



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHAROUR - KHENCHELA-

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE

DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : biologie

OPTION : Biochimie Appliquées

Thème

*Contribution à l'étude des effets de l'alpha tocophérol et
méthionine sur la toxicité de nickel chez des rats de la
souche WISTAR(aspect biochimique, hématologique)*

Présenté par :

GHELLODJ Hanane

CHEKRAOUI Abla

Soutenu le :02 /06/2016

Jury de soutenance :

Présidente : **M^{me}.CHORFI Keltoum**

MAA. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Encadreur: **M^{me}.BOUHALIT Samira**

MAA. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice : **M^{me}.LAKHDARI Somia**

MAA. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Promotion : juin 2016

Laboratoire de recherche : le travail a été réalisé on laboratoire d' ELRMILA et AL BALSEM AL CHAFI –khenchela-

Laboratoire de recherche : le travail a été réalisé on laboratoire d' ELRMILA et AL BALSEM AL CHAFI –khenchela-

REMERCIEMENT

En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur Mme BOUHALIT.S

Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de Ce modeste travail.

Nous remercions également tous les membres du jury d'avoir accepté de juger notre modeste travail.

Présidente :M^{me} CHORFI.K

Examinatrice :M^{me} LAKHDARI.S

Nous remercions la clinique EL BALSEM EL CHAFI pour le dosage des paramètres hématologique.

Nous remercions le laboratoire d'ELRMILA pour le dosage des paramètres hématologique

Nous remercions également M GHELLOUDJ AMMAR et M GHENIMA

ABD AL HAMIDE nous aider pour l'obtention des rats de l'institut

pasteur d'Alger et aussi M ABD ALHADI OUANNES et SAMI et

MOKHTAR pour nos aider au sacrifice des rats.

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

Listes des figures

N°	Figure	Page
1	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	15
2	Les principales étapes de la biosynthèse de la vitamine E , adapté de Janizowska et Pennock ,1976 ;Hirschberg.	25
3	la biosynthèse de méthionine(Lehninger 2000) .	29
4	Métabolisme des acides aminée soufrée (Jhon T et al,2006).	31
5	schéma récapitulatif du protocole expérimental.	37
6	Evaluation en fonction du temps (jours), gain du poids corporel (g) chez le lot témoin et les lots traités au nickel ,vit E, Met et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E .	49
7	Variation de la concentration sérique de glucose chez le lot de témoin et les lots traités au nickel la méthionine, vit E ,, et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E.	51
8	Variation de la concentration sérique de triglycérider et cholestérol chez le lot de témoin et les lots traités au nickel la méthionine, vit E et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E.	52
9	Variation de la concentration sérique de l'urée et créatinine chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Met, Vit E , Ni /Met et Ni /Vit E.	54
10	Variation de la concentration sérique d'aspartateaminotransférase (AST/TGO), d'alanine aminotransférase(ALT/TGP), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Met , Vit E et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit	56
11	Variation du nombre des globules rouge (n GR), des globules blancs (n GB), du taux moyen d'hémoglobine(HB), du	59

	pourcentage d'hématocrite (HT), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, méthionine, vitamine E et à la combinaison Ni/Met , Ni/Vit E.	
--	--	--

Liste des tableaux

N°	Tableau	page
I	Propriétés physiques et chimiques des composés de nickel. D'après Kirk (1981)	4
II	Variation de gain du poids corporel chez le lot témoin (T) et les différents lots traités au Ni , Vit et Met et à la combinaison Ni/Vit et Ni/M	49
III	Variation de la concentration de glucose, triglycéride et cholestérol chez le lot témoin (T) et les différents lots traités au Ni, Vit E, Met et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E .	50
IV	Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et l'acide urique chez le lot de témoin et les lots traités au nickel , Met, Vit E et a la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E	53
V	Variation de la concentration sérique de l'activité enzymatique l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) chez le lot de témoin et les lots traités par Met, Vit E, Ni/Met et Ni/Vit E	55
VI	Variation du nombre des globules blancs (n GB) , des globules rouge (n GR), du taux moyen d'hémoglobine(HB), du pourcentage d'hématocrite (HT) , chez le lot de témoin et les lots traités par Met ,Vit E ,Ni , Ni/Vit E et Ni/ Met	57

Table de matière

REMERCIEMENTS

DEDICACE

RÉSUMÉ

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE.....1

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. Toxicité du nickel

1.Définition.....3

2.Les propriétés de nickel.....3

3 .Utilisations de nickel.....4

4.Devenir du nickel dans l'organisme.....5

4.1.Voies d'absorption du nickel.....5

4.1.1. Absorption respiratoire.....5

4.1.2. Absorption oral.....6

4.1.3. Absorption cutanée.....6

4.2. Distribution.....6

4.2.1. Exposition respiratoire.....6

4.2.2.Exposition oral.....6

4.2.3. Exposition cutanée.....7

4.3. Excrétion.....7

5.Toxicité du nickel.....8

5.1. Toxicité aigue.....8

5.2 .Toxicité sub-chronique et chronique.....9

Effets sur la reproduction et le développement.....10

Cancérogénicité et génotoxicité du nickel	11
Manifestations allergique.....	11
6. Nickel et le stress oxydatif.....	12
Chapitre II : Stress Oxydant	
1. Le stress oxydant.....	14
2. Les radicaux libres.....	14
2.1.Sources des radicaux libres.....	15
3.Principales cibles biologiques des EOR	17
3.1.Oxydation des protéines.....	17
3.2.Peroxydation lipidique.....	17
3.3. Dommages de l'ADN.....	18
4. Les systèmes antioxydants.....	18
4.1. Les antioxydants enzymatiques	18
1.1. La superoxyde dismutase (SOD).....	18
1.2.La catalase (CAT)	19
1.3. La glutathion peroxydase (GPx).....	19
4.2.Les antioxydants non enzymatiques.....	20
2.1. Le glutathion (GSH).....	20
2.2.La vitamine E.....	21
2.3. La vitamine C.....	21
2.4. β carotène.....	21
2.5. Les oligoéléments	22
2.6.1. Le Sélénium.....	22
2.6.2. Le Zinc.....	22

1. Généralité.....	23
2. Structure et propriétés de la vitamine E.....	23
3. Source de la vitamine E.....	23
4. Biosynthèse de Vitamine E.....	24
5. Métabolisme.....	25
6. Rôles biologiques de la vitamine E.....	25
6.1. Rôle antioxydant.....	26
6.2. Stimulation des défenses immunitaires.....	26
6.3. Synthèse de l'hème.....	27

