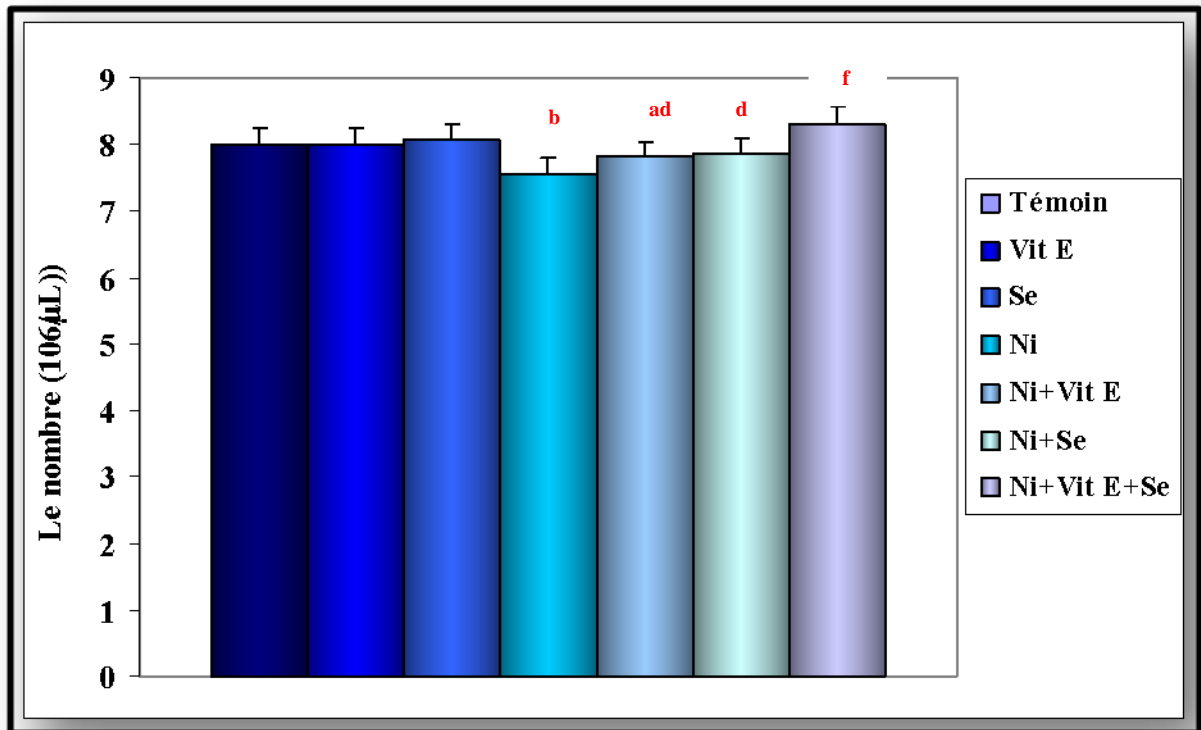


Figure 42: Représente la variation des globules rouges ($10^6/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

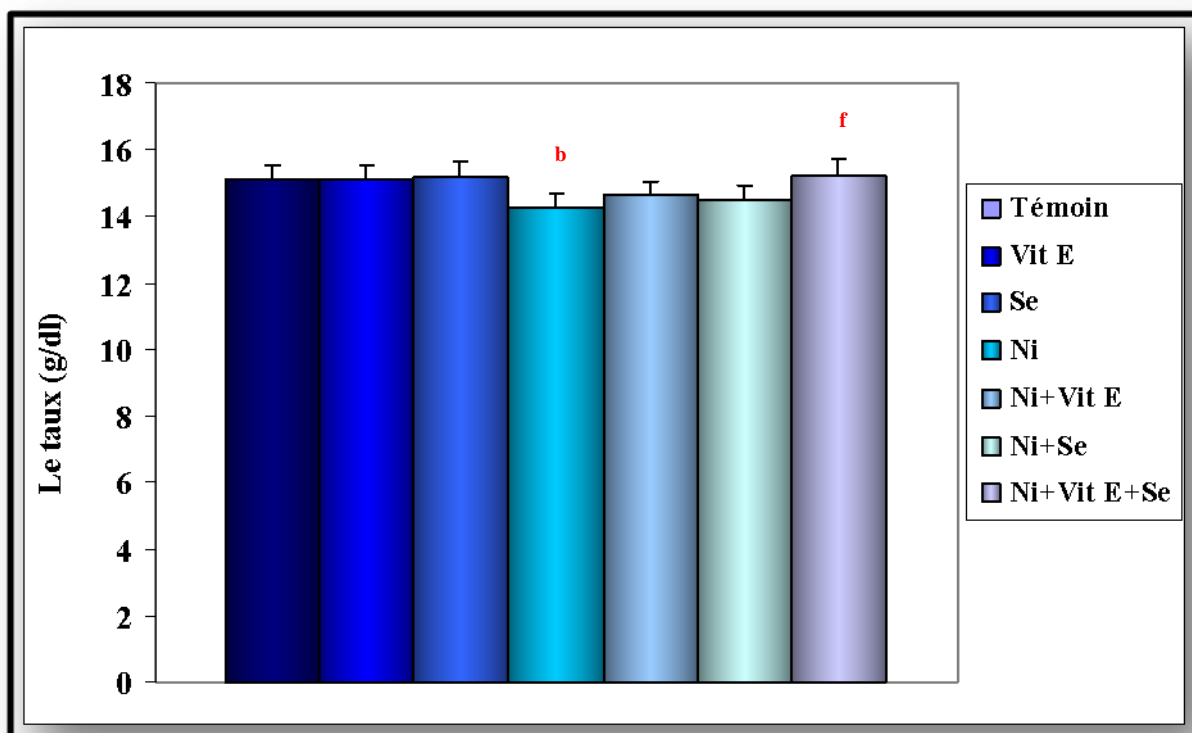


Figure 43: Représente la variation d'hémoglobine (g/dl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

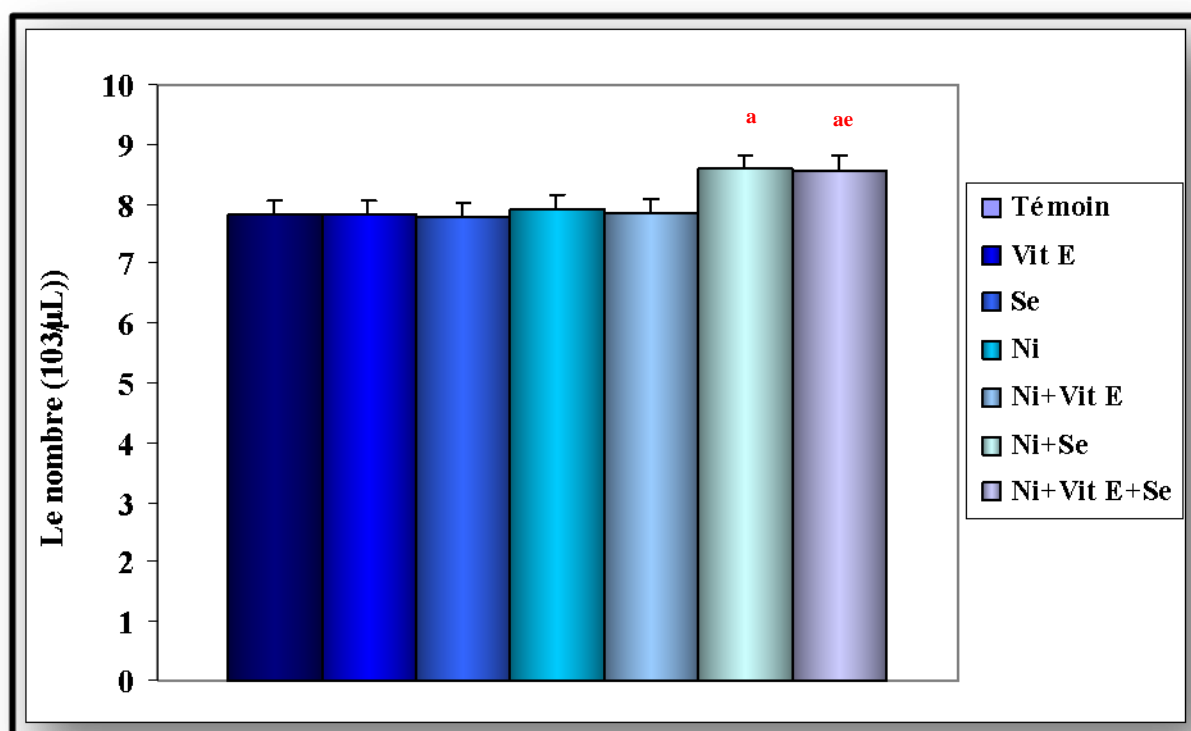


Figure 44: Représente la variation des globules blancs ($10^3/\mu\text{l}$) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

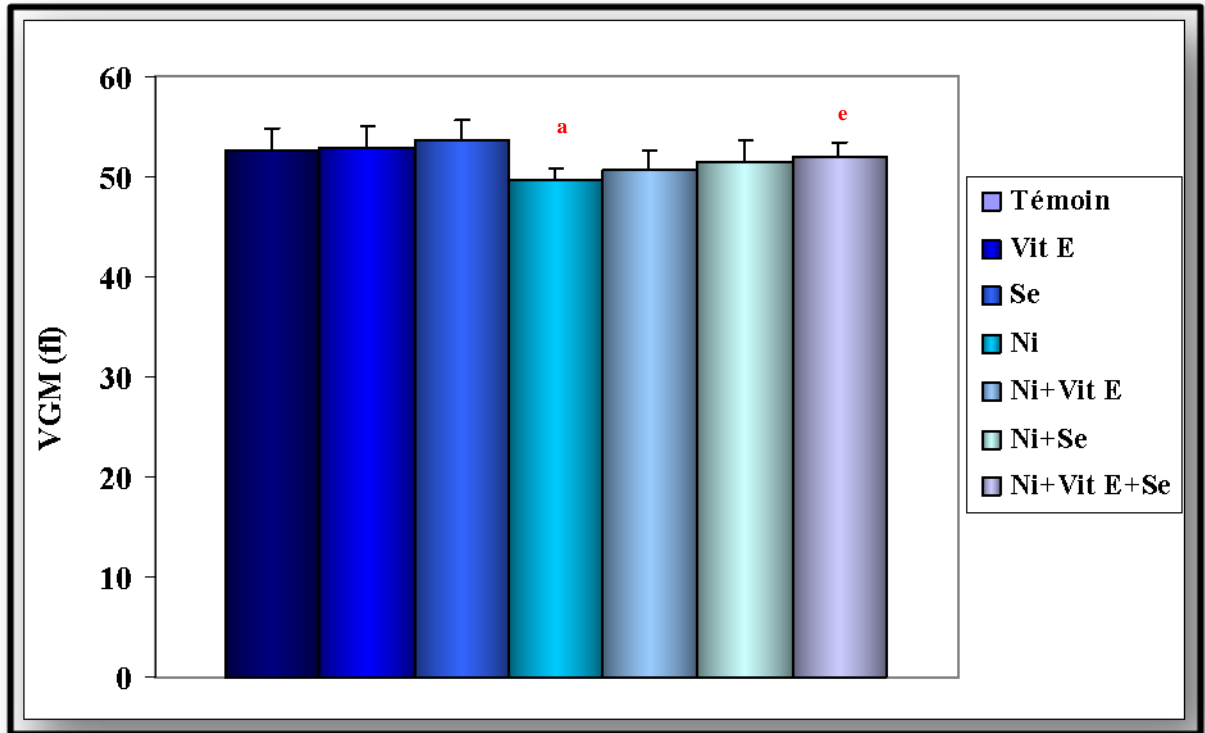


Figure 45: Représente la variation du volume globulaire moyen (fl) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

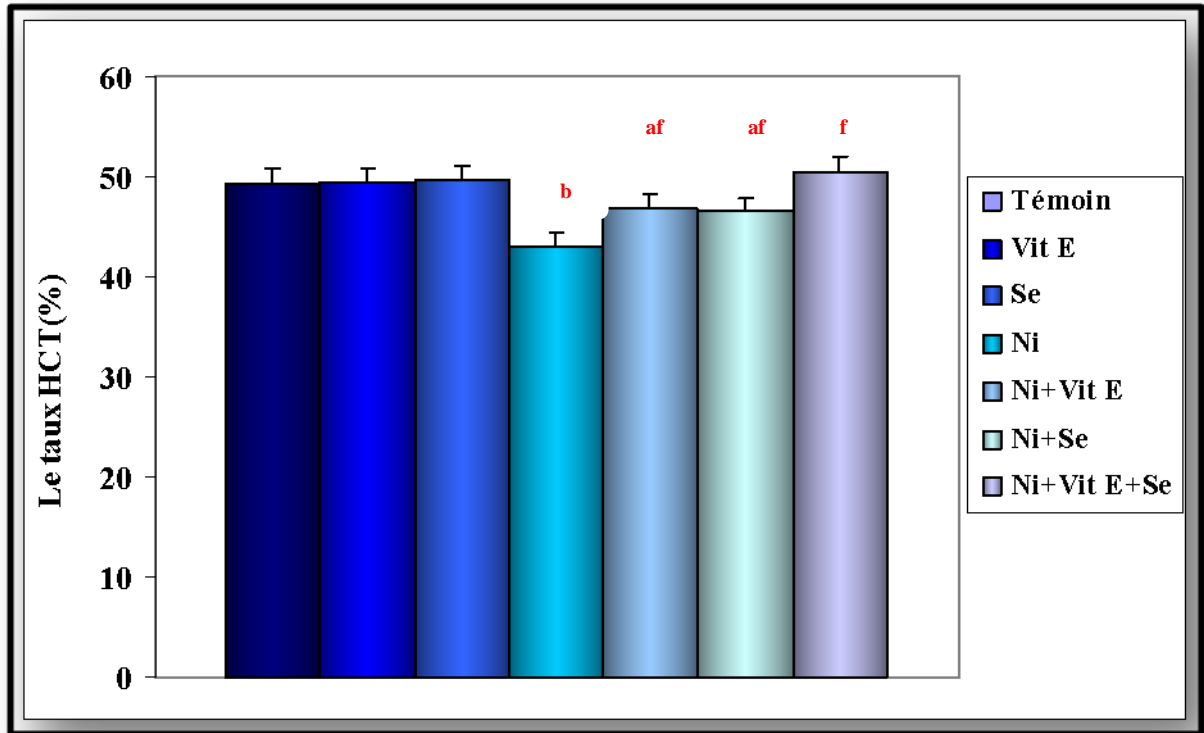


Figure 46: Représente la variation d'hématocrite (%) chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

DISCUSSION

Après le traitement au nickel et comparativement aux rats témoin, d'après nos résultats, l'hémo toxicité se manifeste par une diminution discrète du nombre des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite avec une diminution significative de VGM et aucune différence significative des ; CCMH, TGMH, et cela peut être dû à l'action des métaux lourds d'induire l'hémolyse des globules rouges. Donc on peut dire que le sulfate de nickel a provoqué une anémie (Stohs et Bagchi, 1995).

La peroxydation lipidique est un processus de dégradation induite par le stress oxydatif et se produit facilement dans les tissus riches en acides gras polyinsaturés. La peroxydation des lipides dans les membranes biologiques entraîne des perturbations de l'intégrité structurale, la perte de fluidité, une diminution du potentiel de membranaire, et augmentation de la perméabilité des membranes aux ions. Ces changements conduisent à des ruptures au niveau des membranes et la libération du contenu des cellules. Les membranes des globules rouges sont riches en acides gras polyinsaturés, une cible primaire pour les réactions impliquant les radicaux libres, ce qui a rendu les érythrocytes vulnérable aux dommages oxydatifs (Soudani *et al*, 2011).

Dans la présente étude, la sensibilité à l'hémolyse des érythrocytes en présence du sulfate de nickel pourrait être le résultat d'une diminution de l'érythropoïèse par l'inhibition de la production des globules rouges proérythroblastes et par la destruction des érythrocytes dans les organes hématopoïétiques. Notre conclusion est similaire à la précédente étude d'Okwusidi, 2004, qui relève que l'exposition des métaux lourds à des niveaux élevés de fer trouvés dans les hématies crée des radicaux libres qui sont très destructeur pour la membrane plasmique des érythrocytes.

On a enregistré une diminution de taux d'hématocrite chez les rats traités par rapport aux témoins, même résultats trouvé dans l'étude de Jerry *et al*, 2008. Cette diminution pourrait être due à la diminution de taux d'hémoglobine et la compte d'érythrocytes.

Le chlorure de nickel sensibilise *in vitro* les macrophages du péritoine murin à l'induction de l'expression des gènes des cytokines (Pestha et Zhou, 2006). D'autre part, par voie orale, le traitement au sulfate de nickel n'a pas induit chez nos rats une augmentation des globules blancs et nos résultats sont accord avec ceux rapportés chez le rat par Smialowicz *et al.*, (1985; 1986; 1987) ou le nickel supprime l'activité des cellules NK (Natural Killer) et par Jensen *et al.*, 2004 chez l'homme dans le cas de dermatite de contact, une diminution des sous populations de lymphocytes T dans le sang. D'autre part, le nickel semble augmenter le taux d'altération de l'ADN des leucocytes sanguins chez le rat (Danadevi *et al.*, 2003) et chez l'homme exposé professionnellement (Danadevi *et al.*, 2004).

Par contre, le traitement par le sélénium et/ou la vitamine E a amélioré la concentration sérique des globules rouges, d'hémoglobine et des hématocrites. D'autres études ont considéré le sélénium comme un oligo-élément essentiel qui pourrait être utilisée en tant que complément alimentaire contre l'anémie. Vu le rôle important du sélénium dans la prévention de la formation de radicaux hydroxyyles ainsi que dans la protection des différents fonctions tissulaire. L'effet protecteur du sélénium peut être dû à ses propriétés de stabiliser la membrane cellulaire, bien que l'inhibition de la peroxydation lipidique (Soudani *et al.*, 2011; Inan *et al.*, 1998).

En revanche, On a enregistré une augmentation bien claire des globules blancs chez les rats traités à la combinaison Ni+Se et Ni+Vit E+Se par rapport aux témoins. Cette augmentation constatés dans nos résultats, explique que l'animale mobilise toutes ces capacité de défense (notamment les leucocytes) pour lutter contre les infectieux causés par la présence des xénobiotiques dans son organisme (Srivastava et Narain, 1985; Wataha *et al.*, 2002). Ce qui confirme la présence d'une amélioration du système immunitaire contre l'infection qui pourrait avoir été causé par les toxiques.

L'addition du sélénium et de la vitamine E chez les lots traités par le nickel a induit une augmentation significative de nombre des globules blancs. Ce ci est du au rôle exercé par la synergie de la vitamine E et de sélénium dans la régulation de l'expression des cytokines et des sélénoprotéines pour le bon fonctionnement des cellules du système immunitaire. Donc, il semble que le sélénium et la vitamine E agit comme antioxydants et diminue l'effet toxique du nickel (Levander, 1977).

Les données obtenues suggèrent que la supplémentation en vitamines E et en sélénium touche différents marqueurs sérologiques dans le sérum des rats traité par le nickel, qui suggère que ces antioxydants ont un impact sur les indices biologiques associés à la toxicité du sulfate de nickel. Ils ont une action sur la défense de l'intégrité de la membrane cellulaire contre les agents oxydants grâce à la modulation de l'état de défense antioxydant de l'animal ou par l'augmentation du pouvoir antioxydant des animaux, ce qui pourrait compenser les modifications des concentrations sériques des différents paramètres étudiés résultant du traitement par le nickel, comme l'a remarqué Abdelaziz et Ashour, 2011.

4. Paramètres du stress oxydant

4.1. Glutathion réduit (GSH)

Le traitement des rats par le sulfate de nickel, à une dose de 20 mg/kg de poids corporel pendant 21 jours, entraîne une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la teneur cellulaire en glutathion dans les organes : foie, rein, testicule et cerveau. En revanche, chez les rats traités par la combinaison nickel et vitamine E on enregistre une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) de la teneur en glutathion au niveau des reins (-13,19%) et une différence significative ($P \leq 0,05$) dans les organes (foie '-11,92%', testicule '-12,52%' et cerveau '-16,70%'). Chez les rats traités par la combinaison nickel et sélénium, il existe une différence significative au niveau du foie, rein et cerveau, alors qu'il n'existe aucune différence significative au niveau des testicules comparativement au lot témoin.

Par contre, les groupes traités par le sélénium, la vitamine E et la combinaison sélénium et vitamine E chez le lot traité par le nickel ne montre aucune variation significative du taux de GSH dans les organes étudiés comparativement au groupe témoin.

En revanche, chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se, il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la teneur cellulaire en GSH au niveau du foie, rein, testicule et cerveau comparativement au lot traité par le nickel. En plus, on enregistre une différence très hautement significative chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E au niveau du foie et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau des testicules par rapport aux rats traités par le nickel. Par ailleurs, il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Se au niveau des reins et une différence significative ($P \leq 0,05$) au niveau du cerveau comparativement au lot traité par le toxique (Tableau 16, Figure 47 et 48).