Chapitre IV Méthionine

1. Généralités sur les acides aminés soufrés.....	28
2. La Méthionine.....	28
3. Biosynthèse de la méthionine.....	28
4. Devenir de la méthionine dans l'organisme.....	29
5. Le métabolisme de la méthionine.....	30
6. Régulation du métabolisme de la méthionine.....	31
7. Les dérivés de la méthionine	32
7.1. La S-adénylméthionine (SAM).....	32
8. Les fonctions de la méthionine.....	33
1. Source de soufre.....	33
2. S-adényl-L-méthionine (SAM) réactions.....	33
3. Lipotrope.....	33
4. traitement surdose d'acétaminophène.....	33
5. Traitement de l'arthrite	33

6. Dépression	33
7.La fonction hépatique.....	33
9.Troubles neurologiques.....	34

Partie II : Etude Expérimentale

Matériels et méthodes

1.Etude biologique.....	35
1.1.Matériel animal.....	35
2.Méthodologie.....	35
2.1.Protocole expérimentale.....	35
2-2- préparation des prélèvements.....	35
2.3.Dosage des paramètres biochimiques	38
2.3.1. Dosage du glucose.....	38
2.3.2. Dosage du cholestérol.....	39
2.3.3. Dosage des triglycérides.....	40
2.3.4. Dosage de l'urée.....	42
2.3.5.Dosage de créatinine.....	43
2.3.6. Dosage de l'acide urique	44
2.3.7. Dosage de TGO	45
2.3.8.Dosage de TGP.....	46
2.4.Evaluation de la toxicité hématologique.....	48
2.5.Analyse statistique des données.....	48
Résultats et interprétation	
1.Variation d gain du poids corporel.....	49
2.Etude biochimique	50

3.Etude hématologique	58
Discussion	
Discussion.....	62
Conclusion et perspectives	
Références bibliographiques	

Introduction Générale

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, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse et d'autres (Favier, 1997; Favier, 2006; Baudin, 2006).

Le nickel est un polluant environnemental potentiellement cancérigène. 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 (Ayo *et al.*, 1998). L'accumulation de ce corps toxiques dans l'organisme est susceptible de déclencher une réaction de défense (Chen *et al.*, 2003; Chiffolleau, 2001).

La défense antioxydante comprend des antioxydants d'origine exogènes ou endogènes, tels que les enzymes antioxydantes présentes dans toutes les cellules vivantes. Actuellement, il existe un fort intérêt à l'étude de composés naturels ayant une capacité de piégeage des radicaux libres (Kota *et al.*, 2008).

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). *et al.*, 2008). La méthionine stimule la production de glutathion dans le cas où le corps serait surchargé de toxines. Elle protège également les reins, la vessie en régulant la formation

La méthionine est reconnue comme protecteur du foie. Agent lipotrope, elle prévient l'accumulation de graisses dans celui-ci et en facilite l'élimination. La méthionine joue également un rôle de détoxification des médicaments et de certains métaux lourds tels que le fer, le plomb et le mercure (Mato d'ammoniac dans l'urine. La méthionine aide également le corps à éliminer les déchets par voie naturelle. (Mato *et al.*, 2008).

Dans ce cadre, le but de cette étude est d'étudier les effets du nickel sur certains aspects pondéraux, biochimique, et hématologiques. Chez des rats de souche «Wistar», et d'examiner le rôle bénéfique et d'évaluer les effets protectrice de l'alpha tocophérol et l'acide aminé méthionine sur le stress oxydatif induit par le nickel.

1-Définition

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 silicatés se trouvant en surface. Il est présent à de fortes concentrations dans les roches-mères ferromagnésiennes où il se substitue partiellement au fer ou au magnésium. La croûte terrestre contient environ 0.009 % de nickel dans les minerais sulfurés, arséniurés, antimoniurés, oxydés et silicatés. Il est particulièrement abondant dans les minéraux des roches magmatiques basiques et ultrabasiques et dans les minéraux de type serpentine, où il présente des teneurs de l'ordre de 10 000 mg.kg⁻¹ (Baize, 1997).

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 (Duke, 1980a).

2-Les propriétés de nickel

Le nickel est un métal dur, malléable et bon conducteur de chaleur et d'électricité du sous-groupe VIII de la série des éléments de transition du tableau périodique et le 28ème élément de la table périodique. C'est un métal blanc argent trouvé dans plusieurs états d'oxydation, s'étendant de -1 à +4 (Barceloux, 1999). Cependant, l'état d'oxydation +2 [Le Ni (II)] est la forme la plus commune de nickel dans les biosystèmes (NAS, 1997).

Comme tout les éléments du groupe VIII. Il se caractérise par une masse atomique (58.71g/mol), par une température de fusion élevée(1455°C),une température d'ébullition (2732°C),et une grande densité (à20°C est de 8,902g/cm³),une structure cristalline cubique à face centrée (a=0,352nm).

Tableau I: Propriétés physiques et chimiques des composés de nickel. D'après Kirk (1981).

	Formule Numéro CAS*	Mas- se mola- ire	Point de Fusion °C	Point d'ébullition °C Sous p. atm.	Densité g/cm ³	Solubilité
Nickel métal	Ni 7440-02-0	58,69	1455	2730	8,9	Insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques. Se dissout lentement dans les acides forts
Oxyde de nickel	NiO 1313-99-1	74,69	1984	–	6,67	Pratiquement insoluble dans l'eau (0,1mg/100ml à 20 °C).soluble dans les acides et dans l'ammoniaque.
Hydroxyde de nickel	Ni(OH) 2 12054-48-7	92,70	230déc.	–	4,15	Très peu soluble dans l'eau (10mg/100ml à 20 °C).soluble dans les acides et dans l'ammoniaque.
Carbonate de nickel	NiCO ₃ 3333-67-3	118,72	déc.	–	2,6	Très peu soluble dans l'eau (10mg/100ml à 20°C).soluble dans les acides.
Carbonate basique de nickel hydrate	2NiCO ₃ , 3NiOH ₂ , 4H ₂ O 65405-96-1	587,57	déc.	–	–	Insoluble dans l'eau. Soluble dans les acides et dans l'ammoniaque.

3 –Utilisationsde nickel

Comme de nombreux autres métaux , les applications du nickel à l'état pur sont beaucoup moins importantes que celles sous forme d'alliage avec d'autres composants.

Ainsi, le nickel utilisé pour la fabrication de plus de 300 000 produits est réparti entre les secteurs industriels, militaires, des transports, de la marine, de l'architecture et des produits destinés au public .