Tableau 16 : Représente la variation de glutathion (GSH exprimé en nmol/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Organes	Lots expérimentaux						
	<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
<i>Foie</i>	113,39±	116,33±	119,70±	99,87±	107,04±	105,76±	112,23±5,02^f
	8,54	7,49	6,82	2,61^c	3,44^{af}	6,76^a	
<i>%</i>	-	+2,59%	+5,56%	-11,92%	-5,60%	-6,72%	-1,02%
<i>Rein</i>	114,76±	116,56±	120,77±	99,62±	104,38±	106,85±	118,66±1,49^f
	9,40	4,04	7,03	3,46^c	5,55^b	3,39^{af}	
<i>%</i>	-	+1,56%	+5,23%	-13,19%	-9,04%	-6,89%	+3,39%
<i>Testicule</i>	120,44±	122,79±	128,16±	105,36±	113,00±	113,09±	127,73±9,36^f
	8,89	7,77	8,53	3,80^c	6,40^{ae}	13,14	
<i>%</i>	-	+1,95%	+6,40%	-12,52%	-6,17%	-6,10%	+6,05%
<i>Cerveau</i>	112,43±	113,79±	118,01±	93,65±	103,50±	106,24±	114,14±5,46^f
	7,44	7,13	6,55	9,94^c	9,51^a	3,79^{ad}	
<i>%</i>	-	+1,20%	+4,96%	-16,70%	-7,94%	-5,50%	+1,52%

^a : Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05).

^b : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001).

^d : Différence significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,05).

^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,01).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,001).

P : Seuil de signification.

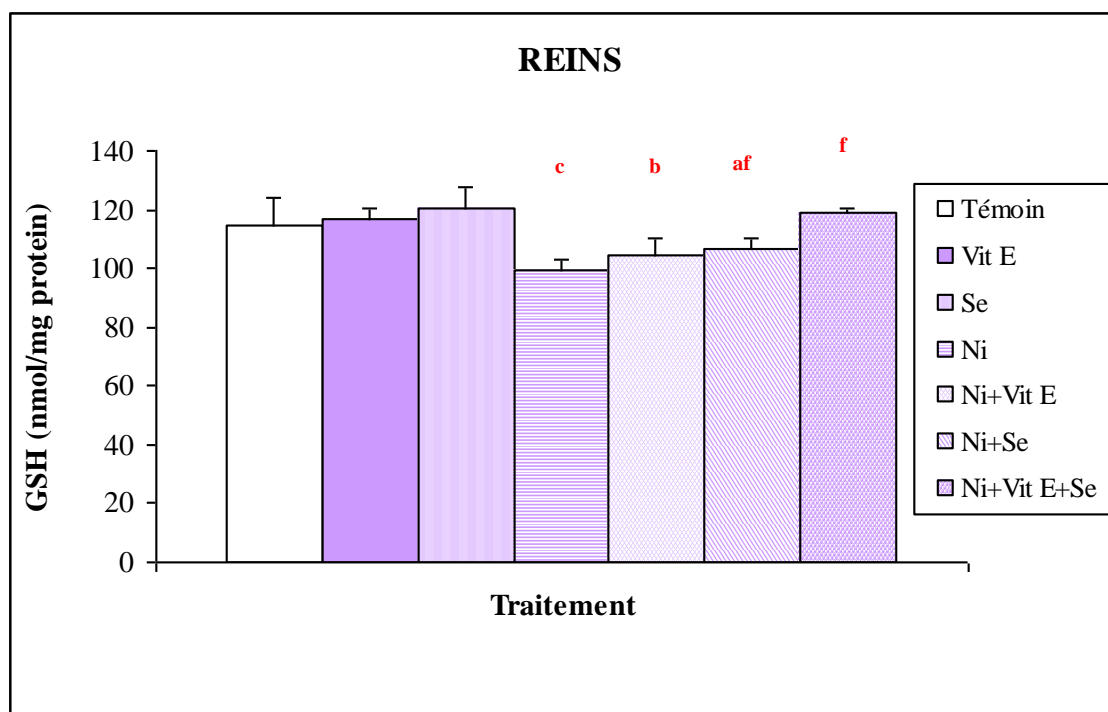
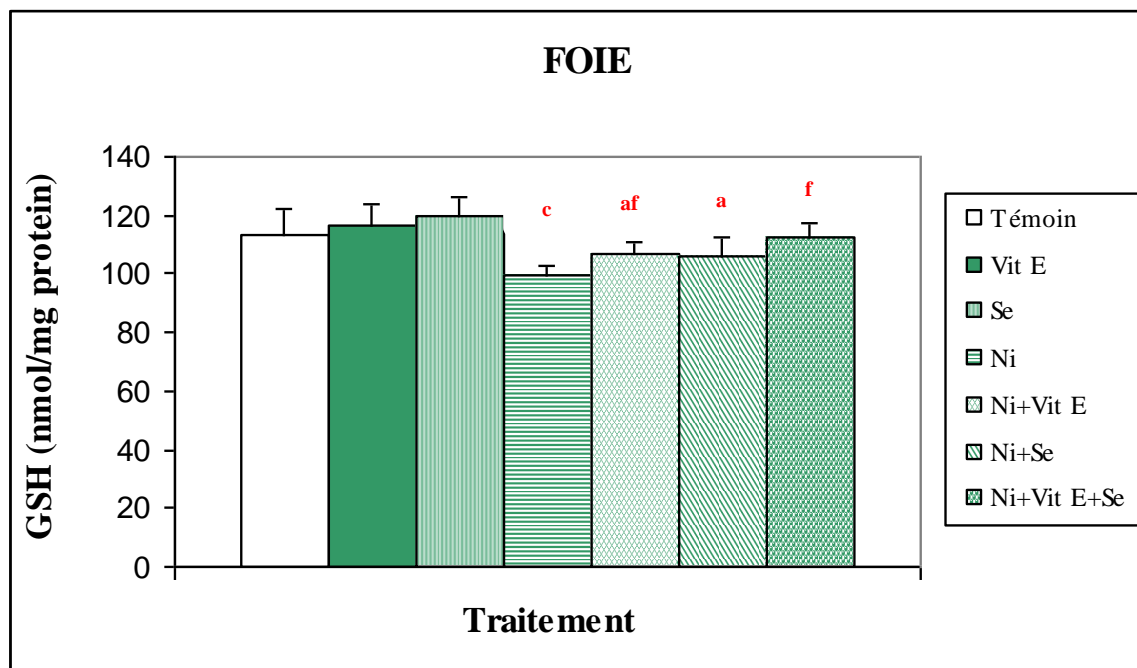


Figure 47: Représente la variation de la teneur cellulaire en glutathion (nmol/mg prot) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

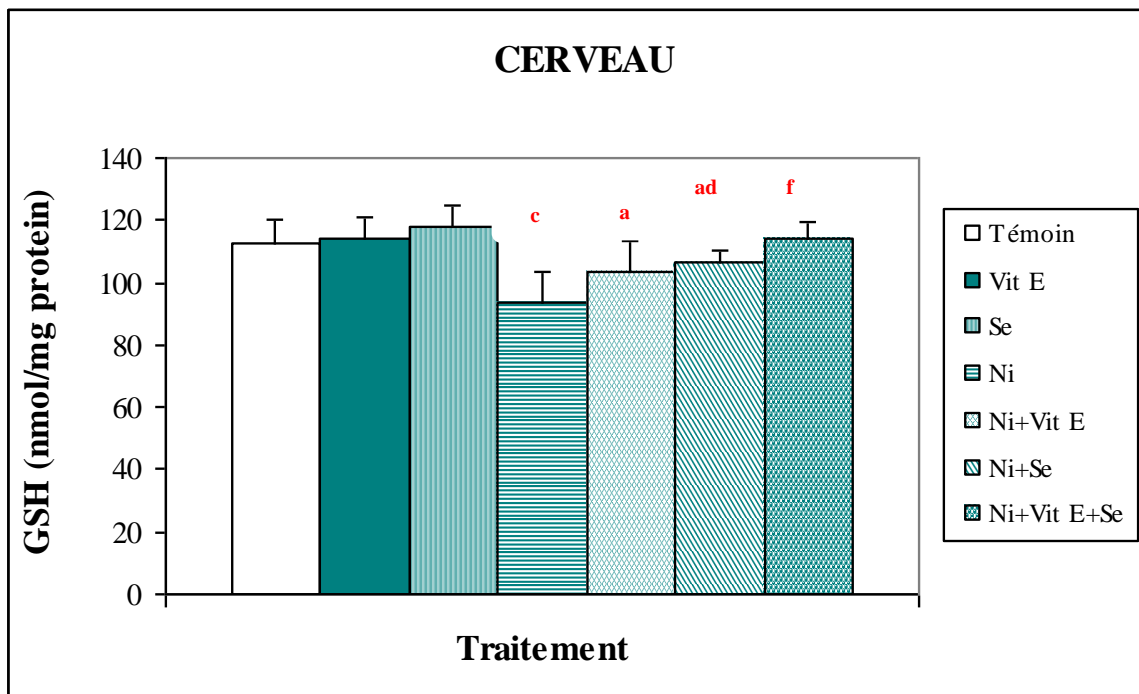
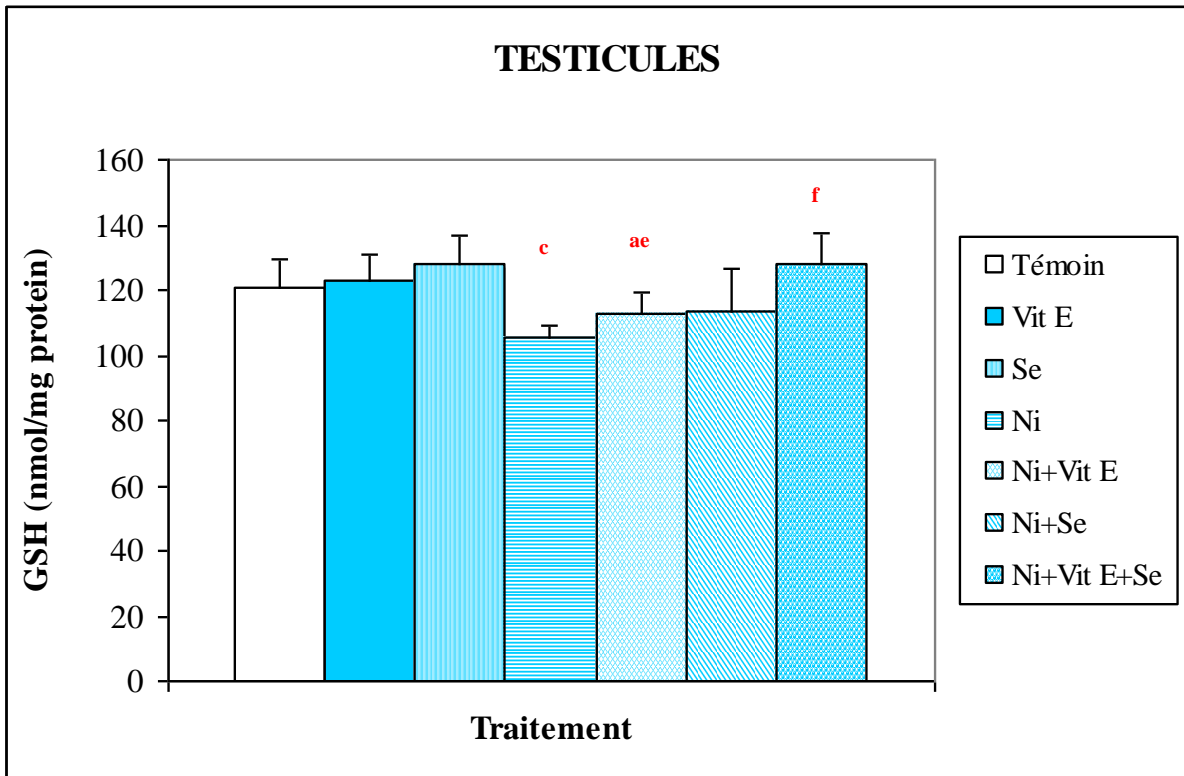


Figure 48: Représente la variation de la teneur cellulaire en glutathion (nmol/mg prot) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.2. Malondialdéhyde (MDA)

D'après les résultats obtenus (Tableau 17, Figure 49 et 50) on observe une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux de MDA dans les organes : foie (+51,19%) , rein (+41,17%), testicule (+50%) et cerveau (+16,66%) chez le lot traité par le nickel par rapport aux rats témoins, une augmentation significative chez le lot traité par le sélénite de sodium et le sulfate de nickel au niveau des testicules et cerveau et aucune différence significative ($P \leq 0,05$) dans le foie et les reins comparativement aux rats témoins. Chez les rats traités par le sulfate de nickel et la vitamine E on a enregistré une augmentation significative ($P \leq 0,05$) du taux de MDA dans l'ensemble des organes étudié par rapport aux rats témoins. Tandis que les rats traités par le sélénium seul, la vitamine E seul et à la combinaison le sélénium et la vitamine E chez les rats traités par le nickel ne montrent pas de variations significatives du taux de MDA dans les organes (foie, rein, testicule et cerveau), en comparaison avec le groupe témoin.

Par ailleurs, chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se, il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau du foie, rein et testicule et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau du cerveau. En plus, chez le lot traité par la combinaison Ni+Se on enregistre une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau des reins et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau du foie et des testicules comparativement au lot traité par le sulfate de nickel. Entre autre, chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau des reins, une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau du foie et significative ($P \leq 0,05$) au niveau des testicules par rapport aux rats traité au nickel.

Tableau 17 : Représente la variation de Malondialdéhyde (MDA exprimé en nmol/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Organes	Lots expérimentaux						
	<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
<i>Foie</i>	0,84± 0,12	0,82± 0,08	0,81± 0,05	1,27± 0,28^c	0,93± 0,04^{ae}	0,91± 0,04^e	0,83±0,08^f
<i>%</i>	-	-2,38%	-3,57%	+51,19%	+10,71%	+8,33%	-1,19%
<i>Rein</i>	0,85± 0,01	0,83± 0,02	0,83± 0,02	1,20± 0,22^c	0,91± 0,08^{af}	0,86± 0,01^f	0,81±0,12^f
<i>%</i>	-	-2,35%	-2,35%	+41,17%	7,05%	+1,17%	-4,70%
<i>Testicule</i>	0,72± 0,06	0,71± 0,07	0,69± 0,07	1,08± 0,24^c	0,79± 0,06^{ad}	0,80± 0,08^{ae}	0,68±0,12^f
<i>%</i>	-	-1,38%	-4,16%	+50%	+9,72%	+11,11%	-5,55%
<i>Cerveau</i>	0,78± 0,05	0,79± 0,09	0,77± 0,01	0,91± 0,08^c	0,86± 0,09^a	0,86± 0,08^a	0,77±0,05^e
<i>%</i>	-	+1,28%	-1,28%	+16,66%	10,25%	+10,25%	-1,28%

^a : Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001).

^d : Différence significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,05).

^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,01).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,001).

P : Seuil de signification.

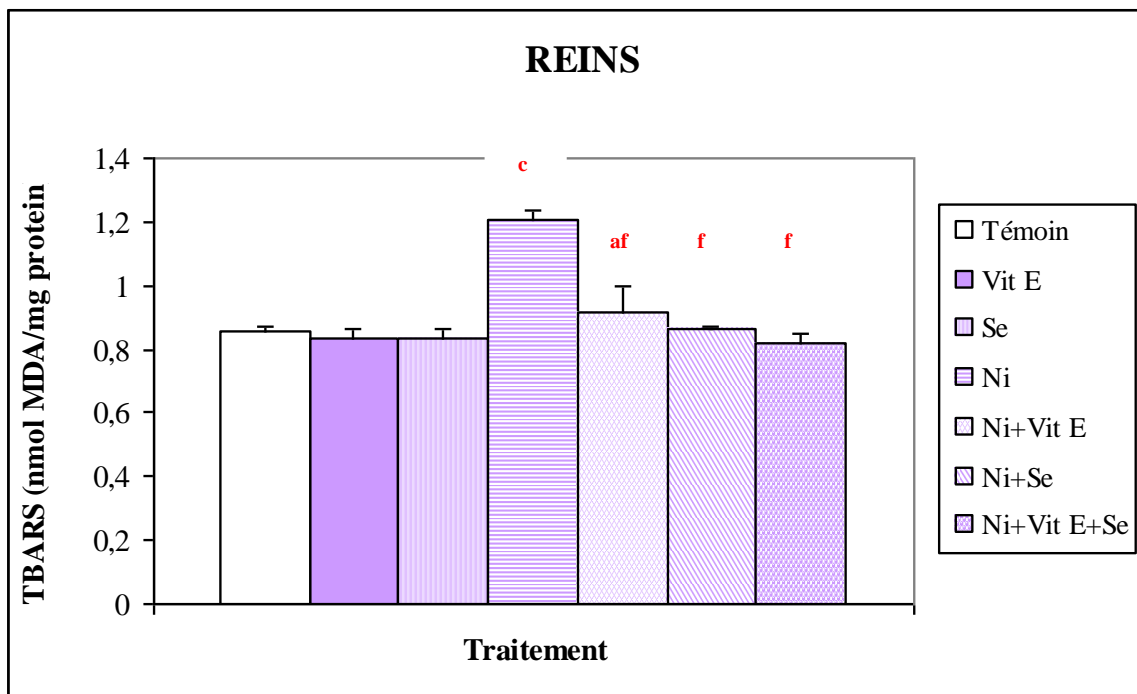
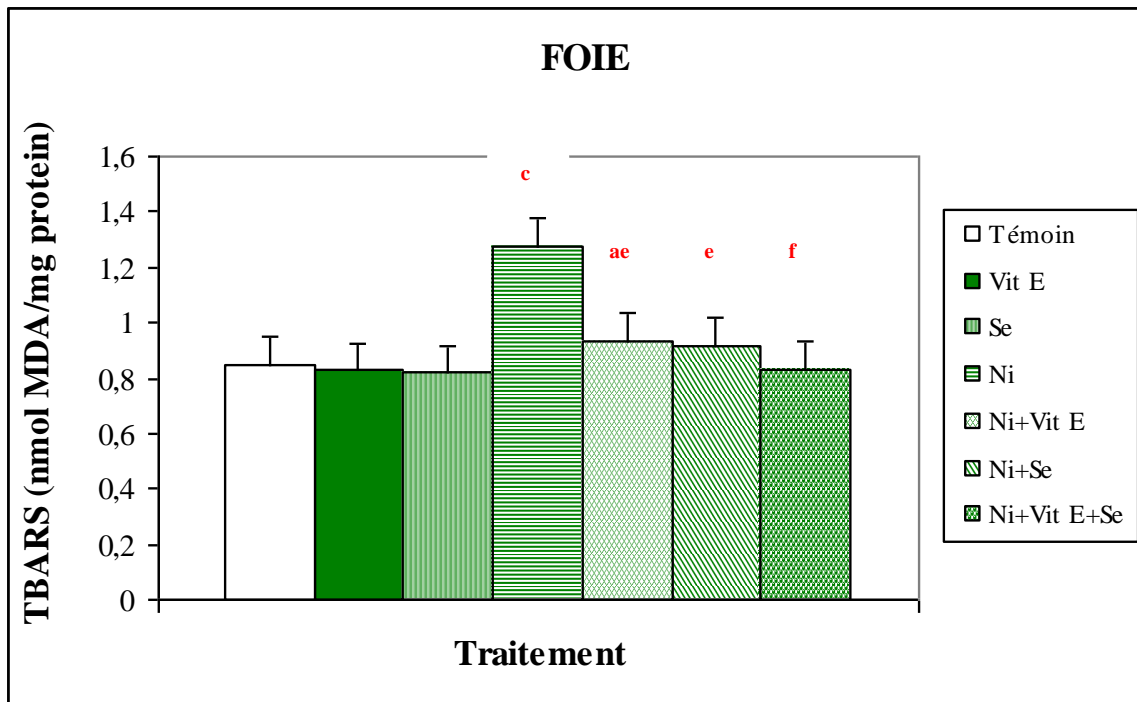


Figure 49: Représente la variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

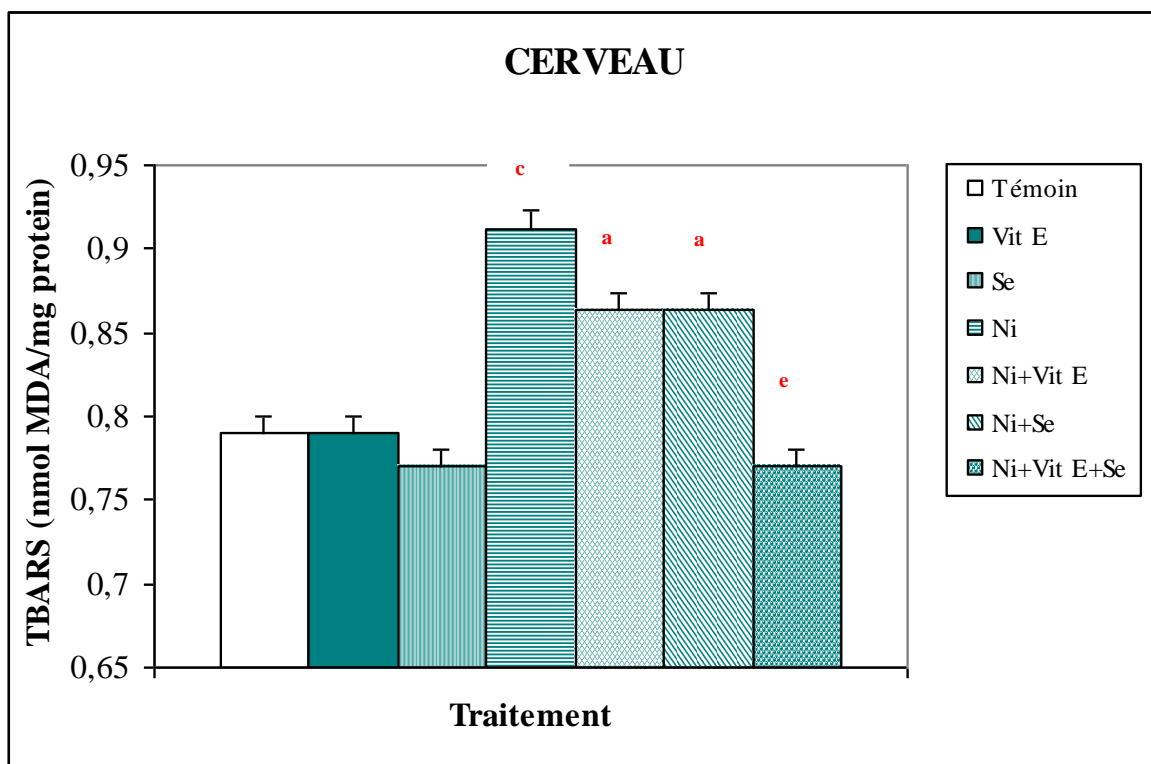
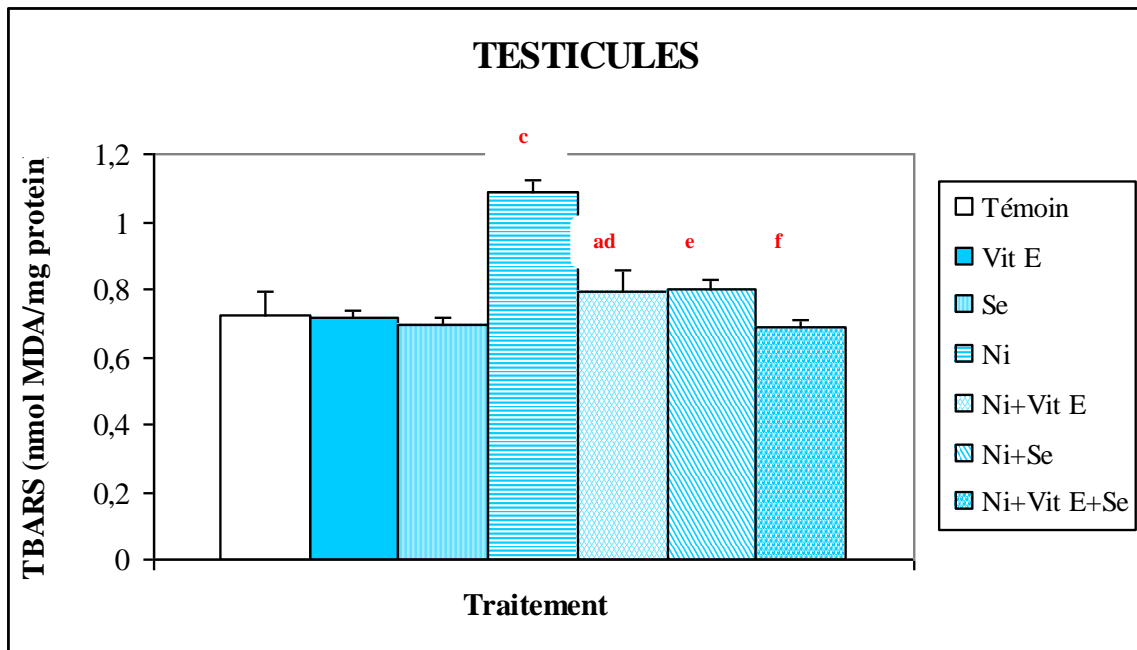


Figure 50: Représente la variation du malondialdéhyde (nmol/mg prot) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.3. Glutathion peroxydase (GPx)

D'après le tableau 18 et la figure 51 et 52 on constate que le traitement des rats par le sulfate de nickel provoque une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) dans les organes : foie, rein, testicule et cerveau, une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau du cerveau avec une diminution significative au niveau des testicules et des reins chez les rats traités par la combinaison nickel et vitamine E. On note aussi une diminution significative ($P \leq 0,05$) de la GPx dans le foie les reins et le cerveau chez le lot traité par la combinaison nickel et sélénium comparativement au groupe témoin. En revanche, on n'enregistre aucune différence significative de la glutathion peroxydase (GPx) chez les rats traités ; par le sélénite de sodium uniquement, la vitamine E sous forme de α -tocophérol et par la combinaison nickel, sélénium et vitamine E par rapport aux témoins.

Selon nos résultats, il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se au niveau du foie, rein, testicule et cerveau par rapport au lot traité par le nickel. En revanche, chez le traité par la combinaison Ni+Se, il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau du foie et des reins et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau des testicules et du cerveau. Par ailleurs, on enregistre chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau du foie et une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau des reins comparativement aux rats traités par le nickel.

Tableau 18 : Représente la variation de Activité enzymatique de la GPx (mol GSH/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Organes	Lots expérimentaux						
	Témoin	Vit E	Se	Ni	Ni+Vit E	Ni+Se	Ni+Vit E+Se
Foie	0,21± 0,03	0,21± 0,01	0,22± 0,02	0,15± 0,02 ^c	0,19± 0,03 ^e	0,19± 0,01 ^{af}	0,22±0,01 ^f
%	-	0%	+4,76%	-28,57%	-9,52%	-9,52%	+4,76%
Rein	0,13± 0,03	0,13± 0,01	0,14± 0,05	0,08± 0,01 ^c	0,10± 0,01 ^{af}	0,11± 0,01 ^f	0,16±0,06 ^f
%	-	0%	+7,69%	-38,46%	-23,07%	-15,38%	+23,07%
Testicule	0,16± 0,03	0,17± 0,01	0,17± 0,01	0,11± 0,02 ^c	0,13± 0,03 ^a	0,14± 0,01 ^{ae}	0,17±0,03 ^f
%	-	+6,25%	+6,25%	-31,25%	-18,75%	-12,50%	+6,25%
Cerveau	0,13± 0,01	0,13± 0,01	0,14± 0,01	0,10± 0,01 ^c	0,12± 0,01 ^b	0,12± 0,01 ^{ae}	0,13±0,01 ^f
%	-	0%	+7,69%	-23,07%	-7,69%	-7,69%	0%

^a : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$).

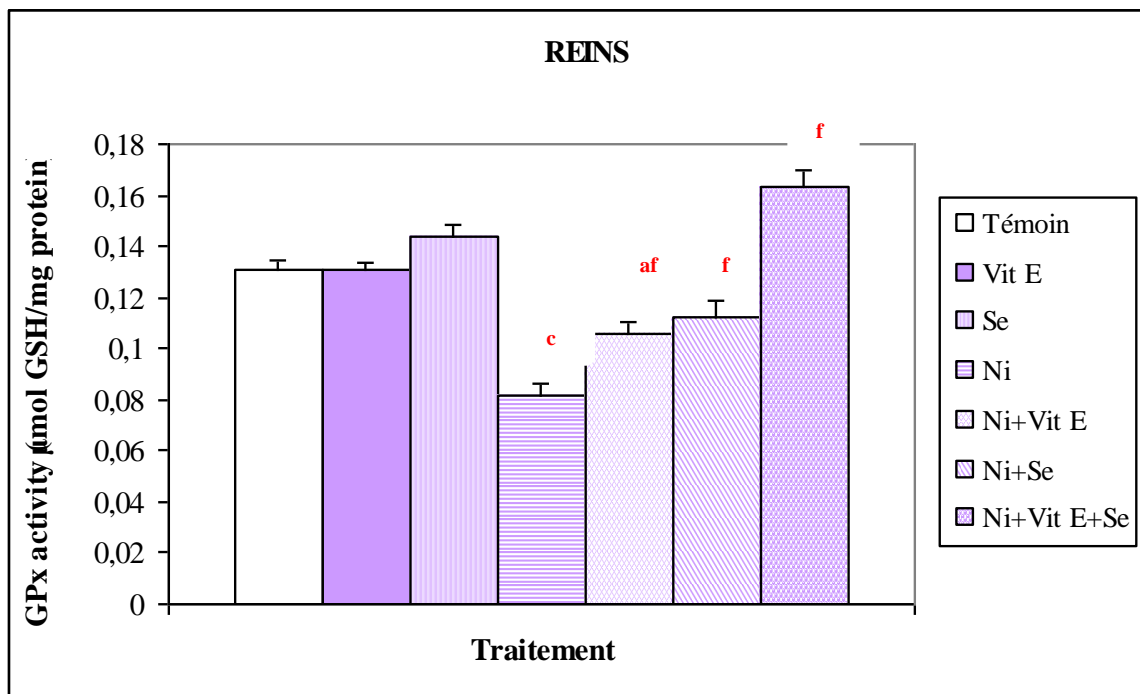
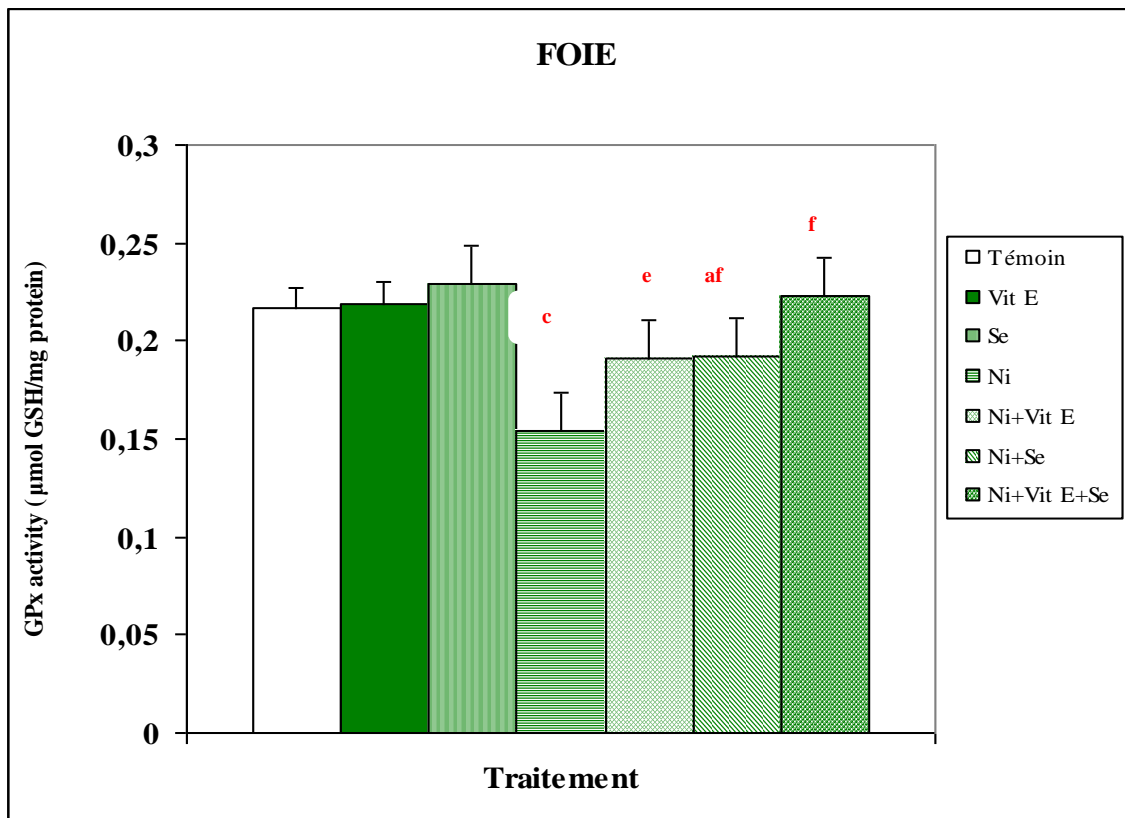
^b : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$).

^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,01$).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni ($P \leq 0,001$).

P : Seuil de signification.



Fig

ure 51: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol GSH/mg prot}$) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

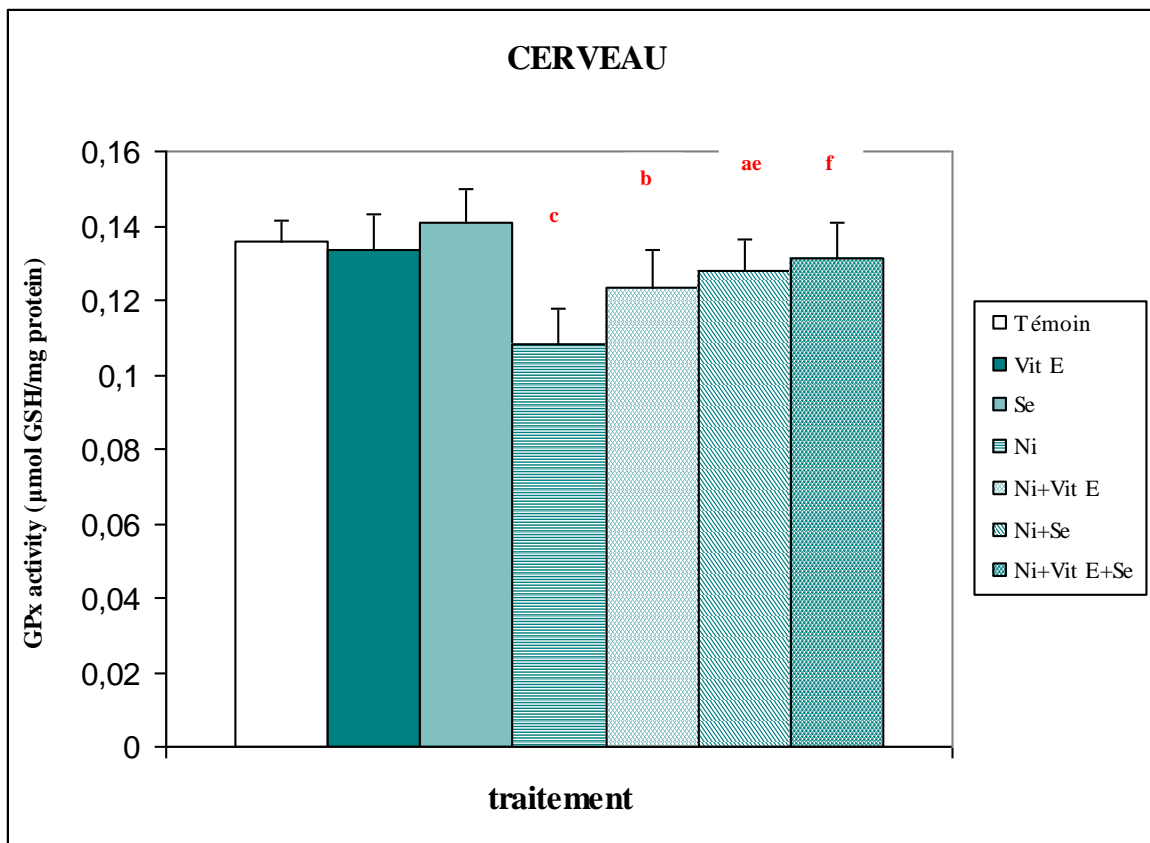
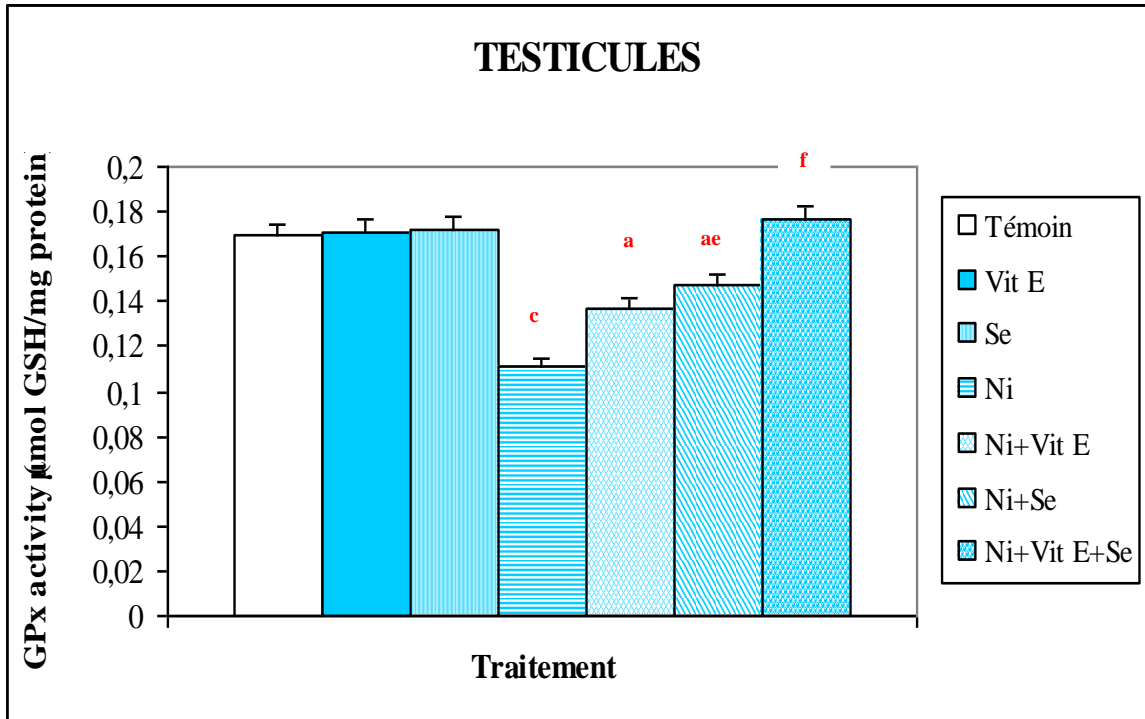


Figure 52: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ($\mu\text{mol GSH/mg prot}$) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

4.4. Glutathion - S- transférase (GST)

L'administration du nickel par voie intrapéritoniale pendant 21 jours chez les rats induit une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau par rapport aux rats témoins. Par ailleurs, on a enregistré une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la GST au niveau des testicules, et une différence significative ($P \leq 0,05$) au niveau du foie, du cerveau et des reins chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E. En plus, une augmentation significative au niveau des testicules et du cerveau a été enregistrée chez le lot traité par la combinaison nickel et sélénium par rapport au lot témoin. Tandis que, on n'enregistre aucune différence significative chez les rats traités par ; la combinaison nickel et sélénium au niveau du foie et des reins, et également aucune différence significative au niveau de l'ensemble des organes étudié chez les rats traités par ; le sélénite de sodium uniquement, la vitamine E seul et par la combinaison Ni+Vit E+Se comparativement aux rats témoins.

D'après nos résultats, comparativement au lot traité au sulfate de nickel, on enregistre chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E+Se, une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau du foie, rein, testicule et cerveau. On note chez le lot traité par le Ni+Se une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau du foie, testicule et cerveau et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau des reins. En plus, chez le lot traité par le Ni+Vit E, il existe une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) au niveau des testicules et cerveau et une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) au niveau du foie (tableau 19, figures 53 et 54).

Tableau 19 : Représente la variation de Activité enzymatique de la GST (nmol GSH/min/mg prot) dans les organes (Foie, rein, testicule et cerveau) chez les rats témoins et les traités par le sulfate de nickel (Ni) ; la vitamine E (Vit E) sous forme de α -tocophérol; le sélénium (Se) sous forme de sélénite de sodium et par les combinaisons (Ni+Vit E ; Ni+Se et Ni+Vit E+Se) après 21 jours de traitement.