Selon Chiffolleau(2001) le principal secteur d'utilisation du nickel correspond aux aciers inoxydables (62%) . Il entre également dans la composition de nombreux alliages en raison de nombreux alliages en raison de ses caractéristiques de dureté et de résistance à la corrosion (12%). Les autres formes d'utilisation sont les traitements de surfaces(10%), les batteries nickel-aluminium (Caplat,2001).De plus l'exploitation minière, la fonte , l'affinage de métaux ,la production d'alliages et le

recyclage de métaux , ainsi que dans les industries électrique, pétrolière, alimentaire et chimique .le nickel est également employé dans la production d'alliages non ferreux utilisés dans la fabrication de pièces de monnaie, d'outils , de bijoux, d'ustensiles de cuisine, de plus ,cet élément est utilisé dans la fabrication de pigments minéraux pour métaux et céramiques ainsi que pour réaliser des revêtements électrolytiques des métaux (nickelage) (Kirk,1981)

4-Devenir du nickel dans l'organisme

4-1- Voies d'absorption du nickel

Le nickel et ses composés sont absorbés par les voies respiratoires et, dans une moindre mesure, par le tube digestif. En général, l'absorption du nickel augmente proportionnellement à la solubilité des composés, tant après ingestion qu'après inhalation (PISSC, 1991).

4-1-1- Absorption respiratoire

Des particules inhalées de nickel sont déposées dans les voies respiratoires supérieures et inférieures et sont plus tard absorbées par plusieurs mécanismes. Le modèle de dépôt dans les voies respiratoires est lié à la dimension particulaire, qui détermine le degré auquel des particules sont affectées par impaction, sédimentation, et diffusion à inertie. Grand dépôt de particules (5-30 μ m) dans le secteur nasopharynx où des vitesses de courant d'air et la géométrie plus élevées de voie aérienne favorisent l'impaction à inertie (Gordon et Amdur 1991). De plus petites particules (1-5 μ m) écrivent la trachée et la région bronchioles où ils déposent principalement par sédimentation. Les plus petites particules (<1 μ m) écrivent la région alvéolaire des poumons où la diffusion et la précipitation électrostatique des particules se produit. Le dépôt partiel peut être prévu pour varier considérablement avec l'âge et les modèles de respiration(ATSDR, 2005).

La demi-vie de nickel dans les poumons des rats exposés par inhalation a été signalé à être de 32 heures pour le sulfate de nickel(Hirano et al. 1994b) 4,6 jours pour le sous sulfure de nickelet 120 jours pour l'oxyde vert de nickel(Benson et al. 1994).

4-1-2- Absorption oral

La quantité de nickel absorbée par l'appareil gastro-intestinal dépend du type d'espèces de nickel dans la nourriture, le contenu et la capacité d'absorption. Normalement, seulement 1-2% de nickel ingéré est absorbé. La prise quotidienne du nickel a été estimée qu'elle est dans la gamme de 35 – 300 µg par jour (Nielsen et al., 1984). Le sulfate de nickel administré dans l'eau de boisson est plus facilement absorbé que dans la nourriture (Sunderman *et al.*, 1989 ; Ishimatsu *et al.*, 1995).

4-1-3- Absorption cutanée

Les études humaines prouvent que le nickel peut pénétrer la peau (Fullerton et autres 1986 ; Norgaard 1955). Cette voie est peu significative quantitativement mais importante cliniquement dans la pathogénie de la dermatite de contact (OMS IPCS, 1991). Il ne pourrait pas être déterminé si le nickel ait été absorbé dans les couches profondes de la peau ou dans la circulation sanguine (ATSDR, 2005).

4-2- Distribution :

La distribution du nickel varie selon la voie d'exposition (PISSC, 1991), la forme chimique et le temps après exposition (Coogan *et al.*, 1989).

4-2-1- Exposition respiratoire

Les concentrations de nickel sont beaucoup plus élevées dans les poumons que dans le foie et les reins après une exposition par inhalation. (PISSC, 1991). La muqueuse nasale peut retenir du Ni pendant de nombreuses années (Torjussen *et al.*, 1978).

4-2-2- Exposition oral

Les niveaux sériques de nickel ont atteint un sommet de 2,5 et 3 heures après l'ingestion de nickel (Christensen et Lagesson 1981; Patriarca *et al* 1997; Sunderman *et al*, 1989b). Dans les travailleurs qui ont ingéré accidentellement de l'eau contaminée par du sulfate de nickel et le chlorure de nickel, le mi-temps moyen de sérum du nickel était de 60 heures (Sunderman *et al.*, 1988), ce mi-temps a diminué

sensiblement (27 heures) quand les travailleurs ont été traités en intraveineuse avec des fluides.

Après absorption par le tube digestif, le nickel est principalement présent dans les reins, mais on en retrouve des quantités appréciables dans le foie, le cœur, les poumons et les tissus adipeux, ainsi que dans les tissus du système nerveux périphérique et du cerveau (*Oskarsson et al., 1979 ;Herlant-Peers et al.,1983*). Une étude de Dostal et al(1989) chez le rat suggère que le nickel peut s'accumuler dans le lait maternel.

4-2-3- Exposition cutanée

Pendant une heure après application de chlorure de nickel à la peau rasée des cobayes, le nickel s'était accumulé dans des secteurs keratinaceous et dans des sacs de cheveux (Lloyd,1980). Après 4 heures, du nickel a été trouvé dans le corneum de strate et le spinosum de strate. Pendant vingt-quatre heures après traitement de peau épilée chez les lapins et les cobayes avec nickel-57, la radioactivité a été détectée dans le sang, les reins, et le foie avec les quantités les plus élevées trouvées dans le sang et les reins (Norgaard 1957).

La dermatite de contact, qui résulte d'une exposition cutanée au nickel, est l'effet le plus fréquent du nickel dans la population générale. Différentes études ont indiqué que l'administration d'une dose unique par voie orale de sulfate de nickel peut entraîner une exacerbation des symptômes de dermatite chez les sujets sensibilisés (ATSDR, 1997). La plus faible dose entraînant une dermatite a été estimée à 0,009 mg de nickel/kg (Cronin *et al.*, 1980).

4-3- Excrétion

L'élimination de nickel absorbée se produit principalement par l'urine, bien que certains puissent être excrétés en salive, sueur, la bile, les cheveux lait et larmes(Delmotte et al., 2001). Nickel qui n'est pas absorbé à partir de l'appareil gastro-intestinal est excrété dans les fèces (IPCS, 1991).

Une partie du nickel absorbé à partir du tractus gastro-intestinal est excrétée dans l'urine et est associé principalement à des complexes de faible poids moléculaire qui contiennent les acides aminés. Il a été rapporté que le nickel fécal est

habituellement approximativement 100 fois cela de nickel urinaire (ATSDR, 1988 ; Goyer, 1991). Après l'administration par voie orale de chlorure de nickel à des rats, de 94 à 97 % excrété dans les fèces et de 3 à 6 % dans les urines en 3 jours (Ho et Furst, 1973).

La demi-vie d'élimination urinaire de nickel allant de 20 à 60 heures (Onkelinx et al., 1973 ; Sunderman, 1989 ; Denkhaus et al., 2001).