Organes	Lots expérimentaux						
	<i>Témoin</i>	<i>Vit E</i>	<i>Se</i>	<i>Ni</i>	<i>Ni+Vit E</i>	<i>Ni+Se</i>	<i>Ni+Vit E+Se</i>
<i>Foie</i>	1,68± 0,21	1,65± 0,26	1,66± 0,16	2,67± 0,25^c	1,97± 0,38^{ae}	1,73± 0,11^f	1,69±0,04^f
<i>%</i>	-	-1,78%	-1,19%	+58,92%	+17,26%	+2,97%	+0,59%
<i>Rein</i>	1,75± 0,21	1,72± 0,20	1,72± 0,11	2,30± 0,31^c	2,04± 0,33^a	1,90± 0,20^e	1,70±0,16^f
<i>%</i>	-	-1,71%	-1,71%	+31,42%	16,57%	+8,57%	-2,85%
<i>Testicule</i>	1,80± 0,09	1,74± 0,06	1,75± 0,14	2,74± 0,21^c	1,96± 0,11^{bf}	1,97± 0,19^{af}	1,74±0,20^f
<i>%</i>	-	-3,33%	-2,77%	+52,22%	+8,88%	+9,44%	-3,33%
<i>Cerveau</i>	1,53± 0,20	1,52± 0,09	1,53± 0,22	2,11± 0,15^c	1,73± 0,17^{af}	1,69± 0,21^{af}	1,51±0,13^f
<i>%</i>	-	-0,65%	0%	+37,90%	+13,07%	+10,45%	-1,30%

^a : Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05).

^b : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01).

^c : Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001).

^e : Différence hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,01).

^f : Différence très hautement significative comparant au lot traité par le Ni (P ≤0,001).

P : Seuil de signification.

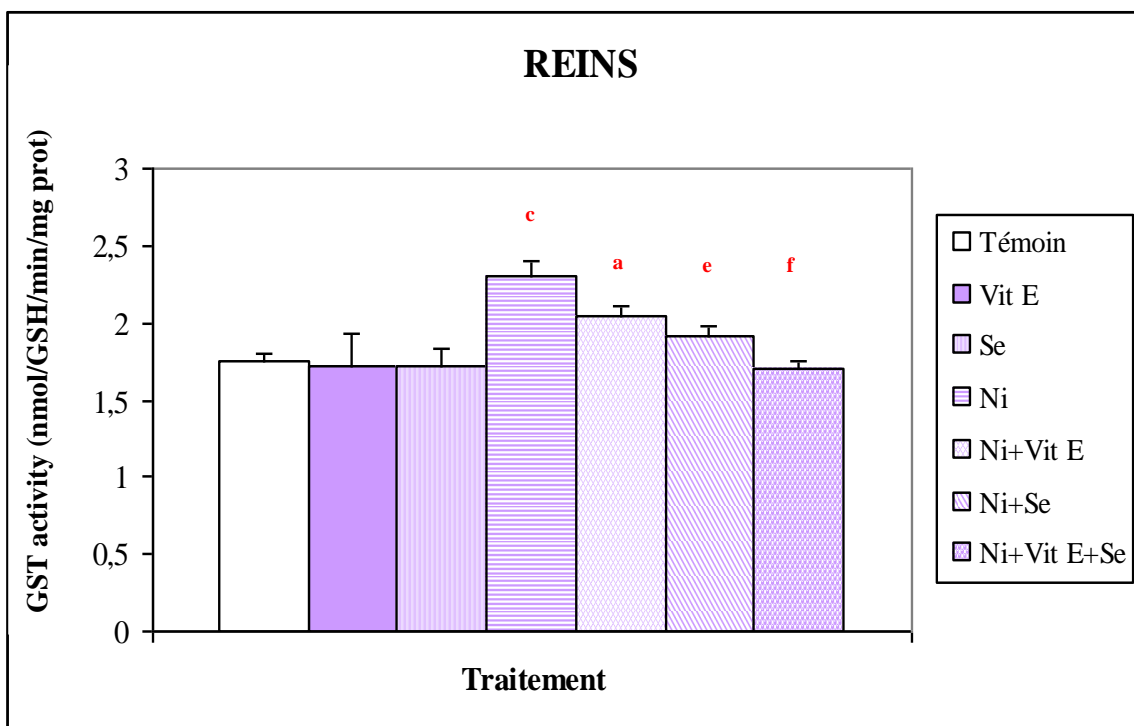
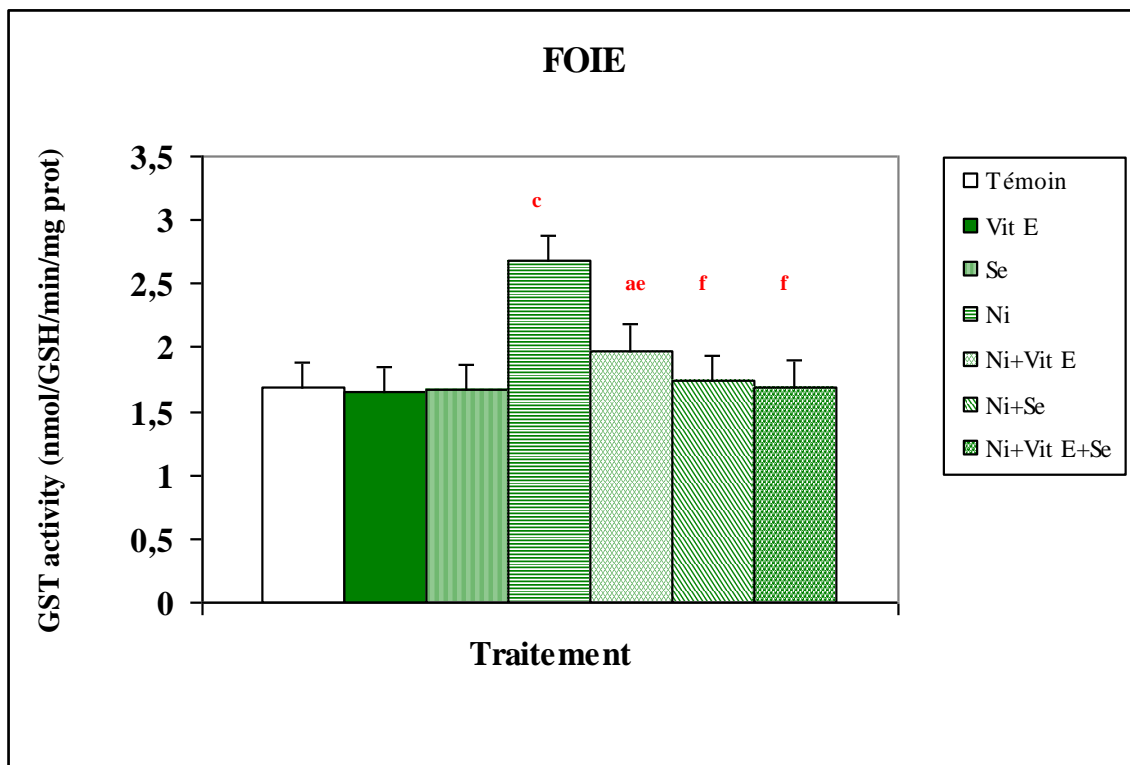


Figure 53: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (nmol GSH/min/mg prot) dans le foie et le rein chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

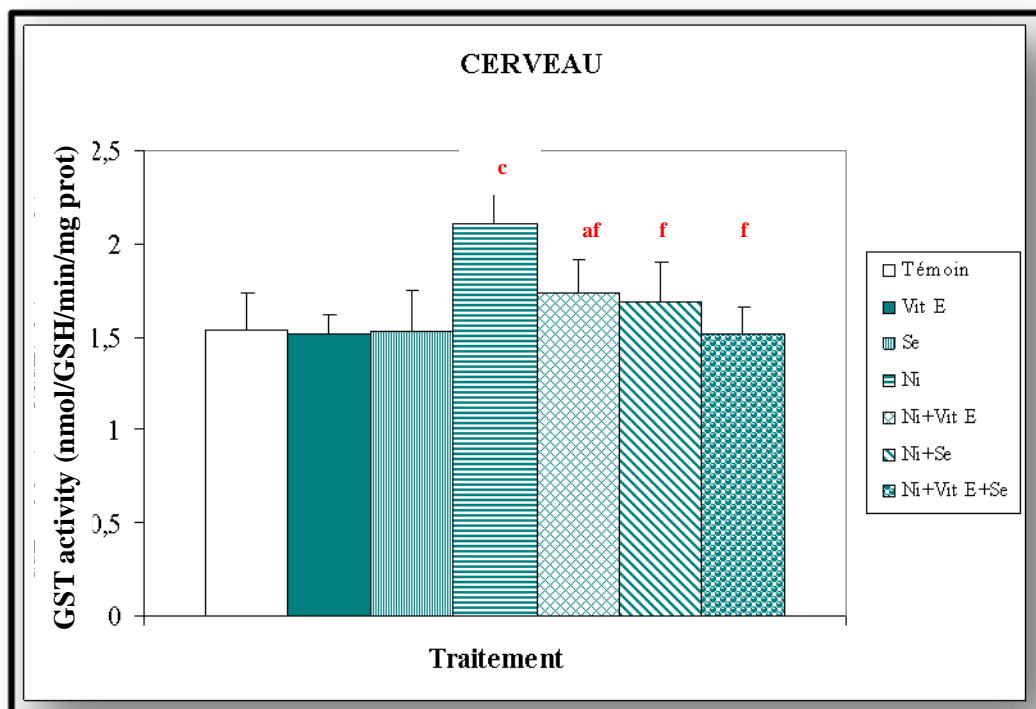
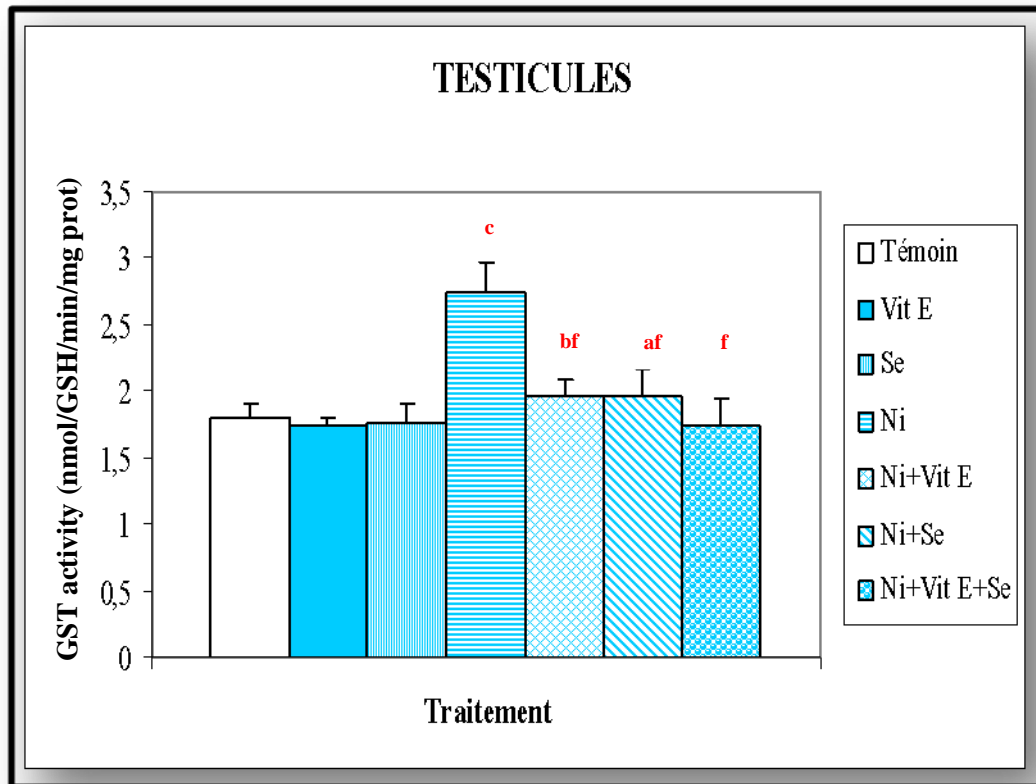


Figure 54: Représente la variation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (nmol GSH/min/mg prot) dans les testicules et le cerveau chez les rats témoins et traités après 21 jours de traitement.

DISCUSSION

Selon les résultats précédents, l'administration intrapéritonéale du sulfate de nickel à une dose de 20mg/kg, pendant 21 jours chez le rat *Wistar* males a provoqué des perturbations importantes au niveau plasmatique et cellulaire. Nos résultats confortent ces travaux puisque nous avons mis en évidence une diminution significative de la glutathion (GSH) et de glutathion peroxydase (GPx) au niveau du foie, des reins, des testicules et du cerveau chez les rats traités au sulfate de nickel par rapport aux témoins. Mêmes résultats trouvées dans d'autres études de Misra *et al*, 1990; Cartana *et al*, 1992; Iscan *et al*, 1995; Chakrabarti et Bai, 1999 et Hfaïedh *et al*, 2008.

Le glutathion est un antioxydant important et le plus abondant dans toutes les cellules eucaryotes. Il est également impliqué dans de nombreux processus qui sont essentiels pour les fonctions biologiques normales, comme la désintoxication des xénobiotiques, par conjugaison via la glutathion-S-transférase (GST), ainsi que la participation de l'ADN, des protéines et la synthèse des leucotriènes (Meister et Anderson, 1983). Le glutathion conserve également les niveaux cellulaires des formes actives de la vitamine C et E. Ces vitamines participent à neutraliser les radicaux libres et sont étroitement liées les unes aux autres (Favier *et al*, 2006; Winkler, 1992).

L-g-glutamyl-L-cysteinylglycine est un tri peptide composé de cystéine, l'acide glutamique et la glycine, le groupe active est représenté par le groupement thiol (-SH) des résidus cystéine (Nielson, 1995; Soudani *et al*, 2011).

La GSH joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. En effet, le GSH est considéré en tant que composé essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire en raison de sa propriété de réduction et de sa participation dans le métabolisme cellulaire (Ben Amara *et al*, 2011).

Par ailleurs, il est important dans le stockage et le transport de la cystéine et a également joué un rôle important dans les défenses cellulaires contre les radicaux libres et peroxydes. Par conséquent, la GSH joue un rôle important dans la détoxification des ROS (Soudani *et al*, 2011).

Notre étude montre que l'injection intrapéritonéale du nickel (20mg/kg/j pendant 21 jours), a provoqué une diminution importante du taux de GSH au niveau du foie, reins, testicules et cerveau. La baisse de GSH peut être expliquée par l'influence de l'injection de nickel se manifeste par une carence immédiate du GSH hépatique. Vu que l'activité peroxydasique des ions métalliques est généralement liée à leur capacité à réduire la teneur en GSH cellulaire qui est connu pour maintenir le potentiel redox cellulaire (Manoj *et al*, 1950; Athar, 1987). Autres études ont également signalé une diminution des niveaux de GSH, suite à une intoxication induite par le nickel et le chrome et qui est clairement un indicatif du stress oxydatif (Mandava *et al*, 2009; Chakrabarti et Bai, 1999).

Par contre le traitement des rats par le sélénium et la vitamine E pourrait protéger l'altération, par l'élimination des toxines de l'organisme ou de l'encapsulation du métal. L'une des raisons de cette amélioration est vu que la vitamine E est l'un des antioxydants biologique actif possédant la capacité de protéger la membrane du stress oxydatif grâce à sa propriété liposoluble. Une fois que le radical tocophérol est formée, elle peut migrer vers la surface de la membrane et reconverti en α -tocophérol par réaction avec de l'ascorbate ou le GSH. Le radical ascorbate résultant peut régénérer l'ascorbate par réduction avec le GSH, ce qui peut également piéger les ROS directement, et GSSG résultant peut régénérer à travers le système GSH réductase NADPH-glutathion. Par ailleurs le sélénium pourrait jouer un rôle important dans le métabolisme du GSH qui leur tour augmenté la concentration de thiol et donc l'augmentation du pouvoir antioxydant intracellulaire et, par conséquent, l'amélioration de l'équilibre antioxydant / prooxydant du tissu. (Kumar et Selvam, 2003; Bhatti *et al*, 2010; Berggren *et al*, 1999; Cemek *et al*, 2010; Soudani *et al*, 2010; Nemmiche *et al*, 2007).

La GPx est une enzyme antioxydante clé qui règle le niveau des ROS, elle est fortement dépendante de la concentration en glutathion, l'équilibre de ce système enzymatique peut être essentiel d'éliminer anion superoxyde et peroxydes générés dans les tissus (Bray et Taylor, 1993; Jung et Henke, 1996). La GPx est capable de non seulement de réduire le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau, mais aussi les hydroperoxydes résultants de l'oxydation des acides gras insaturés, et donc protège les cellules contre les dégâts générés par le nickel (Pardeep *et al*, 2004; Leelavinothan et Kasinathan, 2011).

D'après nos résultats on observe une diminution de l'activité GPx dans les organes étudiés (foie, reins, testicules et cerveau) chez les rats traités par le nickel en comparaison avec le lot témoin. Cette diminution est due principalement à une surproduction de peroxyde d'hydrogène et l'épuisement du sélénium et de GSH dans la détoxification du nickel. Ce qui entraîne une diminution de l'activité enzymatique de la GPx (Bray et Taylor, 1993; Jung et Henke, 1996).

En revanche, on enregistre une amélioration importante de la concentration de glutathion peroxydase (GPx) chez les rats après traitement par le sélénium et/ou la vitamine E par rapport aux témoins. Ce qui indique le rôle essentiel de ces éléments dans l'activité des enzymes antioxydantes endogènes (Venardos *et al*, 2004; Zhang *et al*, 2008).

Il a été rapporté que la propriété anti-oxydant le plus important du sélénium est sa fonction au niveau du site actif des sélénoenzymes glutathion peroxydase (Chu *et al*, 1993). En outre, la vitamine E peut améliorer l'effet du stress oxydant en réduisant les dommages oxydatifs (Stawiarska-Pieta *et al*, 2012). Des changements similaires ont été observés par Sahoo *et al*, 2008; Banudevi *et al*, 2006, Agarwal *et al*, 2010, Ben Amara *et al*, 2011.

Concernant la glutathion S-transférase (GST), cette enzyme joue un rôle important dans la désintoxication des xénobiotiques et elle a une grande capacité à réduire les peroxydes lipidiques (Iscan *et al*, 2002 ; Griffith,1999).

D'après nos résultats on observe une augmentation très hautement significative de la GST dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats traités au sulfate de nickel comparativement au lot témoin.

Le traitement avec de la vitamine E a été très efficace dans la prévention des dommages oxydatifs induits par Ni, qui a entraîné une diminution significative de la GST par l'induction une grande couplage intermédiaires des électrophiles avec le GSH selon Bansal *et al*, 2005; Salamaa *et al*, 2012; Ognjanovic *et al*, 2010. En autre, on remarque que le traitement par le sélénium a amélioré l'activité de la GST (Zhang *et al*, 2008; Stajn *et al*, 1997; Luchese *et al*, 2009). Ces résultats peuvent être expliqués par les effets antioxydants importants du sélénium

et de la vitamine E dont ils ont capable de résister à une hépatotoxicité, néphrotoxicité ainsi que la restauration du GST vers les niveaux physiologiques normaux au niveau des testicules et du cerveau. Le sélénium et de la vitamine E sont rapportés à agir en synergie afin de fournir une protection majeure contre les maladies et les processus dégénératifs causés par le stress oxydatif (Olas *et al*, 2002, Chaudiere et Ferrari-Illiou, 1999; Stawiarska-Pieta *et al*, 2012; Kashif *et al*, 2004; Adesiyun *et al*, 2011).

Des études expérimentales ont montré que le stress oxydatif au niveau des systèmes biologiques est généralement suite à un déséquilibre entre la production d'espèces oxydantes et les défenses antioxydantes cellulaires (Banerjee, *et al*, 1999).

La peroxydation lipidique est un processus de dégradation par oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) et sa présence dans les membranes biologiques provoque une altération membranaire ainsi que la fonction et l'intégrité structurelle (Gutteridge et Halliwell, 1988).

Toutefois, selon Draper *et al*, 1988; Valko *et al*, 2005 MDA est l'aldéhyde le plus abondant résultant de la peroxydation lipidique; par la suite, cet aldéhyde peut être considéré comme un indicateur important de la peroxydation lipidique (LPO).

On a enregistré que l'injection de nickel augmente la production d'espèces oxygénées activées, qui peuvent à leur tour endommager les lipides, les membranes cellulaires et l'ADN. Le nickel contribue également à la peroxydation lipidique dans le foie, les reins les testicules et le cerveau des rats (Cemek *et al.*, 2010 ; Xiel *et al.*, 1995).

Le traitement par le sélénium et/ou la vitamine E a été très efficace dans la prévention des dommages oxydatifs induits par Ni, ce qui a entraîné une diminution significative de la peroxydation des lipides hépatiques où le taux de malondialdéhyde (MDA) dans les organes étudiés et elle revient presque à la normale.

La supplémentation des antioxydants a été prouvée d'avoir des effets protecteurs contre les dommages oxydatifs en renforçant les défenses antioxydantes cellulaires. Les antioxydants peuvent prévenir ou réduire les effets néfastes du stress oxydatif dans les différents tissus (Pincemail *et al*, 2002; Maellaro *et al*, 1990; Beyer, 1994; Ben Amara *et al*, 2011). Il a été également suggéré que le sélénium joue un rôle important dans la protection de la formation

de MDA (peroxydation des lipides) et qui est un cofacteur de nombreuses enzymes antioxydantes (Adesiyani *et al*, 2011; Flora *et al*, 1999; Talas *et al*, 2008).