5-Toxicité du nickel

Les effets néfastes sur la santé de nickel dépendent de la voie d'exposition (inhalation, voie orale ou cutanée) et peuvent être classés en fonction de période d'exposition aiguë, subchronique, et chronique.

5-1- Toxicité aiguë

Les intoxications aiguës par le nickel sont exceptionnelles chez l'homme. Les doses ingérées associées à des effets toxiques étaient très élevées, au-delà de 7mg/kg mc.(Sunderman et al.,1988 ; Sunderman et al.,1989)

Un cas mortel d'intoxication de nickel a été signalé pour une fille de 2 ½ ans qui avait ingéré 15 g de sulfate de nickel (Daldrup et al., 1983) 35. La mort due au syndrome de détresse respiratoire adulte causé par le nickel (ARDS) a été rapportée pour un nickel de pulvérisation de travailleur utilisant un processus d'arc thermique (Rendall et al., 1994). Des lésions rénales et une hématurie franches étaient également observées dans la toxicité aiguë de nickel (Clemons et Garcia, 1981). Des effets toxiques ont été observés chez 35 travailleurs d'installation de galvanisation ayant bu accidentellement de l'eau contaminée par du sulfate et du chlorure de nickel, et de l'acide borique (Sunderman *et al.*, 1988). L'exposition a été estimée entre 7,1 et 35,7 mg de nickel par kg. Les symptômes incluent des nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, maux de tête, sensations d'ébriété et une augmentation transitoire des érythrocytes, de la bilirubine sérique et de l'albumine urinaire (INERIS, 2006).

Les données de toxicité aiguë du nickel par voie orale indiquent que les oxydes de nickel, composés pratiquement insolubles, sont moins toxiques que les formes solubles du nickel (Pichard 2006). Les sels solubles de nickel (p.ex; le dichlorure de nickel, le sulfate de nickel, le nitrate de nickel et le bis (sulfate) de diammonium et

de nickel) ont une toxicité aigue qui varie de modérée à très élevée chez le rat (DL50 de 42,5 à 12 mg/kg mc) alors que la poudre de nickel et les sels de nickel insolubles.

5-2- Toxicité sub-chronique et chronique

Les études 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 (INERIS, 2006) 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. Des cas d'asthme ont été décrits à la suite d'une exposition professionnelle au nickel (Novey *et al.*, 1983 ; Dolovich *et al.*, 1984 ; Shirakawa *et al.*, 1990).

L'ingestion de nickel de façon chronique en quantité importante est associée à un faible poids des bébés à la naissance, à des dermatites et à des dommages cardiaques et hépatiques, en général, ces dommages sont évités si la quantité de nickel métallique consommée ne dépasse pas 0,012 mg/kg/jour (OMS, 1991). La valeur de référence pour une ingestion de composés de nickel (excluant les oxydes de nickel) suggérée par l'Office of Environmental Health Hazard Assessment est de 0,05 mg/kg/jour (INERIS, 2006).

La bronchite chronique, la fibrose pulmonaire et l'atteinte des fonctions respiratoires sont associées à l'exposition chronique au nickel à de fortes doses (INERIS, 2009).

L'exposition chronique (6 heures/jour, 5 jours/semaine pendant 78 semaines) à des poussières de sous sulfure de nickel (0,97 mg de nickel/m³,) a entraîné une augmentation des lésions pulmonaires chez des rats Fisher 344 (Ottolenghi *et al.*, 1974). Les lésions étaient de type pneumonie, atélectasie, bronchite, bronchectasie, emphysème.

Des lésions incluaient une augmentation du poids des poumons, une inflammation et/ou une fibrose des poumons après une exposition chronique de 2 ans des rats et des souris au monoxyde de nickel (0 - 2 mg/m³), et sulfure de nickel (0 -

0,73 mg/m³), et du sulfate de nickel (0 - 0,11 mg/m³) (NTP, 1996a, 1996b, 1996c).

- **Effets sur la reproduction et le développement**

Il n'existe pas d'études chez l'homme quand aux effets sur la reproduction et le développement du nickel par voie orale ou cutanée (OMS IPCS, 1991 ; ATSDR, 1997).

Chez 356 femmes employées dans une raffinerie de nickel, exposées par inhalation à des concentrations de 0,084 à 0,196 mg de nickel/m³ (sous forme de sulfate de nickel), le taux d'avortement spontané était de 15,9 % contre 8,5 % chez des femmes non exposées (Chashschin *et al.*, 1994). Chez les femmes exposées, le taux de malformations était de 16,9 % contre 5,8 % chez les non-exposées. Les auteurs fournissent un risque relatif de 2,9 pour l'ensemble des anomalies, de 6,1 pour les anomalies du système cardiovasculaire et de 1,9 pour les anomalies musculosquelettiques (INERIS, 2006).

La dégénérescence testiculaire été observé chez les rats et les souris exposés au sulfate de nickel (>1,4 mg Ni/m³) et sous-sulfure de nickel (>1,83 mg Ni/m³ pour les rats et ; >3,65 mg Ni/m³ pour des souris) 6 h/jour pendant 12 jours (NTP, 1996a, 1996c) 63 -65. Chez les rats mâles exposés à NiSO₄ à 25 mg/kg, plusieurs changements testiculaires, comme la prolifération cellulaire interstitiel, les parois des vaisseaux de transport, et la réduction du nombre de spermatozoïdes et certaines enzymes testiculaires tels que des stéroïdes 3β hydroxystéroïde déshydrogénase étaient vu (EPA1985). Das et Dasgupta(2002) également signalé une diminution du nombre de spermatozoïdes, la motilité des spermatozoïdes, et l'altération de la stéroïdogénèse des rats traité en nickel. L'exposition de nickel élève la peroxydation testiculaire de lipide et supprime les activités enzymatiques antioxydantes dans les rats (Gupta *et al.* ; 2007). Kakela *et al* (1999) menée une étude pour déterminer les effets reproducteurs du nickel chez les rats Wistar mâles et femelles exposés au nickel à 10-100 ppm NiCl₂ dans l'eau potable. Dans les mâles (exposés 28 ou 42 jours avant que reproduction) NiCl₂ a induit le rétrécissement des tubules séminifères et a diminué le nombre de spermatogonies dans les tubules.

Différentes études menées sur des souris et/ou rats exposés par voie orale (gavage ou ingestion d'eau de boisson) à différentes formes de nickel mettent en exergue l'impact sur la descendance : létalité des nouveaux nés, tailles et poids corporels des nouveau nés réduits (SLI, 2000 ; Ambrose et al., 1976). L'étude de Smith et al. (1993), menée sur des rates pendant 11 semaines avant l'accouplement puis pendant 2 périodes successives de gestation et d'allaitement, montre une augmentation de la mortalité foetale.