Entre autre, l'action indirecte de la vitamine E à réduire les niveaux de la peroxydation lipidique la formation du radical peroxyde (ROO[·]) qui se transforme en hydroperoxyde (ROOH) par un court circuit en présence de la vitamine E durant la phase de propagation de la peroxydation lipidique (Burton, 1990). Et enfin Il a été constaté que le sélénium et la vitamine E ont la propriété de protection par synergie (Cemek *et al*, 2010).

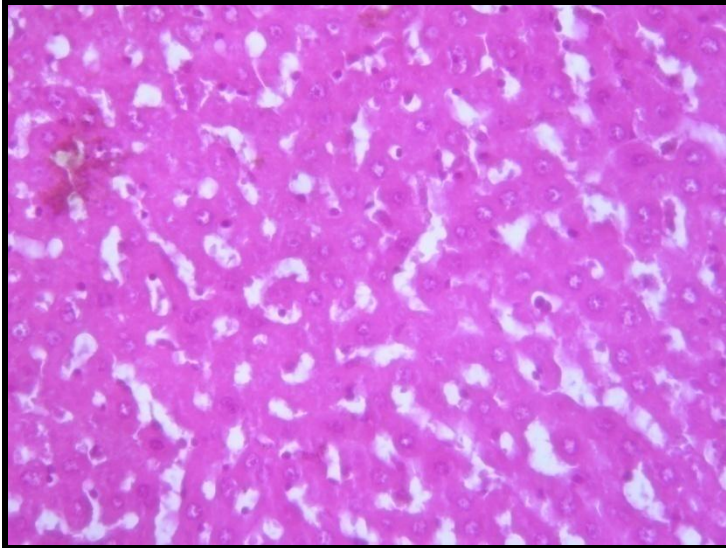
5. Etude histologique (au niveau du foie)

Le foie est constitué par des cellules appelé hépatocytes qui forment des lames aplaties anastomosées constituées habituellement d'une seule couche cellulaire comme se manifeste chez les témoins (Figure 55: A, B et C).

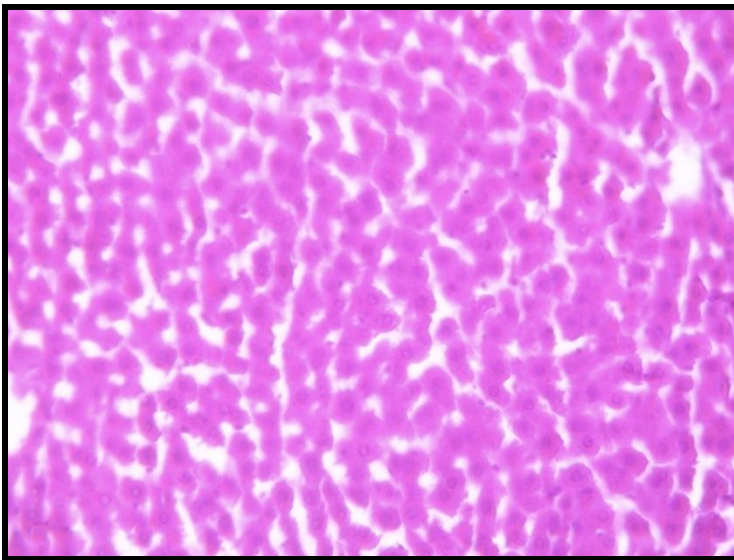
L'observation microscopique du foie des rats traités par le sulfate de nickel (Figure 56 ; D) révèle une modification cellulaire bien visible, qui traduit par la présence d'une nécrose tissulaire avec un filtre inflammatoire périvasculaire autour du vaisseau avec l'infiltration de cellules lymphocytaires et une dilatation des espaces portes accompagné d'élargissement des espaces sinusoïde, ces altérations graves de la structure affectent la fonction hépatique et peuvent contribuer à un dysfonctionnement de cet organe. Les modifications observées chez les groupes traités confirment que le Ni induise de dégénérescence membranaire.

Ces formes des atteintes tissulaires observés chez les rats traités au nickel sont moins importantes chez ceux traités à la combinaison Ni+Vit E avec la présence d'élargissement des espaces sinusoïde avec un vaisseau congestif (plein de sang) (Figure 56 ; E).

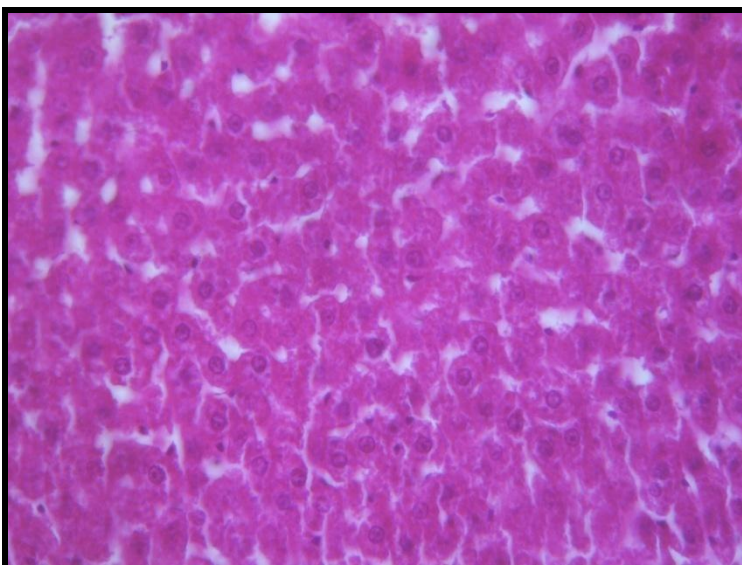
Alors que l'étude histologique du foie des rats traités par la combinaison Ni+Se (Figure 56 ; F) et Ni+Vit E +Se (Figure 56 ; G) ne présentent aucune anomalie et ont une structure similaire à celle de témoin.



A : Coupe histologique de foie d'un rat témoin, montrant les hépatocytes à état normale. Grx400.



B : Coupe histologique de foie d'un rat traité par la vitamine E à 15 mg/100 g du poids corporel pendant 21 jours, montrant les hépatocytes à état normale. Grx400.

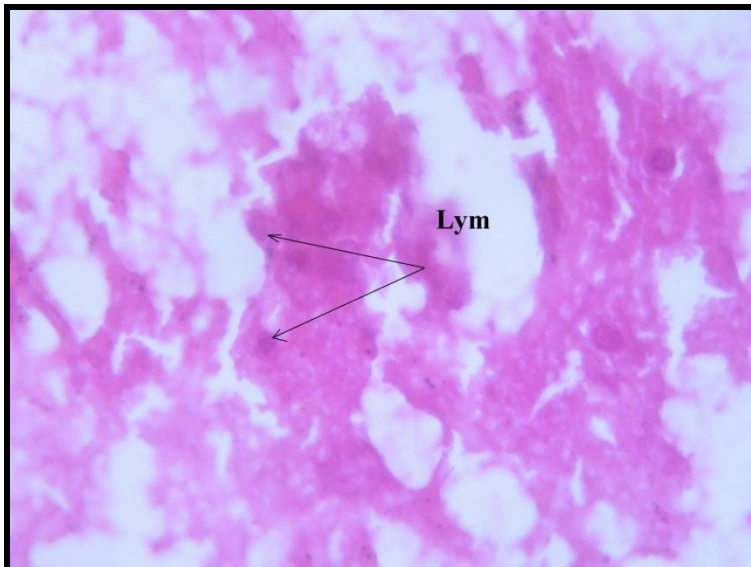


C : Coupe histologique de foie d'un rat traité par le sélénium à 10 μ g/100 g du poids corporel pendant 21 jours, montrant les hépatocytes à état normale. Grx400.

Figure 55 : Représente les coupes histologiques du foie de rat témoin et traités par la Vit E et le Se colorées à Hématéine-Eosine 400X.



Grx100.

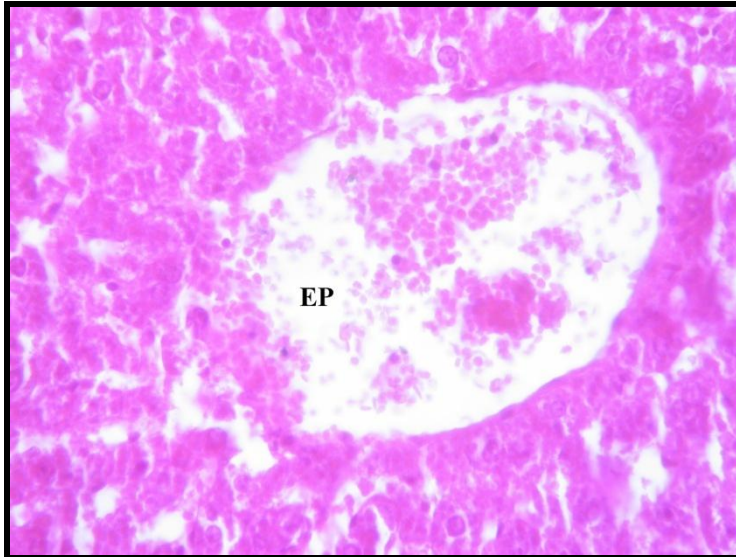


Grx250.

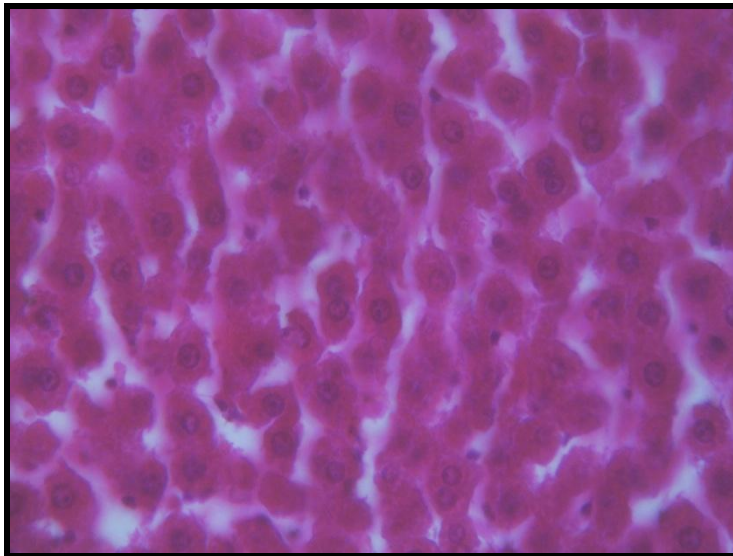


Grx400.

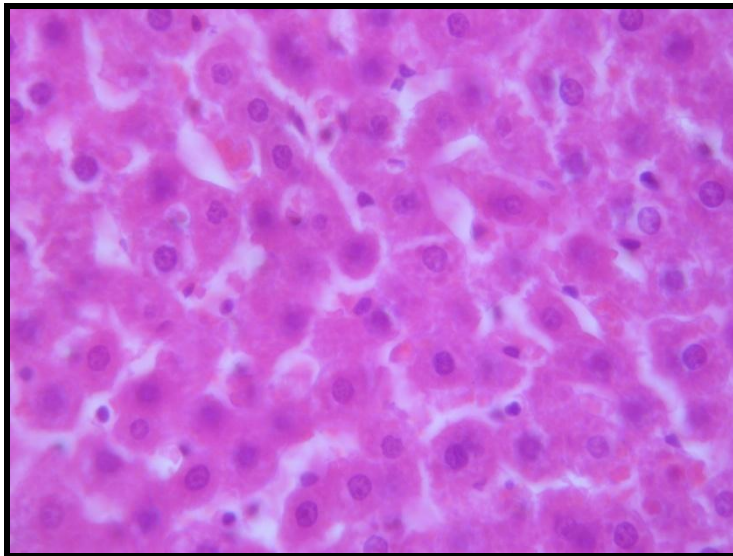
D : Coupe histologique de foie d'un rat traité par le nickel 20 mg/kg pendant 21 jours, montrant la présence une nécrose hépatocytaire (NH) avec une inflammation discrète (Lym). Dilatation des espaces portes accompagnés d'élargissement des espaces sinusoides (EP).



E : Coupe histologique de foie d'un rat traité par la combinaison Ni+Vit E pendant 21 jours, montrant une diminution importante des dommages histologique avec une dilatation des espaces portes (EP) Grx400.



F : Coupe histologique de foie d'un rat traité par la combinaison Ni+Se pendant 21 jours, montrant les hépatocytes à état normale. Grx400.



G : Coupe histologique de foie d'un rat traité par la combinaison Ni+Vit E+Se pendant 21 jours, montrant les hépatocytes à état normale. Grx400.

Figure 56: Représente les coupes histologiques du foie de rat témoin et traités par le Ni et par les combinaisons (Ni+ Vit E, Ni+Se et Ni+ Vit E+Se) colorées à Hématéine-Eosine.

DISCUSSION

L'observation des coupes histologique des rats traités par le nickel montrent des changements remarquables au niveau du tissu hépatique, ce qui pourrait s'expliquer par l'effet toxique du nickel suite à la génération des radicaux oxygénés libres ainsi que l'augmentation des taux cellulaires de la peroxydation lipidique (Chan et Decker, 1994; Yu, 1994), qui ont provoqué des effets nuisibles sur les composants membranaires d'hépatocytes.

L'étude histologique du foie a montré la présence d'une nécrose tissulaire avec une inflammation discrète toute autour qui peut être dû à la suppression de la réponse immunitaire, en plus, il existe un filtre inflammatoire périvasculaire autour du vaisseau avec l'infiltration de cellules lymphocytaires où la présence des polynucléaires n'est pas en quantité aussi importante et une dilatation des espaces portes accompagné d'élargissement des espaces sinusoides a été également observé. Cela pourrait être dû à la formation de radicaux hautement réactifs en raison de l'oxydation induite par l'effet toxique du nickel. Les hydroperoxydes accumulées peuvent provoquer la cytotoxicité, qui est associée à la peroxydation des phospholipides membranaires par les hydroperoxydes lipidiques, considéré la base de dommages cellulaires (Cempel et Janicka, 2002)

Les conditions nécrotiques coïncident avec nos études biochimiques, qui montrent une augmentation des niveaux très élevés du taux de l'MDA, l'indicateur de la peroxydation lipidique avec l'augmentation des transaminases et la phosphatase alcaline et une diminution des protéines et d'albumine (Pari et Amudha, 2011).

Dans les études antérieures, des observations similaires ont été enregistrées suite à la toxicité du nickel (Mathur *et al*, 1977; Sidhu *et al*, 2004; Iscan *et al*, 2002).

Alors que, chez le lot traité par la combinaison Ni+Vit E il existe une légère dilatation des espaces sinusoides (plein de sang) avec une restauration de modèle lamellaire d'hépatocytes. Il est également observé que le traitement à la combinaison Ni+Se ainsi que la combinaison Ni+Vit E+Se est efficace pour réduire l'accumulation de nickel au niveau du tissu hépatique, où le tissu hépatique présente des hépatocytes régulières.

Cela peut être attribué à la capacité antioxydante du sélénium de la vitamine E à réduire la menace des radicaux oxygénés et augmentent la régénération de la structure du foie ce qui mène à la réduction de changement pathologiques (Hanafy et Soltan, 2004; Bansal *et al*, 2005; Agarwal *et al*, 2011; Bhatti *et al*, 2010).

Ces résultats suggèrent que l'injection intrapéritoniale de la vitamine E et le sélénium peuvent réduire les facteurs de risque hépatiques et peuvent empêcher la peroxydation lipidique et des lipoprotéines au niveau des tissus (Soudani *et al*, 2010; Ben Amara *et al*, 2011; Hfaiedh *et al*, 2012; Stawiarska-Pieta *et al*, 2012)

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES :

La présente étude a évalué l'effet protecteur du sélénium et de la vitamine E contre la toxicité induite par le sulfate de nickel. Les résultats de cette étude démontrent, d'une part, que l'administration du sulfate de nickel à 20 mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale chez les rats mâles adultes pendant 21 jours, a provoqué l'apparition d'atteintes tissulaires causées au niveau métabolique et excréteur, associée à des perturbations des paramètres biochimiques, hématologique ainsi que quelques paramètres du stress oxydatif. D'autre part, les résultats obtenus montrent que la supplémentation du sélénium sous forme de sélénite de sodium (10µg/100g de poids corporel) et de la vitamine E sous forme de α -tocophérol (15mg/kg de poids corporel) avec le nickel a amélioré la plus parts de paramètres étudiés qu'on peut les résumés dans les points suivantes:

- ✚ La croissance physiologique des rats a été influencée par le traitement par le nickel puisque on a enregistré une diminution du poids corporel; avec une augmentation des poids absolus et relatifs des organes (foie, reins, testicules et cerveau). Signalons que ces perturbations sont améliorées par le traitement avec la vitamine E et le sélénium.
- ✚ Une perturbation du métabolisme biochimique plasmatique, le nickel a induit hyperglycémie, une augmentation de la concentration sérique du cholestérol, des triglycérides, lipides totaux de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique, de bilirubine total et direct. Ceci s'accompagné par une augmentation de l'activité enzymatique des marqueurs hépatiques AST, ALT et ALP ainsi que de la α -amylase. Une diminution de la concentration des protéines totales et de l'albumine été également signalés. L'association au vitamine E et au sélénium a ramené presque à la normale les valeurs de ces paramètres, ce qui peut témoigner l'effet protecteur de ces deux antioxydants contre la toxicité du nickel.
- ✚ La toxicité du sulfate de nickel sur la fonction hématologique a été reflétée par une chute du nombre de globules rouges (GR), du taux de l'hémoglobine (Hb), du taux de l'hématocrite (HC) ainsi que des valeurs du VGM témoignant de l'installation d'une anémie. Par contre, le traitement par la vitamine E et le sélénium, ces perturbations enregistrées avec le nickel sont améliorées. Donc, il semble que le sélénium et la vitamine E protège l'érythropoïèse contre les effets cytotoxiques.

-
- ✚ Une meilleure caractérisation de l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité vis à vis à la toxicité du nickel à travers le dosage du GSH, du GPx au niveau de foie, des reins ainsi que la présence d'une toxicité au niveau des testicules et du cerveau qui est expliqué par une déplétion du système de détoxification à glutathion en comparaison avec les rats témoins. Une augmentation hautement significative des taux de peroxydation lipidique (MDA) ce qui montre l'effet peroxydatif de ce métal au niveau des organes étudiés. Une augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion – S – transférase. Associées au sélénium et/ou la vitamine E, ces perturbations enregistrées avec le nickel sont améliorées. Donc, il semble que le sélénium et la vitamine E possèdent un l'effet antioxydant contre l'effet cytotoxiques au niveau du foie, reins, testicule et cerveau.
 - ✚ Une altération structurale du foie a été détectée par la présence d'une nécrose hypatoctaire avec une inflammation discrète associée à une suppression de la réponse immunitaire. Ceci témoigne de l'effet cytotoxique local du nickel sur les hépatocytes. En présence du sélénium et de la vitamine E, le nickel n'exerce plus un effet cytotoxique hépatique, ceci grâce à le pouvoir antioxydant et l'effet protecteur en synergie de ces deux éléments essentiels.

Les perspectives de notre travail sont encore nombreuses sur ce sujet. Il serait intéressant d'éclaircie davantage les mécanismes de défenses radicalaires, et ceci par des études de recherches plus approfondie en s'intéressant de près au système radicalaire et au statut antioxydant total par d'une part, le dosage d'autres marqueurs du stress oxydant (Le rapport GSH /GSSG , Catalase, SOD, Vitamines E et C,) et d'autre part, apprécier les effets du nickel sur le système immunitaire et l'effet protecteur possible du sélénium et de la vitamine E. En plus il est souhaitable de réaliser des études in vitro afin de mieux comprendre les différents molécules de signalisation cellulaire présente au cour de ce traitement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abawi F.G. et Sullivan T.W. (1989). Interaction of vitamin A, D3, E and K in the diet of broiler chicks. *Poult Sci.* 68 : 1490.

Abdelaziz I. et Ashour A.E.R. (2011). Effect of saccharin on albino rats' blood indices and the therapeutic action of vitamins C and E. *Hum. and Exp.* 30(2): 129-137.

Abuja P.M. et Albertini R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin. Chim. Acta.* 306: 1-17.

Adesiyan A.C., Oyejola T.O., Abarikwu S.O. *et al.* (2011). Selenium provides protection to the liver but not there productive organs in an atrazine-model of experimental toxicity. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 63: 201-207.

Afonso V., Champy R. et Mitrovic D. *et al.* (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme* 74: 636-643.

Agarwal R., Goel S.K., Chandra R. *et al.* (2011). Role of vitamin E in preventing acute mercury toxicity in rat. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 29: 70-78.

Agarwal R., Goel S.K., Chandra R. et Behari J.R. (2010). Role of vitamin E in preventing acute mercury toxicity in rat. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 29: 70-78.

Aggarwal B.B., Sundaram C., Prasad S., *et al.* (2010). Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochem Pharmacol.* 80 : 1613-31.

Al-Attar A. M. (2011). Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 18: 63-72.

Anwar K., Iqbal J. et Hussain M.M. (2007). Mechanisms involved in vitamin E transport by primary enterocytes and in vivo absorption. *J Lipid Res.* 48 : 2028-38.

Aposhian H.V., Gurzan E.S., Le X.C. (2000). Occurrence of monomethylarsonous acid in urine of humans exposed to inorganic acid. *Chen. Res. Toxicol.* 13, 693-697.

Arthur J., Nicol F., Hutchinson A. et Beckett G. (1990). The effects of selenium depletion and repletion on the metabolism of thyroid hormones in the rat. *J. Inorg Chem.* 39: 101-108.

Athar M., Hasan S.K. et Srivastava R.C. (1987). Role of glutathione metabolizing enzymes in nickel mediated induction of hepatic glutathione. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 57: 421.

ATSDR. (Agence américaine des substances toxiques et du registre des maladies) (2005). Toxicological Profile for Nickel. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. August.

Auasthi Y.C., Beutler E. et Srivastava S.K. (1975). Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.*, 250: 5144.

Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z. *et al.* (1989). Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. Cell origin and secretion. *J. Biol. Chem.* 264: 15850-15855.

Azzi A. (2007). Molecular mechanism of alphotocopherol action. *Free Radic Biol Med.* 43 : 16-21.

Azzi, A. et Stocker, A. (2000) Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog. Lipid Res.* 39:231-255.



Banerjee B.D., Seth V., Bhattacharya A. *et al.* (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol. Lett.* 107: 33-47.

Bansal A.K., Bansal M., Soni G. et Bhatnagar D. (2005). Protective role of Vitamin E pre-treatment on N-nitrosodiethylamine induced oxidative stress in rat liver. *Chemico-Biological Interactions* 156: 101–111.

Banudevi S., Krishnamoorthy G., Venkataraman P. *et al.* (2006). Role of α -tocopherol on antioxidant status in liver, lung and kidney of PCB exposed male albino rats. *Food and Chemical Toxicology.* 44: 2040-2046.

Barbezat, G.O. et coll. (1984). Selenium. Dans: Absorption and malabsorption of mineral nutrients. Solomons N.W. et Rosenberg I.H. (dir. de publ.). Alan R. Liss, New York, NY. p. 231.

Barceloux D.G. (1999). *Toxicol. Clin. Toxicol.* 37: 239-258.

Baruthio F. (1991). Toxicologie des éléments trace essentiels. In: Chappuis P ed. *Les oligo-Oldments en Médeetine et Biologie.* Paris: Lavoisier Tec et Doc. 213-310.

Baudin B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt. cardio.* 2(1) : 43-52.

Beck M.A. (1997). Increased virulence of Coxsakievirus B3 in mice due to vitamin E or selenium deficiency. *J. Nutr.* 127: 966-70.

Becker B.F., Reinholz N., Leipert B. *et al.* (1991). Role of uric acid as and endogenous radical scavenger and antioxidant. *Chest*, 100(Suppl 3): 176-181.

Behne D. et Kyriakopoulos A. (2001). Mammalian selenium-containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21: 453-473.

Ben Amara I., Soudani N., Troudi A. *et al.* (2011). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74: 811-819.

Bencko V., Wagner V., Wagnerova M. et Reichrtova E. (1983). Immuno-biochemical findings in groups of individuals occupationally and non-occupationally exposed to emissions containing nickel and cobalt. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 27(4): 387-394.

Benson J.M., Burt R.L., Carpenter A.F. *et al.* (1988). Comparative Inhalation Toxicity of Nickel Sulfate to F344/N Rats and B6C3F1 Mice Exposed for Twelve Days. *Fund. Appl. Toxicol.* 10: 164-178.

Benson J.M., Burt D.G., Cheng Y.S., *et al.* (1990). Subchronic Inhalation Toxicity of Nickel Subsulfide to Rats and Mice. *Inhal Toxicol.* 2: 1-19.

Berger M.M. (1995). Role des oligo-éléments et des vitamines en nutrition périopératoire. *Nutr. Clin. Métabol.* 9 (Suppl 1): 91-103.

Bertinato J, Hidiroglou N, Peace R, et al. (2007). Sparing effects of selenium and ascorbic acid on vitamin C and E in guinea pig tissues. *Nutr J.* 6: 7.

Beyer R.E. (1994). The role of ascorbate in antioxidant protection of biomolecules: interaction with Vitamin E and coenzyme Q. *J. Bioenerg. Biomemb.* 26: 349-358.

Bharath S., Hsu M., Kaur D. *et al.* (2002). Glutathione, iron and Parkinson's disease. *Biochem. Pharmacol.* 64: 1037-48.

Bhatti G.K., Kiran R. et Sandhir R. (2010). Modulation of ethion-induced hepatotoxicity and oxidative stress by vitamin E supplementation in male Wistar rats. *Pestic Biochem Phys* 98: 26-32.

Bianco, A.C., Salvatore, D., Gereben, B. *et al.* (2002). Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr. Rev.* 23: 38-89.

Bierenbaum M.L., Noonan F.J., Machlin L.J. *et al.* (1985). The effect of supplemental vitamin E on serum parameters in diabetics, post coronary and normal subjects. *Nutr. Rep. Int.* 31(6): 1171-1180.

Borel P, Pasquier B, et al. (2001). Processing of vitamin A and E in the human gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 280 : G95-103.

Borel P. (2003). Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food

microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). Clin Chem Lab Med. 41: 979-94.

Bradford M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding, Anal. Biochem. 72: 248-254.

Bray T.M. et Taylor C.G. (1993). Tissue glutathione, nutrition, and oxidative stress. Can. J. Physiol. Pharmacol. 71: 746-751.

Brigelius-Flohe R. (2009). Vitamin E: the shrew waiting to be tamed. Free Radic Biol Med. 46 : 543-54.

Brun R. (1979). Nickel dans les aliments et eczéma de contact. Dermatologica. 159: 365-70.

Burk R.F. et Hill K.E. (2005). Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. Annu. Rev. Nutr. 25: 215-235.

Burkitt M.J.A. (2001). Arch. Biochem. Biophys. 394, 117-135.

Burtis A. (1999). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. AACC.

Burton G.W. (1990). Vitamin E: antioxidant Activity, biokinetics, and Bioavailability. Annu. Rev. Nutr. 10: 357-82.

Burton G.W. et Ingold K.U. (1989). Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. Ann. NY. Acad. Sci. 570: 7-22.



Cadenas E., Davies J.A. (2000). Free Radical. Biol. Med. 29: 222.

Camner P. et Johansson A. (1992). Reaction of Alveolar Macrophages to Inhaled Metal Aerosols. Environ. Health Perspect. 97: 185-188.

Camner P., Johansson A. et Lundborg M. (1978). Alveolar Macrophages in Rabbits Exposed to Nickel Dust: Ultrastructural Changes and Effect on Phagocytosis. Environ. Res. 16: 226-235.

CARB. (2008). Annual Statewide Toxics Summary: Nickel (<http://www.arb.ca.gov/adam/toxics/statepages/nistate.html>).

Carbonneau M.A., Leger C.L., Descomps B., Michel F. et Monnier L. (1998). Improvement in the antioxidant status of plasma and low-density lipoprotein in subjects receiving a red wine phenolics mixture. J Am Oil Chem Soc. 75 : 235-40.

Cartana J., Romeu A. et Arola L.L. (1992). Effects of copper, cadmium and nickel on liver and kidney glutathione redox Cycle of rats (*rattus sp.*). *Coop. Biochem. Physiol.* 101C(2): 209-213.

Cemek M., Buyukben A., Buyukokuroglu M. E., Aymelek F. et Tur L. (2010). Protective roles of vitamin E (α -tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 96: 113-118.

Cempel M. et Janicka K. (2002). Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after oral administration of nickel (II) chloride, *Biol. Trace Elem. Res.* 90(1-3): 215-226.

Cerruti P. (1985). Prooxidant state and tumor promotion. *Science.* 227: 375-81.

Chakrabarti S.K. et Bai C. (1999). Role of Oxidative Stress in Nickel Chloride-Induced Cell Injury in Rat Renal Cortical Slices. *Biochemical Pharmacology.* 58: 1501-1510.

Chan K.M. et Decker E.A. (1994). Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34: 403-426.

Chan A.C., Chow C.K. et Chiu D. (1999). Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 222: 274-82.

Chan P.H. (2001). Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21: 2-14.

Chasseaud, L.F. (1979). *Adv. Cancer Res.* 29 : 175-274 /3-Mannervik, B. 1985. *Adv. Enzymol.* 57: 357-417.

Chaudiere J. et Ferrari-Illiou R. (1999). Intracellular antioxidant from chemical to biochemical mechanism. *Food Chem Toxicol.* 37: 949-62.

Chen C.Y., Wang Y.F., Huang W.R. *et al.* (2003). Nickel induces oxidative stress and génotoxicity in human lymphocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 189: 153-159.

Chen H., Davidson T., Singleton S. *et al.* (2005). Nickel decreases cellular iron level and converts cytosolic aconitase to iron-regulatory protein 1 in A549 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 206(3): 275-87.

Chiffolleau J.C. (2001). La contamination métallique, IFREMER, Région Haute normandie. *Programme scientifique Seine-Aval.* 8 : 39.

Christopher Newland M., Reed M.N., Le Blanc A. *et al.* (2006). Brain and blood mercury and selenium after chronic and developmental exposure to methylmercury. *NeuroToxicology.* 27: 710-720.

Chu F.F., Doroshov J.H. et Esworthy R.S. (1993). Expression, characterization and tissue distributions of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem.* 268: 2571-6.

Combs G.F. (1994). Essentiality and toxicity of selenium: a critique of the recommended dietary allowance and the reference dose. In: Merz W., Abernathy C.O., Olin S.S. editors. Risk assessment of essential elements. Washington: Ilsi Press. 167-83.

Cornell R.G. et Landis J.R. (1984). Mortality patterns among nickel/chromium alloy foundry workers. Nickel in the Human Environment. Lyon, France, IARC scientific publication. 53: 87-93.

Costa M., Salnikow K., Cosentio Z. *et al.* (1994). Molecular mechanism of nickel carcinogenesis. Environ. Health Perspect. 102: 127-130.

Cotton F.A. et Wilkinson G. (1988). Advanced Inorganic Chemistry: A Comprehensive Text. Wiley-Interscience, New York, NY (4^e édition, 1980; 5^e édition).

Cox J.E., Doll R., Scott W.A. et Smith S. (1981). Mortality of nickel workers: experience of men working with metallic nickel. Br J Ind Med. 38(3): 235-239.

Cuvelier C, Dotreppe O, Istasse L. (2003). Vitamine E : état des connaissances chez les carnivores domestiques. Métabolisme, besoins et apports. Ann Méd Vét.147:367- 382.



Daldrup T., Haarhoff K. et Szathmary S.C. (1983). Fatal nickel sulfate poisoning. Beitr Gerichtl Med. 41: 141-144.

Danaadevi K., Rozati R. et Reddy P.P. (2003). Semen quality of Indian welders occupationally exposed to nickel and chromium. Rreprod Toxicol. 17: 451-456.

Danadevi K., Rozati R., Bannu B.S *et al.* (2004). Genotoxic evaluation of welders occupationally exposed to chromium and nickel using the Comet and micronucleus assays. 19(1): 35-41.

Das K.K et Das S.N. (2004). Studies on the role of ascorbic acid on nickel induced hepatic nucleic acid concentrations in rats. Basic Clin. Physiol. Pharmacol. 15: 185-195.

Das K.K., Gupta A.D., Dhundasi S.A. *et al.* (2006). Effect of L-ascorbic acid on nickel-induced alterations in serum lipid profiles and liver histopathology in rats. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. 17: 29-44.

Davies K.J. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB Life. 50: 279-89.

De Haan J.D., Bladier C., Griffiths P., *et al.* (1998). Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. J. Biol. Chem. 273: 22528-36.

Dean R.T., Fu S., Stocker R. et Davies M.J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.* 324: 1-18.

Defraigne J.O. et Pincemail J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev. Med. Liège.* 63: 10-19.

Delattre J. (2005). Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris –
Deneke S.M. et Fanburg B.L. (1989). Regulation of cellular glutathione, *Am. J. Physiol.* 257: 163-173.

Denkhaus E. et Salnikow K. (2002). Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Cr. Rev. Oncol. J. Hematol.* 42: 35-56.

Desmettre T., Lecerf J.M. et Souied E.H. (2004). Nutrition et dégénérescence maculaire liée à l'âge. *J Fr. Ophtalmol.* 27: Cahier 2, 3S38-3S56.

Didier C., Kerblat I., Drouet C., *et al.* (2001). Induction of thioredoxin by ultraviolet-A radiation prevents oxidative-mediated cell death in human skin fibroblasts. *Free Radic. Biol. Med.* 31: 585-598.

Dieter M.P., Jameson C.W., Tucker A.N. *et al.* (1988). Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water. *J. Toxicol. Environ. Health.* 24(3): 357-72.

Diplock A.T. (1991). Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 189- 193.

Doimas B. (1971). *Clin. Chim. Acta.* 31, 87.

Dormer R.L., Kerbey A.L., Mcpherson M. *et al.* (1973). The Effect of Nickel on Secretory Systems studies on the release of amylase, insulin and growth hormone. *Biochem. J.* 140: 135-142.

Draper H.H., Dhanakoti S.N., Hadley M. et Piche L.A. (1988). Malondialdehyde in biological systems, in: C.K. Chow (Ed.). *Cellular Antioxidant Defense Mechanism*, CRC Press, Boca Raton, USA. 97-100.

Dubois F. et Belleville F. (1988). Sélénium : Rôle physiologique et intérêt en pathologie humaine. *Pathology Biological.* 36 (8) : 1017-1025.

Ducros V. et Favier A. (2004). Métabolisme du sélénium. *EMC-Endocrinologie* 1: 19-28.

Dunnick J.K., Benson J.M., Hobbs C.H., *et al.* (1988). Comparative toxicity of nickel oxide, nickel sulfate hexahydrate, and nickel subsulfide after 12 days of inhalation exposure to F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicology.* 12: 145-156.

Dunnick J.K., Elwell M.R., Benson J.M., *et al.* (1989). Lung toxicity after 13-week inhalation exposure to nickel oxide, nickel subsulfide, or nickel sulfate hexahydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol.* 12(3) 584-594.

Duranda D., Damonb M. et Gobert M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de nutrition et de diététique.* 48: 218-224.

Duthie S.J., Ma A., Ross M.A., Collins A.R. (1996). Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res.* 56 : 1291-5.



Echevarria G., Massoura S.T., Sterckeman T. *et al.* (2006). Assessment and control of the bioavailability of nickel in soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 25(3): 643-51.

El-Demerdash F.M., Yousef M.I., Kedwany F.S. et Baghdadi H.H. (2004). Role of α -tocopherol and b-carotene in ameliorating the fenvalerate-induced changes in oxidative stress, hemato-biochemical parameters and semen quality of male rats. *Journal of Environmental Science and Health.* 39: 443-459.

El-Elaimy A., El-Nabi S.E.H. (1990). Influence of thiola on pesticide induced intoxication. II-preventive effect of liver damage. *J. Environ. Sci.* 1: 67-82.

Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation* : 17, 387-392.

Enterline P.E. et Marsh G.M. (1982). Mortality among workers in a nickel refinery and alloy manufacturing plant in West Virginia. *J Natl Cancer Inst.* 68(6) 925-933.

Escobar J.A., Rubio M.A. et Lissi E.A. (1996). Superoxide dismutase and catalase inactivation by singlet oxygen and peroxy radicals. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 285-90.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H. et Ju gens G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* 13: 341-90.

Eva H. et Sunderman W.F. (1975). Effects of Ni(II) Upon Plasma Glucagon and Glucose in Rats. *Toxicology And Applied Pharmacology.* 33: 388-39.

Evans W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 647-652.



Faure P., Barclay D., Joyeux-Faure M. et Halimi S. (2007). Comparison of the effects of zinc alone and zinc associated with selenium and vitamin E on insulin sensitivity and oxidative stress in high-fructose-fed rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 21: 113-119.

Favier A. (2006). Effets biologiques des anti-oxydants : les données de l'étude SU.VI.MAX. *OCL*. 13 (1) : 35-38.

Favier A., Arnaud J. et Piedimonte A. (1984). Données actuelles sur la biochimie des oligo-éléments : le Sélénium. *Lyon Pharm*. 35(6): 343-353.

Favier A., Hercberg S. et Galan P. (2006). Effets biologiques des anti-oxydants : les données de l'étude SU.VI.MAX. *Ocl*. 13(1): 35-38.

Favier M. et Hininger I. (1997). Oligoéléments: zinc, cuivre, sélénium, chrome. Conséquences d'une carence, d'un excès en oligoéléments et intérêt d'une supplémentation systématique. *Journal de Gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*. 26(3) : 109-114.

Favier, A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin*. 55 (1) : 9-16.

Favier, A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin*. 55 (1) : 9-16.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique*, 108-115.

Flohe L., Gunzler W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol*. 105: 114–121.

Flora S. J.S., Kannan G. M. et Kumar P. (1999). Selenium effects on gallium arsenide induced biochemical and immunotoxicological changes in rats. *Chemico-Biological Interactions*. 122: 1-13.

Forceville X. et Van Antwerpen P. (2008). Composés sélénés et sélénium, quelle place en réanimation ?. *Réanimation*. 17: 442-453.



Gibson R.S. et Scythes C.A. (1984). Chromium, selenium, and other trace element intakes of a selected sample of Canadian premenopausal women. *Biol. Trace Elem. Res*. 6: 105.

Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. (2001). Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacol*. 40: 959–75.

Gisela K. Clemons et Joseph F.G. (1981). Neuroendocrine Effects of Acute Nickel Chloride Administration in Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 61: 343-348.

Glynn R.J., Ridker P.M., Goldhaber S.Z., Zee R.Y. et Buring J.E. (2007). Effects of random allocation to vitamin E supplementation on the occurrence of venous thromboembolism: report from the Women's Health Study. *Circulation*. 116 : 1497-503.

Goodman G.E., Metch B.J. et Omenn G.S. (1994). The effect of long-term β -carotene and vitamin A administration on serum concentrations of α -tocopherol. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 3 : 429-32.

Goudable J. et Favier A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr. Clin. Metabol*. 11:115-20.

Graham T.W. (1991). Trace element deficiencies in Cattle. *Vet. Clin. North. Am.* 7: 153-197.

Greger J.L. et Marcus R.E. (1981). Effect of dietary protein, phosphorus, and sulfur amino acids on selenium metabolism of adult males. *Ann. Nutr. Metab*. 25: 97.

Griffith O.W. (1999). Biological and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radical Biol. Med*. 27: 922-935.

Grimble R.F. (1993). The maintenance of antioxydant defenses during inflammation. Springer Verlag. 347-363.

Gromer S., Johansson L., Bauer H. *et al.* (2003). Active sites of thioredoxin reductases: why selenoproteins? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100: 12618-12623.

Gromer S., Urig S. et Becker K. (2004). The thioredoxin system--from science to clinic. *Med. Res. Rev*. 24: 40-89.

Guilland J.C. (2011). Les interactions entre les vitamines A, D, E et K : synergie et/ou compétition. *OCL*. 18(2) : 59-67.

Gupta A.D., Das S.N., Dhundasi S.A. et Das K.K. (2008). Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Heavy Metal (Nickel II and ChromiumVI) Induced Alteration of Serum Lipid Profile in Male Albino Rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 5(3): 147-151.

Gupta M., Dobashi K., Greene E.L. *et al.* (1997). Studies on hepatic injury and antioxidant enzyme activities in rat subcellular organelles following in vivo ischemia and reperfusion. *Mol. Cell. Biochem*. 176: 337-347.

Gutteridge J.M. et Halliwell B. (1988). Oxygen radicals and tissue injury. *FASEB*. 9-19.

GH

Haber L.T., Diamond G.L., Zhao Q. *et al.* (2000). Hazard identification and dose response of ingested nickel-soluble salts. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 31(2-1): 231-241.

Haber L.T., Diamond G.L., Zhao Q., *et al.* (2000). Identification and dose response of ingested nickel-soluble salts -*Regul. Toxicol. Pharmacol.* 31(2-1): 231-241.

Habig W.H., Pabst M.J., Jacobi W.B. (1974). The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O. *et al.* (2007). Le stress oxydant. *Rev. Med. Liege.* 62(10) : 628-638.

Haley P.J., Shopp G.M., Benson J.M. *et al.* (1990). The Immunotoxicity of Three Nickel Compounds Following 13-week Inhalation Exposure in the Mouse. *Fund. Appl. Toxicol.* 15: 476-487.