- **Cancérogénicité et génotoxicité du nickel**

l'exposition professionnelle au nickel sulfurés et oxydés aux fortes concentrations cause les cancers des poumons et nasaux selon une étude de comité international de cancérogénicité de Ni chez l'homme (ICNCRM, 1990).

Plusieurs études expérimental et épidémiologiques ont montré que le nickel (Ni^{+2}) est génotoxique (Costa et al., 2002 ; Chen et al., 2003b).les mécanismes de cette génotoxicité sont multiples soit par cassures mono brins et double brins de l'ADN pour des très faibles concentrations avec activation de la poly ADP-ribose polymérase qui est normalement induite en présence de lésions dans l'ADN (Cai et Zhuang, 1999 ; Lei et al., 2001) soit par la production d'espèces réactives de l'oxygène tel que le radical hydroxyle,(Chen et al., 2003b ;Costa et al.,2002) ou par inhibition (à des concentration non cytotoxiques de Ni^{+2}) des processus de réparation des lésions de l'ADN causées entre autres par les UV (Hartwig et al., 1994a et 1994b ; Hong et al., 1997 ; Wozniak et Bliak, 2004 ;Hu et al.,2004).Cette inhibition peut être prévenue par les ions Mg^{+2} (Hong et al.,1997).En conséquence le Ni^{+2} entraine une mutation transverse de type CC _ TT qui caractérise la mutagénèse du cuivre et des UV entre autres (Tkeshelashelashvili et al., 1993). La génotoxicité disparaît après élimination du nickel des matrices contaminées la génotoxicité qui lui est liée disparaît(Montanaro et al.,2005).

- **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 (UKWIR, 1996).

La contribution spécifique du nickel apporté par l'eau de boisson n'est toutefois pas déterminée. Un certain nombre d'études ont démontré des effets dermiques chez les populations sensibilisés suite à l'ingestion de nickel. Certaines études indiquent que l'ingestion de nickel peut aggraver un eczéma (*Haber et al., 2000*).

Dans leur travail *Haber et al. (2000)* citent trois études qui fournissent des informations intéressantes sur les doses provoquant un eczéma chez les personnes sensibilisées sans pour autant pouvoir formellement définir un seuil de déclenchement. La majorité des individus, voir tous réagissent au plus fortes dose de nickel testées (soit 2,5 ou 5,6 mg en prise unique). Quelques individus réagissent à des doses de 1,2 mg de nickel. D'autres études rapportent des dermatites de contact observées chez des individus sensibilisés pour des doses uniques de 2,5 mg. Il existe un cas rapporté de manifestations allergiques après contact avec des eaux contenant du nickel à hauteur de 33 à 79 µg/L et décrivant des plaques rouges récidivantes sur le visage d'une jeune femme coréenne dont l'eau –d'origine souterraine – était utilisée pour la boisson et l'hygiène corporelle. La substitution par une eau d'une autre origine s'accompagne d'une régression spontanée et durable des signes cliniques (*Lee and Lee, 1990*).

6- Nickel et le stress oxydatif

Le nickel et d'autres métaux lourds peuvent également produire des radicaux libres directement de l'oxygène moléculaire dans un processus en deux étapes pour produire l'anion de superoxyde. En présence continue du métal lourd, les anions de superoxyde formés peuvent alors combiner avec des protons dans la réaction de dismutation produisant du peroxyde d'hydrogène dans le processus.

Le nickel peut se lier aux enzymes de réparation d'ADN et de produire des radicaux libres de l'oxygène pour provoquer la dégradation des protéines. Ces dommages irréversibles aux protéines impliquées dans la réparation de l'ADN, la réplication, la recombinaison et la transcription pourraient être importants pour les effets toxiques de nickel (*Lynn et al., 1998*).

Des données expérimentales suggèrent que le stress oxydatif peut être important dans la carcinogenèse induite par le nickel, nickel (Ni^{+2}) imiter l'hypoxie et a été utilisé comme un outil pour étudier le rôle de la détection de l'oxygène et cascades de

signalisation dans la régulation de l'expression génique inductible par l'hypoxie, il est concevable que les ROS puissent déclencher des voies aboutissant à l'activation du facteur inductible par l'hypoxie (HIF) -1 facteur de transcription et la régulation positive de gènes liés à l'hypoxie signalisation (Das et al., 2007).

Ni (II) augmente l'oxydation de toutes les bases d'ADN in vitro ((Salnikow et al., 2000) et de peroxydation de lipide in vivo (Coogan et al., 1989). la réactivité de Ni (II) avec les dérivés de l'oxygène peut être modulée par chélation avec certain-histidine et contenant de la cystéine-ligands (Shi et al., 1993 et 1992). Les résultats d'une série d'études utilisant des cultures de lymphocytes de sang périphérique humain suggèrent également que le nickel induit un stress oxydatif (M'Bemba-Meka et al., 2005; M'Bemba-Meka et al., 1980). Dans une étude in vitro en utilisant des lymphocytes humains, le chlorure de nickel a augmenté la production de peroxyde d'hydrogène et de lipides peroxydation (M'Bemba-Meka et al., 2005).

Etude biologique :

1-Matériel animal :

Notre étude expérimentale a porté sur un échantillon de 36 rats males de souche Wistar. pesants entre 130-175 g à leur arrivée, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours, à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont regroupés par 6 dans des cages en polyéthylène tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois et d'un biberon d'eau. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré et un libre accès à l'eau

2-Méthodologie :

2-1-Protocole expérimentale :

Les 36 rats males sont répartis en 6 groupes égaux de 6 rats chacun, les animaux témoins et traités sont pesés chaque deux jours le matin, durant la période du traitement (21jours). Les traitements ont été effectués comme suite :

- ✓ Lot témoin qui reçoit le sérum physiologique (0.9% NaCl) durant la période du traitement.
- ✓ lot traite au nickel sous forme de sulfate de nickel hexa hydrate $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (sigma, produits chimiques, StLouis ,MO) a raison de 20 mg/kg IP préparés dans le sérum physiologique (borders et apillian, 1983).
- ✓ lot traité au L- méthionine (100 mg/kg) administré par voie orale.
- ✓ lot traité à la même dose de nickel (20mg/kg) avec l'administration par voie orale du L-méthionine. (Chambers *et al.*,1999)
- ✓ Lot traité par la vitamine E sous forme de α -tocophérol à raison (100 mg/kg) administré par voie orale (Pari et Prasath, 2008).
- ✓ Lot traité à la même dose de nickel avec l'administration par voie orale du l'alpha tocophérol (100/ kg) .

2-2- préparation des prélèvements :

Les prélèvement sanguins ont été fait après décapitation rapide, le sang arterio-veineux a été recueilli, sur des tubes :

- **EDTA** , pour le dosage des paramètres hématologiques.