Haliwell B., Gutteridge J.M.C. (1989). *Free radicals in biology and medicine.* Clarendon Press, Oxford, 1989, 543.

Halliwell B. (1996) Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie.* 44: 6-13.

Halliwell B. et Gutteridge J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 186:1-85.

Halliwell B. et Gutteridge J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine.* 4th ed. Oxford university Press. 20-31.

Hanafy S. et Soltan M.E. (2004). Effects of Vitamin E pretreatment on subacute toxicity of mixture of Co, Pb, and Hg nitrate-induced nephrotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 17: 159-167.

Hare J. (2004). Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N. Engl. J. Med.* 351: 2112-2114.

Haro R.T., Furst A. et Falk H.L. (1968). Studies on the acute toxicity of nickelocene. *Proc West Pharmacol Soc.* 11: 39-42.

Hartmann A. et Niess A.M. (2000). *Oxidative DNA damage in exercise.* Amsterdam: Elsevier. 195-217.

Hashizume T., Santo H., Tsujisawa H. *et al.* (1991). Mutagenic activities of tryptophan-metabolites before and after nitrite treatment. *Food Chem. Toxicol.* 29: 839-44.

Hatfield D.L. et Gladyshev V.N. (2002). How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol.* 22: 3565-3576.

Hayes J.D. et Pulford D.J. (1995). The glutathione S-transferase supergene family : regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30: 445-600.

Hendel R.C. et Sunderman F.W.Jr. (1972). Species variations in the proportions of ultrafiltrable and proteinbound serum nickel. *Res. Commun Chem Pathol. Pharmacol.* 4: 141-146.

Hercberg S., Czernichow S. et Galan P. (2006). Antioxydants et prévention des maladies chroniques: synthèse des principaux résultats de l'étude SU.VI.MAX. *Sang Thrombose Vaisseaux.* 18(6): 325-30.

Hercberg S., Preziosi P., Alferez M.J.M., Paul-Dauphin A. (1996). Vitamines antioxydantes et risque de maladies cardiovasculaires. *Sang Thrombose Vaisseaux.* 8(4) : 210-4.

Herrera E. et Barbas C. (2001). Vitamin E: action , metabolism and perspectives; *J. Physiol. Biochem.,* 57 :43-56.

Hfaïedh N., Allagui M.S., Hfaïedh M. *et al.* (2008). Protective effect of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladode extract upon nickel-induced toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 3759-3763.

Hfaïedh N., Allaqui M.S., Croute F. *et al.* (2005). Interaction du jeûne intermittent sur les effets cytotoxiques rénaux du nickel chez le rat pubère. *Comptes rendus Biologies.* 328: 648-660.

Hfaïedh N., Murat J.C. et Elfeki A. (2012). A combination of ascorbic acid and α -tocopherol or a combination of Mg and Zn are both able to reduce the adverse effects of lindane-poisoning on rat brain and liver. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 26: 273-278.

Horak E., William Sunderman F. et J.R. (1975). Effects of Ni(II), Other Divalent Metal Ions, and Glucagon upon Plasma Glucose Concentrations in Normal, Adrenalectomized and Hypophysectomized Rats. *Toxicology And Applied Pharmacology.* 32: 316-329.

Hoppe P.P. et Krennrich G. (2000). Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic alpha tocopherol in the human: a dispute. *Eur J Nutr.* 39:183-193.

Houlot R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie.* Ed. Maloine, 19-21, 225-227.

Housset B. (1990). Aberrations du métabolisme et des acides nucléiques au cours du vieillissement. Rôle des radicaux libres. *Rev. Med. Interne.* 11: 62-66.

Huet O. et Duranteau J. (2008). *Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres .* new york. 620.

Hyaden M.R. et Tyagi S.C. (2003). Is type 2 diabetes mellitus a vascular disease (atheroscleropathy) with hyperglycaemia a late manifestation? The role of NOS, NO and redox stress. *Cardiovasc Diabetol.* 2: 2-9.



Inan C., Kiliç K., Kotiloglu E. *et al.* (1998). Antioxidant therapy of cobalt and vitamin E in hemosiderosis. *J Lab Clin Med.* 132: 157-65.

Iscan M., Ada A.O., Coban T., *et al.* (2002). Combined Effects of Cadmium and Nickel on Testicular Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Rats, *Biological Trace Element Research.* 89: 178-190.

Iscan M., Coban T., Eke B.C. *et al.* (1995). Differential responses of hepatic monooxygenases and glutathione S-transferases of mice to a combination of cadmium and nickel. *Camp. Biochem. Physiol.* 111(1): 61-68.

Iscan M., Coban T., Kapucuoglu N., Aydın A. *et al.* (2002). Combined Effects of Cadmium and Nickel on Testicular Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Rats. *Biological Trace Element Research.* 89: 178-190.

Ishimatsu S., Kawamoto T., Matsuno K. *et al.* (1995). Distribution of various nickel compounds in rat organs after oral administration. *Biol Trace Elem Res.* 49(1):43-52.



Jacques P.F., Halpner A.D. *et al.* (1995). Influence of combined antioxidant nutrient intakes on their plasma concentrations in an elderly population. *Am J Clin Nutr.* 62 : 1228-33.

Jasim S., Tjälve H. (1986). Mobilization of nickel by potassium ethylxanthate in mice: comparison with sodium diethyldithiocarbamate and effect of intravenous versus oral administration. *Toxicol. Lett.* 31(3): 249-55.

Jensen C.S., Lisby S., Larsen J.K. *et al.* (2004). Characterization of lymphocyte subpopulations and cytokine profiles in peripheral blood of nickel-sensitive individuals with systemic contact dermatitis after oral nickel exposure. *Dermatology, Gentofte Hospital, Hellerup.* 50(1): 31-8.

Jensen S.K. *et al.* (2007), Alpha-tocopherol stereoisomers. *Vitam Horm.* 76 : 281-308.

Jerry W., Hatfield E. *et al.* (2008). Interrelationship Between Nickel and Zinc in the Rat Department of Animal Science. University of Illinois, Urbana, Illinois 61801.

Ji Y.B., Akerboom T.P.M., Sies H. *et al.* (1999). S-nitrosylation and S-glutathiolation of protein sulfhydryls by S-nitroso glutathione, *Arch. Biochem. Biophys.* 362: 67-78.

Jialal I. *et al.* (1993). Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta-carotene on low-density-lipoprotein oxidation. *Circulation.* 88 : 2780-6.

Jiang Q., Christen S., Shigenaga M.K., et al. (2001). Gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am J Clin Nutr.* 74 : 714-22.

Johansen P., Wackerle-Men Y., Senti G. et Kundig T.M. (2010). Nickel sensitisation in mice: A critical appraisal. *Journal of Dermatological Science.* 58: 186-192.

Johnson F. et Giulivi C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol. Aspects Med.* 26: 340-52.

Johnson R.M. et Baumann C.A. (1948). The effect of alpha-tocopherol on the utilisation of carotene by the rat. *J. Biol. Chem.* 175 : 811.

Jones D.P., Carlson J.L., Mody V.C. *et al.* (2000). Sternberg, Redox state of glutathione in human plasma, *Free Rad. Biol. Med.* 28: 625-635.

Jordi C. et Lluís A. (1992). Nickel-induced hyperglycaemia: the role of insulin and glucagon. *Toxicology.* 71: 181-192.

José M. Mate S., Pérez-Gomez C. et De Castro I.N. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry.* 32(8): 595-603.

Jotty K., Ojeda M.L., Nogales F. *et al.* (2009). Selenium tissue distribution changes after ethanol exposure during gestation and lactation: Selenite as a therapy. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 2484-2489.

Jung K. et Henke W. (1996). Developmental changes of antioxidant enzymes in kidney and liver from rats. *Free Radic. Biol. Med.* 20: 613-617.

Juurlink B.H. (1997). Response of glial cells to ischemia: roles of reactive oxygen species and glutathione. *Neurosci Biobehav Rev.* 21:151-66.

K

Kang, Y.J., Chen, Y. et Epstein, P.N. (1996). Suppression of doxorubicin cardiotoxicity by overexpression of catalase in the heart of transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 271: 12610-12616.

Kaplan A. (1984). Urea. Kaplan A et al. *Clin chem.* The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton; 1257-1260.

Kaplan L.A. (1984). Glucose. Kaplan A et al. *Clin chem.* The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton; 1032-1036.

Karakilçik A.Z., Hayat A., Zerin M. et Çay M. (2003). Effects of intraperitoneally injected selenium and vitamin E in rats anesthetized with halothane. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 17(1): 33-38.

Karakilçik A.Z., Hayat A., Zerin M., et Çay M. (2003). Effects of intraperitoneally injected selenium and vitamin E in rats anesthetized with halothane. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 17(1): 33-38.

Kashif S.M., Zaidi R. et Banu N. (2004) .Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta.* 340: 229-233.

Kayanoki Y., Fujii J., Islam K.N. *et al.* (1996). The protective role of glutathione peroxidase in apoptosis induced by reactive oxygen species. *J. Biochem. (Tokyo).* 119(4): 817-22.

Kazimierz S., Kasprzak A., Sunderman F.W. *et al.* (2003). Nickel carcinogenesis .University of Vermont College of Medicine, Burlington, VT 05401, USA *Mutation Research.* 533: 67-97.

Kiilunen M., Utela J., Rantanen T. *et al.* (1997). Exposure to soluble nickel in electrolytic nickel refining. *Annal. occup. Hyg.* 41(2): 167-188.

Kohrle J. (2005). Selenium and the control of thyroid hormone metabolism. *Thyroid.* 15: 841-53.

Kojo S. (2004). Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress, *Curr. Med. Chem.* 11: 1041-1064.

Kuhn H. et Borchert A. (2002). Regulation of enzymatic lipid peroxidation in the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes. *Free radic .Biol.Med.* 33(2): 154-172.

Kumar M.S. et Selvam R. (2003). Supplementation of vitamin E and selenium prevents hyperoxaluria in experimental urolithic rats. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 14: 306-313.

Kuroiwa K., Nelson J., Boyce S., Alexander J., Ogle C., Inoue S. (1991). Metabolic and immune effect of vitamin E supplementation after burn. *JPEN.* 15 : 22-26.



Lagrost L. (1999). Plasma phospholipid transfer protein prevents vascular endothelium dysfunction by delivering a-tocopherol to endothelial cells. *The FASEB Journal.* 13:883–892.

Läuchli A. (1993). *Bot. Acta.* 106 : 455.

Lebreton P., Salat O. et Nicol J.M. (1998). Un point sur le sélénium. *Bull. Tech. GTV.* 5: 35-47.

Leelavinothan P et Kasinathan A. (2011). Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *Eur J Pharmacol.* 650: 364-370.

Leger C.L. (2000). La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides.* 7 (3) : 258-65.

Léger C. (1992.) Vitamine E, tocophérols et composés apparentés : propriétés anti-oxygène et rôle biologique, sources alimentaires. Polytechnica.

Lehr H-A., Vajkoczy P., Menger M.D., et Arfors K.E. (1999). Do vitamin E supplements in diets for laboratory animals Jeopardize findings in animal models of disease?. *Free Radical Biology and Medicine.* 26: 472-481.

Lennon C., Davidson K.W., Sadowski J.A., Madson J.B. (1993). The vitamin K content of intravenous lipid emulsions. *JPEN.* 17 : 142-144.

Levander O.A. (1977). Metabolic interrelation ships between arsenic and selenium. *Environ. Health Perspect.* 19: 159-164.

Levander, O.A. et Morris, V.C. (1970). Interactions of methionine, vitamin E, and antioxidants in selenium toxicity in the rat. *J. Nutr.*, 100: 1111.

Lieber D.C. (1993). The ro[e of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit. Rev. Toxicol.* 23: 147-169.

Lindau-Sehpard B. et Shaffer J. (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad. Biol. Med.* 15: 581-8.

Lloyd G.K. (1980). Dermal absorption and conjugation of nickel in relation to the induction of allergic contact dermatitis Preliminary results. Brown SS Sunderman FW Jr Nickel toxicology. London UK Academic Press. 145-148.

Lu H., Shi X., Costa M. et Huang C. (2005). Carcinogenic effect of nickel compounds. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 279: 45-67.

Luchese C., Pinton S. et Nogueira C.W. (2009). Brain and lungs of rats are differently affected by cigarette smoke exposure: Antioxidant effect of an organoselenium compound. *Pharmacological Research.* 59: 194-201.



Machlin I.J. Bendich A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1: 441-5.

Maellaro H., Casini A.F., Delbello B., *et al.* (1990). Lipid peroxidation and antioxidant systems in the liver injury produced by glutathione depleting agents. *Biochem Pharmacol.* 39: 1515-1521.

Maggee R.J et James B.D. (1996). Selenium. In handbook on metals in clinical and analytical chemistry. Marcel Dekker, Inc; New York.Basel.Hong Kong. 551-562.

Maiese K., Chong Z.Z., Hou J. et al. (2010). Oxidative stress: Biomarkers and novel therapeutic pathways. *Experimental Gerontology.* 45: 217-234.

Malloy H.T. (1937). The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J. Biol Chem.* 112 (2): 481-491.

Mandava V.R., Sunita L.C. et Seema R.S. (2009). Protective role of vitamin E on nickel and/or chromium induced oxidative stress in the mouse ovary. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 1368-1371.

Manoj M., Ricardo E.R. et Kazimierz S.K. (1990). Nickel induced lipid peroxidation in the rat: correlation with nickel effect on antioxidant defense systems. *Toxicology.* 64: 1-17.

Martin A. (2001). The “apports nutritionnels conseilles (ANC)” for the French population. *Reprod Nutr Dev.* 41: 119-28.

Mastromatteo E. (1986). Yant memorial lecture. Nickel. *Am Ind Hyg Assoc J.* 47(10): 589-601.

Mates J.M., Perez-Gomez C. et De Castro I.N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 32: 595-603.

Mathur A.K. et Tandon S.K. (1979). Some biochemical alterations in early nickel toxicity. *Chemosphere Nos.* 11/12: 895-901.

Mathur A.K., Datta K.K., Tandon S.K et Dikshith T.S. (1977). Effect of nickel sulphate on male rats. *Bull Environ Contam Toxicol.* 17(2): 241-248.

Matsumoto O. et Fridovich (2001). Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria. *J. Biol. Chem.* 276: 38388-38393.

Mayfield H.L. et Roehm R.R. (1956). The influence of ascorbic acid and the source of B vitamins on the utilization of carotene. *J Nutr.* 58: 203.

Mc Cord J.M. et Edeas M.A. (2005). SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed. Pharmacother.* 59: 139-42.

Mc Gilivray W.A. et Worker N.A. (1958). The effect of tocopherol on the utilization of intravenously administered carotene. *New Zealand J.* 1 : 273.

Mc Pherson A. (1994). Selenium vitamin E and biological oxidation. In: Cole DJ, Garnsworthy PJ editors. Recent advances in animal nutrition. Oxford: Butterworth and Heinemann's. 3-30.

Meister A. et Anderson M.E. (1983). Glutathione. *Annu Rev Biochem.* 52: 711-760.

Misra M., Rodriguez R.E. et Kasprzak K.S. (1990). Nickel induced lipid peroxidation in the rat: correlation with nickel effect on antioxidant defense systems. *Toxicol.* 64: 1-17.

Moore T. (1940). The effect of vitamin E deficiency on vitamin A reserves of the rat. *Biochem J.* 34 : 1321.

Moorthi R.V., Bobby Z., Selvaraj N. et Sridhar M.G. (2006). Vitamin E protects the insulin sensitivity and redox balance in rat L6 muscle cells exposed to oxidative stress. *Clinica Chimica Acta.* 367: 132 -136.

Morel Y. et Barouki R. (1998). Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *médecine/sciences.* 14: 713-21.

Morzell M., Gatellier P., Sayd T. *et al.* (2006). Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *Meat Sci* 73: 536-43.

Mostert V. (2000). Selenoprotein P: properties, functions and regulation. *Arch Biochem Biophys.* 376: 433-438.

Murray R. (1984). Alanine aminotransferase. Kaplan A et al .*Clin chem.* The C.V. Mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton. 1088-1090.

Murray R. (1984). Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al .*Clin chem.* The C.V. Mosby Co. Si louis. Tronto. Princeton. 1112-116.

Murray R.. (1984). Creatinine. Kaplan A et al. *Clin chem.* The C.V. mosby Co. Si louis.Tronto. Princeton; 1261-1266.



National Research Council. (1989). Recommended Dietary Allowances.10th ed. Washington: Washington National Academic Press. 217-24.

Navarro-Alarcon M. et Cabrera-Vique C. (2008). Selenium in food and the human body: A review. *Science of the total environment.* 400: 115-141.

Naziroglu M. (2009). Role of Selenium on Calcium Signaling and Oxidative Stress-induced Molecular Pathways in Epilepsy. *Neurochem. Res.* 34: 2181-2191.

Nelson S.K., Bose S.K. et Mc Cord J.H. (1994). The toxicity of high dose superoxide dismutase suggests that superoxide can both initiate and terminate lipid peroxidation in the reperfused heart. *Free Rad. Biol Med.* 16: 195-200.

Nemliche S. Chabane-Sari D. et Guiraud P. (2007). Role of α -tocopherol in cadmium-induced oxidative stress in Wistar rat's blood, liver and brain. *Chemico-Biological Interactions*. 170: 221-230.

Neve J. (1992). Clinical implications of trace elements in endocrinology. *Biol. Trace El Res*. 32 : 173-185.

Nieboer E., Tom R.T. et Sanford W.E. (1988). Nickel Metabolism in Man and Animals. *Metal Ions in Biological Systems*, Sigel H. et Sigel A. (éd.), Marcel Dekker Inc., New York, NY. 23: 91-121.

Nielsen G.D., Soderberg U., Jorgensen P.J., *et al.* (1999). Absorption and retention of nickel from drinking water in relation to food intake and nickel sensitivity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 154(1): 67-75.

Nielson F. (1995). Other trace elements. In: Ziegler EE, Filer LJ, editors. *Present knowledge in nutrition*. 7th ed. Washington. DC: ILSI Press. 353-77.

Niki E, Tsuchiya J, Tanimura R, Kamiya Y. (1982). Regeneration of vitamin E from alpha-chromanoxo radicals by glutathione and vitamin C. *Chem Lett*. 789-92.

Nohl H. (1994). Generation of superoxide radicals as by product of cellular respiration. *Ann Biol Clin*. 52: 199-204.

Novelli E.L.B., Hernandez R.T., Novelli Filho J.L.V.B. et Barbosa L.L. (1998). Differential/combined effect of water contamination with cadmium and nickel on tissues of rats, *Environmental Pollution*. 103: 295-300.



Ognjanovic B.I., Markovic S.D., Pavlovic S.D. *et al.* (2006). Combined effects of coenzyme Q10 and Vitamin E in cadmium induced alterations of antioxidant defense system in the rat heart. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 22: 219-224.

Okwusidi J.I. (2004). Long term storage stabilizes human erythrocytes membrane in Nigerian black males. *African J Biomed Res*. 7: 9-12.

Olas B. et Wachowiej B. (2002). Resveratrol and vitamin C as antioxidant in blood platelets. *Thromb Res*. 106:43.

Oldereid N.B., Thomassen Y. et Purvis K. (1998). Selenium in human male reproductive organs. *Hum. Reprod*. 13: 2172-2176.

Oller A.R., Costa M. et Oberdörster G. (1997). Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds. *Toxicol Appl Pharmacol*. 143:152-166.

OMS IPCS. (1991). *Environmental Health Criteria n. 108: nickel*. World Health Organisation, International Programme on Chemical Safety. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc108.htm>.

Onkelinx C., Becker J., Sunderman Jr. F.W. (1973). Comportamental analysis of the metabolism of $^{63}\text{Ni}(\text{II})$ in rats and rabbits. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 6: 663-676.

Ottolenghi A.D., Haseman J.K., Payne W.W., Falk H.L. et Mac Farland H.N. (1974). Inhalation studies of nickel sulfide in pulmonary carcinogenesis of rats. *J. Natl Cancer Inst.* 54(5): 1165-1172.

Ozardalia I., Bitirena M., Karakilçik A.Z., *et al.* (2004). Effects of selenium on histopathological and enzymatic changes in experimental liver injury of rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 56: 59-64.



Packer L., Weber S.U. et Rimbach G. (2001). Molecular Aspects of α -Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. *J. Nutr.* 131: 369-373.

Pardeep S., Garg M.L. et Dhawan D.K. (2004). Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions.* 150: 199-209.

Pari L. et Amudha K. (2011). Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats., *European Journal of Pharmacology.* 650: 364-370.

Pari L. et Prasath A. (2008). Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. *Chem. Biol. Interact.* 173: 77-83.

Pari L. et Prasath A. (2008). Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. *Chemico-Biological Interactions.* 10: 1016.

Pari L. et Prasath A. (2008). Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. *Chemico-Biological Interactions.* 173: 77-83.

Pastore A., Federici G., Bertini E. et Piemonte F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin. Chim. Acta.* 333: 19-39.

Peck M. et Alexander J. (1991). Survival in septic guinea pigs is influenced by vitamin E, but not by vitamin C in enteral diets. *JPEN.* 15: 433-436.

Pedrero Z. et Madrid Y. (2009). Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. *Analytica. Chimica. Acta.* 634: 135-152.

Pestka J. et Zhou H.R. (2006). Toll-Like receptor priming sensitizes macrophages to proinflammatory cytokine gene induction by deoxynivalenol and other toxicants. *Toxicological Sciences.* 92(11): 445-455.

Peters S.A. et Kelly F.J. (1996). Vitamin E supplementation in cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 22: 341-5.

Pharazyn A., Den Hartog L.A. et Aherne F.X. (1990). Vitamin E and its Role in the Nutrition of the Gilt and Sow: A Review. *Livestock Production Science*, 24: 1-13.

Pichard A. (2006). Nickel et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Verneuil en Halatte: INERIS: 71.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., *et al.* (2002). Mécanismes physiologiques de l'antioxydant. *Nutr Clin Métabol.* 16: 233-239.

PISSC (Programme international sur la sécurité des substances chimiques).(1991). *Nickel*, Critères d'hygiène de l'environnement, n° 108, Organisation mondiale de la santé, Genève (Suisse). 384.

Poey J. et Philibert C. (2000). Toxicité des métaux. *Revue Française des Laboratoires.* 323 : 35-43.

Poli G., Leonarduzzi G., Biasi F., Chiarpotto E. (2004). Oxidative stress and cell signaling. *Curr. Med. Chem.* 11: 1163–1182.

Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A. *et al.* (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem. Pharmacol.* 66: 1499-1503.

Port C.D., Fenters J.D., Ehrlich R. *et al.* (1975). Interaction of Nickel Oxide and Influenza Infection in the Hamster. *Environ. Health Perspect.* 10: 268.

Prasad L., Husain Khan T., Jahangir T. et Sultana S. (2006). Chemomodulatory effects of Terminalia chebula against nickel chloride induced oxidative stress and tumor promotion response in male Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 20: 233-239.

Prasad R., Nath R. (1995). Cadmium-induced nephrotoxicity in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*) in relation to protein calorie mal-nutrition. *Toxicology.* 100: 89-100.

Pré J. (1991). Lipid peroxidation. *Path.Biol.* 39(7): 716-736.

Pryor W.A. (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Rad. Biol. Med.* 28: 141-164.

Pryor W.A. et Squadrito G.L. (1995). The chemistry of peroxynitrite : a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am. J. Physiol.* 268 : 622-99.

Puppo A., Halliwell B. (1988). Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent? *Biochem. J.* 249: 185-90.



- Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20 : 165-177.
- Rayman M.P. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*. 356(9225): 233-41.
- Rayman M.P. (2009). Selenoproteins and human health: Insights from epidemiological data. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1790: 1533-1540.
- Ré D.B., Nafia I., Nieoullon A. *et al.* (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 24 : 502-509.
- Reboul E. (2011). Absorption intestinale des vitamines liposolubles. *OCL*. 18(2) : 53-58.
- Reitman S. (1957). Frankel S. *J.Clin Path.* 28-56.
- Rendall R.E., Phillips J.I. et Renton K.A. (1994). Death following exposure to fine particulate nickel from a metal arc process. *Ann Occup Hyg*. 38(6): 921-930.
- Requena J., Fu M.X., Ahmed M.U. *et al.* (1996). Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reactions *Nephrol.Dial. Transplant*. 11(5): 48-53.
- Rezanka T. et Sigler K. (2008). Biologically active compounds of semi-metals. *Phytochemistry*. 69: 585-606.
- Rezuke W.N., Knight J.A. et Sunderman F.W. Jr. (1987). Reference values for nickel concentrations in human tissues and bile. *Am. J. Ind. Med.* 11(4): 419-26.
- Rice ME. (2000). Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci*. 23: 209-16.
- Rosalki S *et al.* (1993). *Clin. Chem*; 39/4 : 648-652.
- Roussel A.M. et Hininger-Favier I. (2009). Éléments-trace essentiels en nutrition humaine : chrome, sélénium, zinc et fer. *Endocrinologie-Nutrition*. 1-13.
- Rowntree J.E., Hill G.M., Hawkins D.R. *et al.* (2004). Effect of selenium on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. *J. Anim. Sci.* 82: 2995-3005.

Ryter S.F. et Tyrell R.M. (2000). The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro and antioxidant properties. *Free Rad. Res.* 36: 1299-1306.



Sahoo D.K., Roy A., et Chainy G.B.N. (2008). Protective effects of vitamin E and curcumin on l-thyroxine-induced rat testicular oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions.* 176: 121-128.

Saito Y. et Takahashi K. (2000). Selenoprotein P: its structure and functions. *J. Health Sci.* 46: 409-413.

Saito Y. et Takahashi K. (2002). Characterization of selenoprotein P as a selenium supply protein. *Eur. J. Biochem.* 269: 5746-5751.

Saito Y., Hayashi T., Tanaka A. *et al.* (1999). Selenoprotein P in human plasma as an extracellular phospholipid hydroperoxide glutathione peroxydase. Isolation and enzymatic characterization of human. *J. Biol. Chem.* 274: 2866-2871.

Salamaa A.F., Kasemb S.M., Toussonc E., et Elsisy M.K.H., (2012). Protective role of L-carnitine and vitamin E on the kidney of atherosclerotic rats. *Biomedicine and Aging Pathology.* 2: 212-215.

Salle B.L., Delvin E. et Claris O. (2005). Vitamines liposolubles chez le nourrisson. *Archives de pédiatrie* 12 : 1174–1179.

Sanjay G., Nihal A., Mirza M.H., et Ramesh C.S. (2000). Involvement of Nitric Oxide in Nickel-Induced Hyperglycemia in Rats. *Biology and Chemistry.* 4(2): 129-138.

Sarkar B. (1984). Nickel metabolism. Nickel in the human environment. 367-384.

Schollhammer M., Guillet M.H. et Guillet G. (1994). Nickel et peau. *Ann Dermatol Venereol.* 121: 338-45.

Shacklette H.T et Boerngen J.G. (1984). Element concentration in soils and other surficial materials of the conterminous United States. U.S. Geological Survey professional paper 1270. U.S. Geological Survey, Alexandria, VA.

Shannon H.S., Julian J.A. et Roberts R.S. (1984). A mortality study of 11,500 nickel workers. *J Natl Cancer Inst.* 73(6): 1251-1258.

Shannon H.S., Walsh C., Jadon N., *et al.* (1991). Mortality of 11,500 nickel workers--extended follow up and relationship to environmental conditions. *Toxicol Ind Health.* 7(4): 277-294.

Shenkin A. (1993). Current concepts on trace element requirements in nutrition. *Clin. Nutr.* 12 : 114-118.

Sakly R., Chaouch A., El Hani A., and Najjar M.F. (2003). Effects of intraperitoneally administered vitamin E and selenium on calcium oxalate renal stone formation: experimental study in rat. *Annales d'urologie*. 37: 47-50.

Shenkin A. (1994). Adult micronutrient requirements. In : W PAYNE-JAMES ed. *Artificial nutrition support in clinical practice*. London. 151-166.

Sidhu P., Garg M.L. et Dhawan D.K. (2004). Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions*. 150: 199-209.

Sies, H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.* 27: 916-21.

Simonoff M. et Simonoff G. (1991). *Le Sélénium et la vie*. Paris : Masson. 242.

Simonoff, M., Simonoff, G. (1991). *Le sélénium et la vie*. Centre National de la Recherche Scientifique. Masson. Paris. 242.

Sklan D. et Donoghue S. (1982). Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick. *J Nutr.* 112 : 759.

Smialowicz R.J., Rogers R.R. et Riddle M.M. (1985). Immunologic effects of nickel II suppression of natural killer cell activity. *Environ Res.* 36: 56-66.

Smialowicz R.J., Rogers R.R. et Riddle M.M. (1986). Immunologic studies in mice following in utero exposure to NiCl₂. *Toxicology*. 38: 293-303.

Smialowicz R.J., Rogers R.R. et Rowe D.G. (1987). The effects of nickel on immune function in the rat. *Toxicology*. 44: 271-281.

Smith M.K., Georges E.L., Stober T.R. *et al.* (1993). Perinatal toxicity associated with nickel chloride exposure. *Environ. Res.* 61: 200-201.

Sohal R.S., Svensson I., Brunk U.T. (1990). Hydrogen peroxide production by liver mitochondria in different species. *Mech. Ageing Dev.* 53: 209-215.

Solomons N.W., Viteri F., Shuler T.R. et Nielsen F.H. (1982). Bioavailability of nickel in man: effects of foods and chemically-defined dietary constituents on the absorption of inorganic nickel. *J Nutr.* 112(1): 39-50.

Soudani N., Ben Amara I., Sefi M., Boudawara T. et Zeghal N. (2011). Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 63: 541- 548.

Soudani N., Sefi M., Ben Amara I., Boudawara T. et Zeghal N. (2010). Protective effects of Selenium(Se) on Chromium(VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 671-678.

Soudani N., Troudi A., Bouaziz H., Ben Amara I., Boudawara T. et Zeghal N. (2011). Cardioprotective effects of selenium on chromium (VI)-induced toxicity in female rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74: 513-520.

Spiegelberg T., Kordel W. et Hochrainer D. (1984). Effects of NiO inhalation on alveolar macrophages and the humoral immune systems of rats. *Ecotoxicol Environ Saf*. 8(6): 516-525.

Srivastava P.A. et Narain A.S. (1985). Catfish blood chemistry under environmental stress. *Experimentia*. 4: 855-857.

Stajn A., Zikic R. V., Ognjanovic B., Saicic Z. S., *et al.* (1997). Effect of Cadmium and Selenium on the Antioxidant Defense System in Rat Kidneys. *Comp. Biochem. Physiol*. 117C(2): 167-172.

Stamler J.S. et Slivka A. (1996). Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutr Rev*. 54: 1-30.

Stawiarska-Pieta B., Bielec B., Birkner K. et Birkner E. (2012). The influence of vitamin E and methionine on the activity of enzymes and the morphological picture of liver of rats intoxicated with sodium fluoride. *Food and Chemical Toxicology*. 50: 972-978.

Stocker R., Yamamoto Y., Mc Donagh A.F. *et al.* (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*. 235: 1043-6.

Stohs S.J. et Bagchi D. (1995). Oxidative mechanism in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Res. Commun*. 9: 101-102.

Stoltz A., Sauvage C., Lamblin C. *et al.* (2003). Urticaire chronique par allergie alimentaire au nickel. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*. 43: 492-496.

Stoytcheva Z.R. et Berry M.J. (2009). Transcriptional regulation of mammalian selenoprotein expression. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1790: 1429-1440

Sun H., Li H. et Sadler P.J. (1999). Transferrin as a metal ion mediator. *Chem Rev*. 99(9): 2817-42.

Sunderman F.W., Hopfer S.M., Sweeney K.R., Marcus A.H., Most B.M. et Creason J. (1989). Nickel absorption and kinetics in human volunteers. *Proc Soc Exp Biol Med*. 191(1): 5-11.

Sunderman F.W.J. et Oskarsson. (1991). Nickel metals and their compounds in the environment. Merial E, (éd), VCH Verlagsgesellschaft. 1101-1126.

Sunderman F.W. Jr. *et al.* (1987). Physiocochemical characteristics and biological effects of nickel oxides. *Carcinogenesis*. 8: 305-313.

Sunderman F.W., Dingle B., Hopfer S.M. et Swift T. (1988). Acute nickel toxicity in electroplating workers who accidentally ingested a solution of nickel sulfate and nickel chloride. *Am J Ind Med.* 14: 257-266.

Sunderman W.F., Kasprzak K., Horak E. *et al.* (1976). Effects of Triethylenetetramine upon the Metabolism and Toxicity of NiCl₂ in Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 38: 177-188.



Talas Z.S., Ozdemir I., Yilmaz I. *et al.* (2008). The investigation of the antioxidative properties of the novel synthetic organoselenium compounds in some rat tissues. *Exp. Biol. Med.* 233: 575-579.

Tallkvist J., Bowlus C.L. et Lönnerdal B. (2003). Effect of iron treatment on nickel absorption and gene expression of the divalent metal transporter (DMT1) by human intestinal Caco-2 cells. *Pharmacol Toxicol.* 92(3): 121-4.

Tanguy M., Marie A. et Simon B. (2009). Antioxydants Deuxième partie : données cliniques d'efficacité. *Médecine.* 303-307.

Teichert J. et Preiss R. (2002). High-performance liquid chromatographic assay for alpha-lipoic acid and five of its metabolites in human plasma and urine. *J. Chromatogr B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 769: 269-281.

Tessier F. et Marconnet P. (1995). Radicaux libres, système antioxydant et exercice. *Science et sport.* 10 : 1-13.

Therond P., Malvy D. et Favier A. (1997). Toxicité du sélénium à doses pharmacologiques par voie orale. *Nutr. Clin. Métabol.* 11: 91-101.

Thomas K.W., Pellizzari E.D. et Berry M.R. (1999). Population-based intakes and tap water concentrations for selected elements in the EPA Region V National Human Exposure Assessment Survey (NHEXAS). *Expo. Anal Environ Epidemiol.* 9: 402-413.

Thompson C.D. et Robinson M.F. (1980). Selenium in human health and disease with emphasis on those aspects peculiar to New Zealand. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33: 303.

Tinggi, A. (2003). Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters.* 137: 103-110.

Tossavainen A., Nurminen M., Mutanen P. et Tola S. (1980). Application of mathematical modelling for assessing the biological half-times of chromium and nickel in field studies. *Br J Ind Med.* 37(3): 285-91.

Tovar A., Ameho C.K., Blumberg J.B., Peterson J.W., Smith D. et Booth S.L. (2006). Extrahepatic tissue concentrations of vitamin K are lower in rats fed a high vitamin E diet. *Nutr Metab (Lond).* 3: 29.

Traber M.G. (2007). Vitamin E regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr.* 27 : 347-62.

Traber M.G. (1989). Kayden HJ. Preferential incorporation of α -tocopherol vs γ tocopherol in human lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 49:517-526.

Traber M.G. et Atkinson J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 43 : 4-15.

Tribble D.L., Thiel P.M., Van Den Berg J.J.M et Krauss R.M. (1995). Differing α tocopherol oxidative lability and ascorbic acid sparing effects in buoyant and dense LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 15 : 2025-31.

Trinder P. (1969). *Ann. Clin. biochem.* 6: 24-33.

Tujebajeva R.M., Harney J.W. et Berry M.J. (2000). Selenoprotein P expression, purification, and immunochemical characterization. *J. Biol. Chem.* 275: 6288-6294.

U

Underwood E.J. et Suttle N.F. (2004). *The mineral nutrition of livestock.* 3rd ed. Cambridge : CABI Publishing. 614.

Upreti K.K., Das M., Kuman A. *et al*, (1989). Biochemical toxicology of argemone oil. IV: Short-term oral feeding response in rats. *Toxicol.* 58: 285-9.

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncola J. et al. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160: 1-40.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 39: 44–84.

Valko M., Morris H., Cronin M.T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 12(10): 1161-1208.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., IzakovicM. et Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160 : 1-40.

Van Acker S.A., Kaymans L.M. et Basr A. (1993). Molecular pharmacology of vitamin E : structural aspects of antioxidant activity. *Free Rad Biol Med.* 15: 311-328.

Vanderpas J.B., Contempéré B., Duale N.L. *et al.* (1990). Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 1087-1093.

Vatassery G.T., Bauer T. et Dysken M. (1999). High doses of vitamin E in the treatment of disorders of the central nervous system in the aged. *Am J Clin Nutr*, 70 : 793-801.

Venardos K., Harrison G., Headrick J. et Perkins A. (2004). Effects of dietary selenium on glutathione peroxidase and thioredoxin reductase activity and recovery from cardiac ischemia–reperfusion. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*.18: 81-88.

Vitoux D. (1996). Sélénium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann. Biol. Clin.* 54: 181-187.

Vitoux D., Chappuis P., Arnaud J. et Bost M. (1996). Accominotti M, Roussel AM. Selenium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann Biol Clin.* 54: 181-7.

Von Burg R. (1997). Toxicology update. Nickel and some nickel compounds. *J. Appl. Toxicol.* 17(6): 425-431.

Vonen et Morland J. (1984). Isolated rat hepatocytes in suspension: potential hepatotoxic effects of six different drugs. *Arch. Toxicol.* 56: 33.



Wardman P., Candeias L.P., (1996). *Radiat. Res.* 145 : 523.

Wataha J.C., Lockwood P.E., Schedle A., Noda M. et Bouillaguet S. (2002). Ag, Cu, Hg and Ni ions alter the metabolism of human monocytes during extended low-dose exposures. *Oral Rehabil.* 29(2):133-139.

Webster J.D., Parker T.F., Alfrey A.C. *et al.* (1980). Acute nickel intoxication by dialysis. *Ann Intern Med.* 92(5): 631-3.

Wenger C. *et al.* (1984). Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. *Clin chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Tronto. Princeton;* 1094-1098.

Whitin J.C., Bhamre S., Tham D.M. et Cohen H.J. (2002). Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 281: F20–F28.

Wilfond B.S., Farrell P.M., Laxova A. et Mischler E. (1994). Severe hemolytic anemia associated with vitamin E deficiency in infants with cystic fibrosis. Implications for neonatal screening. *Clin Pediatr (Phila)*, 33 : 2-7.

Winkler B.S. (1992). Unequivocal evidence in support of the nonenzymatic redox coupling between glutathione/glutathione disulfide and ascorbic acid/dehydroascorbic acid. *Biochim Biophys Acta.* 1117: 287-90.

Witting L.A. et Horwitt M.K. (1964). Effects of dietary selenium, methionine, fat level, and tocopherol on rat growth. *J. Nutr.*, 84: 351.

96

Xiel J., Funakoshi T., Shimada H. et Kojima S. (1995). Effects of chelating agents on testicular toxicity exposure to nickel in mice caused by acute. *Toxicology*.103: 147-1 55.

97

Yang G.O., Wang S.Z. et Zhou R.H. (1983). Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am. J. Clin. Nutr.* 37: 872-81.

98

Zeng H., Gerald F. et Combs Jr. (2008). Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 19: 1-7.

Zhang J., Wang H., Peng D. et Taylor E. W. (2008). Further insight into the impact of sodium selenite on selenoenzymes: High-dose selenite enhances hepatic thioredoxin reductase 1 activity as a consequence of liver injury. *Toxicology Letters*. 176: 223-229.

Zhong B.Z., Li Z.Q., Ma G.Y., Wang B.S. (1990). Study on mutagenesis and carcinogenesis of productive nickel dust. *Mutation and the Environment Part E: Environmental Genotoxicity, Risk and Modulation*. 41-46.

PRÉPARATION DES SOLUTIONS

1. Dosage du glutathion

➤ **Solution Tris (0,4 M), EDTA (0,02 M) et pH 9,6**

Dissoudre 12,114g Tris et 1,871g EDTA dans 250ml d'eau distillée et ajuster le pH à 9,6 en ajoutant HCL ou NaOH.

➤ **Solution EDTA (0,02 M)**

Dissoudre 5,613g EDTA dans 750ml d'eau distillée.

➤ **Solution DTNB (0,01 M)**

Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

➤ **Solution d'acide salicylique (0,25%)**

Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100ml d'eau distillée.

2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

➤ **Solution BSA (1mg/ml)**

Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.

➤ **Réactif de Bradford**

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50ml d'éthanol (95%). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1L de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1mois au maximum à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

3. Dosage du MDA

➤ **Solution TBS : Tris (50mM), NaCL (150mM) et pH 7,4**

Dissoudre 8,775g NaCl dans 1L d'eau distillée, puis poser 6,057g Tris et compléter le volume à 1l par la solution NaCl (150mM) et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCl ou NaOH.

➤ **Solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)**

Dissoudre 20g TCA dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir la solution TCA 20% puis poser 1g de BHT et compléter le volume à 100 ml par la solution TCA 20% et agiter à chaud.

➤ **Solution HCl 0.6 M**

51,56 ml d'HCl pur et compléter le volume à 1L par l'eau distillée.

➤ **Solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM)**

Dissoudre 3,149g Tris dans 1L d'eau distillée, puis poser 17,299g TBA et compléter le volume à 1L par la solution Tris (26 mM).

4. Dosage du glutathion peroxydase (GPx)

➤ **Solution du GSH (0.1 mM)**

Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Solution TCA (1%)**

Dissoudre 1g TCA dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Solution DTNB (1.0 mM)**

Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.

5. Dosage du Glutathion-S-Transférase (GST)

➤ **Solution CDNB (0.02M)**

Dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 ml d'éthanol absolu.

➤ **Solution GSH (0.1M)**

Dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 ml d'eau distillée.