- **Hépariné**, qui subit une centrifugation de 3000 tours /minute, pendant 15 minutes, le sérum obtenu est séparé en trois fraction dans des tubes Ependorf ; puis mis au 4 °C jusqu'au moment du dosage biochimique.

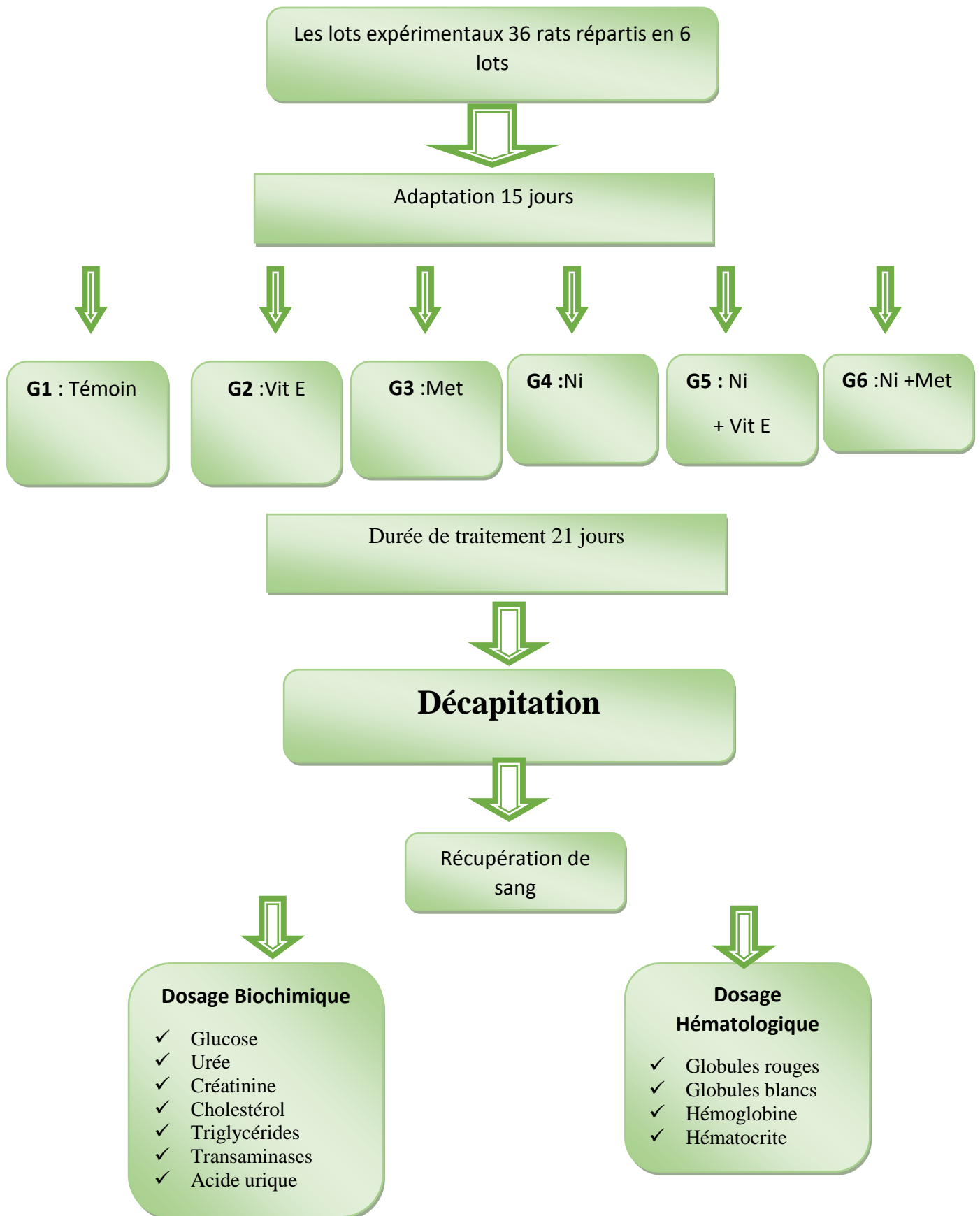


Figure 5 : schéma récapitulatif du protocole expérimental.

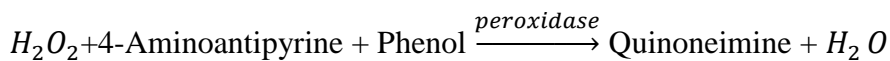
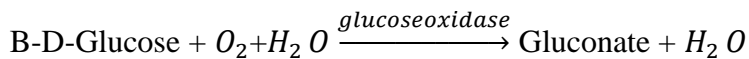
2-3-Dosage des paramètres biochimiques :

2.3.1. Dosage du glucose

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

▪ 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 :



Reactifs

Réactif 1:	Tris ph 7.4	92 mmol/L
Tampon	phénol	0.3 mmol/L
Reactif 2 :	Glucose oxydase (SOD)	15000 U/L
Enzyme	Peroxydase (POD) 4-Aminophenazone (4-AP)	1000 U/l . 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.

. 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.

Calcul de la concentration

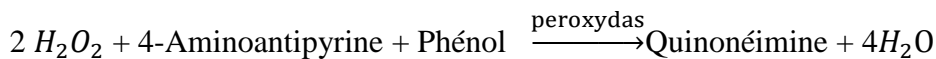
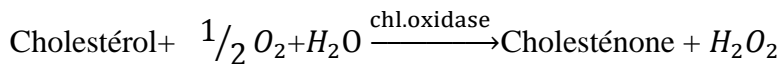
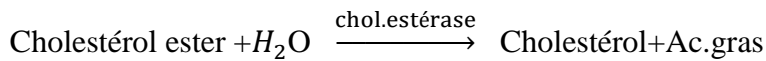
La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

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

2.3.2. Dosage du cholestérol

Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

Principe : le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. Le cholestérol estérase hydrolyse les esters et le H₂O₂ est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol oxydase. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec le phénol pour produire le quinonéimine, selon les réactions ci-dessous:



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

Réactifs

Réactif 1:	PIPES pH 6,9	90 mM/L
Tampon	Phénol	26 mM/L
Réactif 2:	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/L
Enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0,4 mM/L
Cholestérol calibrateur	Cholestérol aqueux (standard)	200 mg/dL

Réactif de travail: dissoudre le contenu d'une bouteille de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 4 mois à 2-8°C ou 40 jours à 15-25°C.

Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (.µL)	-	10	-
Echantillon (.µL)	-	-	10

Mélanger et incubé 10 min à température ambiante. Lire l'absorbance (A) des échantillonset de l'étalon, contre le blanc à 505 nm. La couleur est stable pendant 60 minutes.

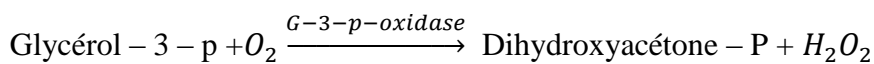
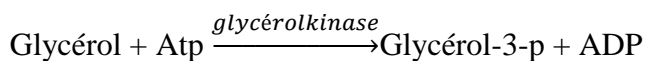
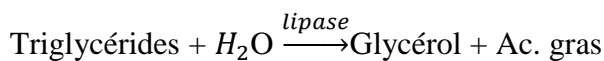
Calcul de la concentration :

la concentration du cholestérol est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (mg/dL)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

2.3.3. Dosage des triglycérides :(Kaplon 1984). Selon la fiche technique Spinreact

Les triglycérides présents dans l'échantillon donnent, selon les réactions décrites ci-dessous , un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie



• **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	GOOD pH 7.5 p-chlorophénol	50 m mol/l 2 m mol/l

R2 enzymes	Lipoprotein lipase	150000 U/l
	Glycérole kinase	500 U/l
	Glycérol3 – phosphate	2500 m mol/l
	Peroxydase (POD)	440 U/l
	4-Amin antipyrine (4-AP)	0.1 m mol/l
	ATP	0.1 mmol/l
Triglycérides cal	Etalon de triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl
R4 Etalon	Etalon de l'urée aqueux primaire	50 mg/dl

- **Echantillons :** Sérum
- **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon de Triglycérides (S)	–	10µl	–
Echantillon	–	–	10µl
Réactif (A)	1,0 ml	1,0 ml	1.0 ml

- Bien agiter et incuber les tubes pendant 15 minutes à température ambiante (16 - 25°C) ou pendant 5 minutes à 37°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'Etalon et de l'Echantillon face au Blanc à 500 nm . la couleur est stable au moins 2 heures

- **Calculs :**

La concentration en triglycérides de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\frac{A_{Echantillon}}{A_{Etalon}} \times C_{Etalon} = C_{Echantillon}$$

La concentration de l'étalon = 200 mg/dl

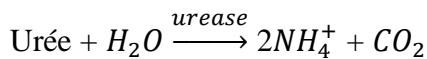
Facteur de conversion : mg/dl × 0.025 = m mol/l.

2.3.4. Dosage de l'urée :

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

• **Principe :**

L'urée présente dans l'échantillon donne, selon les réactions décrites ci-dessous, un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie



• **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	Phosphate Salicylate de sodium Nitroprusside de sodium	20 m mol/l 62 m mol/l 3.4 m mol/l
R2 NaClO	Hypochlorite de sodium Hydroxyde de sodium	150 m mol/l
R3 Enzymes	Uréase	• 500U/l
R4 Etalon	Etalon de l'urée aqueux primaire	50 g/dl

• **Echantillons :** Sérum

• **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon urée (S)	–	10µl	–
Echantillon	–	–	10µl
Réactif (A)	1.01ml	1.0ml	1.0ml

- Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante (16-25 °C) ou pendant 5 minutes à 37 °C
- Lire l'absorbance (A) de l'Etalon et de l'Echantillonface au Blanc à 600 nm . La couleur est stable au moins 2 heures

- **Calculs :**

La concentration en urée de l'échantillon est calculée selon la formule suivante

$$\frac{A_{Echantillon}}{A_{Etalon}} \times C_{Etalon} \times \text{Facteur de dilution échantillon} = C_{Echantillon}$$

La concentration de l'étalon = 50mg/dl

2.3.5. Dosage de créatinine : (Murry et al ., 1984) .Selon la fiche technique Spinreact

- **Principe :**

créatinine présente dans le sérum forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique . La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine

- **Echantillon :** Sérum

- **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
R_1	Acide picrique	17.5 mol/l
R_2	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/l
R_3 Etalon	Etalon de la créatinine aqueux primaire	2 mg/dl

- **Préparation et stabilité :**

Les réactifs sont prêts à l'emploi , stable à température ambiante .

Réactif du travail : mélanger à parts égales R_1 et R_2

Stabilité : 10 jour à 15 – 25 °C

• **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-		100

- Mélanger et lire la densité optique DO1 après 30 sec , à 492 nm.
- Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.

• **Calcule :** Calculer $\Delta Do = DO2 - DO1$ pour le standard et les échantillons.

$$\text{Concentration de la créatinine (mg / dl) } = \frac{\Delta DO_{\text{échantillon}}}{\Delta DO_{\text{standard}}} \times 2$$

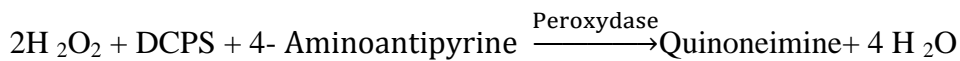
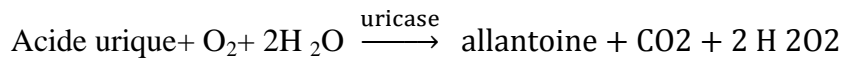
La concentration de l'étalon = 2 mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl = µ mol/l

2.3.6. Dosage de l'acide urique : (Schultz *et al.*, 1984). Selon la fiche technique **Spinreact**

▪ **Principe :**

L'acide urique présent dans l'échantillon donne selon la réaction décrite ci-dessous un complexe coloré, quantifiable par spectrophotométrie :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon.

▪ **Echantillon :** Sérum

▪ **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
R ₁ tampon	Phosphate pH7.4	50m mol/l

	2-4 Dichlorophenolsulphonate (DCPS)	4 m mol/l
R ₂ enzymes	Uricase	60 U/l
	Peroxydase (POD)	660 U/l
	Ascorbateoxidase	200 U/l
	4- Amino antipyrine (4-AP)	1 m mol/l
R ₃ Etalon	Etalon de l'acide urique aqueux primaire	6 mg/dl

▪ **Préparation de réactif de travail (RT) :**

- Dissoudre le contenu de R₂ dans la fiole de R₁.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8C°, ou 10 jours à 15-25C°.

▪ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	...	25	...
Echantillon (µl)	25

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10min à 15-25 minutes.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 520nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

▪ **Calcule :**

$$\text{Concentration de l'acide urique (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 6$$

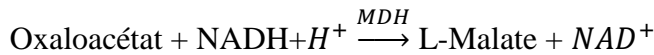
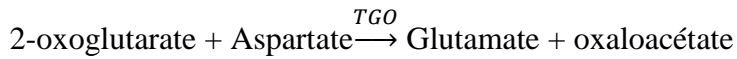
La concentration de l'étalon = 6 mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl × 59.5 = m mol/l

2.3.7. Dosage de TGO : (Bergmyer , 1980) .Selon la fiche technique Biomagreb

• **Principe**

Détermination cinétique de l'activité Aspartateaminotransférase .Le schéma réactionnel est le suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité Aspartateaminotransferase dans l'échantillon

- **Echantillon** : Sérum
- **Réactifs utilisés** :

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris pH 7.8 à 30°C L-Aspartate	80 m mol/l 200 m mol/l
R2 substrat et enzymes	NADH LDH MDH Oxoglutarate	0.18 m mol/l 800U/l 600U/l 12m mol/l

- **Préparation de réactif et stabilité** :
 - Dissoudre le contenu de R₂ dans la fiole de R₁
 - Agiter bien doucement jusqu'à elle devient homogène.
- **Mode opératoire** :

Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température	37°C
Echantillon	50µl

Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 °C .Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340nm.

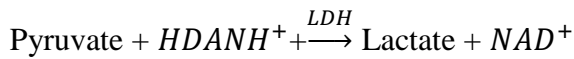
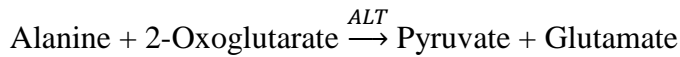
- **Calcul** :

$$\text{Activité (ASAT/TGO) U/l} = \Delta\text{DO} \times 1750$$

2.3.8.Dosage de TGP : Selon la fiche technique BioSystems

- **Principe** :

L'alanine-aminotransférase(ALT ou GPT) catalyse le transfert du groupement amino de l'alanine au 2-oxoglutarate , en formant le pyruvate et le glutamate . La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la lactate-déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH , mesuré à 340 nm



- **Réactifs utilisés**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris pH 7.3 à30°C	150 m mol/l
	Alanine	750 m mol/l

- **Préparations des réactifs**

Réactif de travail : vider le contenu d'un flacon de réactif B dans un flacon de Réactif A. Homogénéiser. D'autres volumes peuvent être préparés dans les proportions : 4 ml Réactif A+1 ml Réactif B. Le Réactif de travail est stable 2 mois à 2-8 °C.

Réactif de travail avec Phosphate de Pyridoxal : Mélangez dans la proportion : 10ml de Réactif de Travail + 0.1 ml de Réactif C (code 11666) . Stable 6 jours à 2-8 °C.

- **Echantillon Sérum**
- **Mode opératoire :**

Température de réaction	37°C	30°C
Réactif de travail	1.0ml	1.0ml
Echantillon	50µl	100µl

- Mélangez et insérez – la dans le porte – cuve thermostaté.Mettre le chronomètre en marche.
- Au bout de 1 minutes, notez l'absorbance initiale et effectuez de nouvelles lectures chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculez l'accroissement moyen d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).

• **Calculs :**

La concentration en ALT/GPT de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\Delta A / \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = U/l$$

Le coefficient d'extinction moléculaire (ϵ) du NaDH à 340 nm est de 6300, Le trajet optique (l) de 1 cm , le volume réactionnel total (Vt) est 1.05 à 37°C et 1.1 à 30°C, le volume d'échantillon (Vs) de 0.05 à 37°C et 0.1 à 30°C , 1U/l équivalent à 0.0166 μ kat/l, on en déduit les facteurs suivants pour calculer la concentration catalytique .

	37°C	30°C
$\Delta A/min$	$\times 3333 = U/l$	$\times 1746 = U/l$
	$\times 55.55 = \mu kat/l$	$\times 29.1 = \mu kat/l$

2.4. Evaluation de la toxicité hématologique :

La toxicité hématologique a été mise en évidence à travers la détermination de la formule numérique FNS) à l'aide d'un coultre automatique (Coulter, Counter T540) : est un analyseur sanguin automatisé pour échantillons de sang entier.

Les paramètres mesurés selon le principe de Coulter sont : Les globules rouges et blancs. la teneur moyen d'hémoglobine, la teneur moyen en hématocrite, le volume globulaire moyen en hémoglobine (CCMH), la teneur globulaire moyen en hémoglobine (TGMH).

2.5. Analyse statistique des données :

L'analyse statistique des données a été effectuée grâce au logiciel MINITAB (Min, Ver.13.31). Une analyse de la variance à un critère de classification ANOVA et une comparaison des moyennes par le test t de Student ont été effectuées p 0.05 est considéré comme significatif.

1-Généralité

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alpha-tocophérol est le plus abondant (Shils *et al.* 2006). La vitamine E agit directement sur une grande variété d'ERO pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol.

La vitamine E est liposoluble et a été démontrée comme le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Morris *et al.* 2003, Shils *et al.* 2006, Traber *et al.* 2007). Elle pourrait augmenter l'activité des SOD et des CAT (Margaritis *et al.* 2003, Lyn Patrick 2006).

Les alimentations riches en hydrates de carbone (CHO) et pauvres en graisse, fréquentes chez les sportifs, ont tendance à être faibles en vitamine E (Wolinsky 1998). Pour certains auteurs, même si le potentiel antioxydant de la vitamine E est démontré *in vitro*, *in vivo* elle remplirait plutôt de nombreux rôles physiologiques non antioxydants de régulation du fonctionnement de la cellule. Sa faible concentration ne lui permettrait pas d'être un antioxydant prépondérant et son utilisation à cette fin pourrait compromettre le fonctionnement cellulaire (Azzi *et al.* 2007, Atkinson *et al.* 2008).

2- Structure et propriétés de la vitamine E

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. Elle a été découverte en 1922 par Evans et Bishop (Jordan and Pattison ,1996). La forme α tocophérol est la plus active et la plus abondante dans les céréales habituellement utilisées (Jordan and Pattison ,1996). Elle peut être synthétisée chimiquement ou isolée des huiles végétales (Nesheim *et al.* , 1979) .On considère aussi les tocotriénols (α , β , γ , δ ...) qui se distinguent des tocophérols correspondants par la présence de doubles liaisons dans la chaîne latérale en 3', 7' et 11'. Ces composés sont moins actifs que les tocophérols correspondants. Ce sont des molécules très oxydables, d'où leur rôle d'antioxydants naturels (Jordan et Pattison ,1996).

3-Source de la 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).

4-Biosynthèse de Vitamine E

La biosynthèse de la vitamine E s'effectue dans les plantes, les algues et certaines plantes non photosynthétiques telles que les champignons mais pas chez les animaux (Threlfall, 1971). Il existe vraisemblablement 2 voies de synthèse conduisant à la formation de la vitamine E, la voie des tocotriénols et la voie des tocophérols (Janiszowska et Pennock, 1976). Dans la première, l'acide homogentisique réagit avec une molécule de géranylgeranyl pyrophosphate pour donner un intermédiaire, le 6-géranylgeranyltoquinol, qui donnera naissance à un tocotriénol monométhylé, le δ -tocotriénol. Des méthylations supplémentaires permettront d'obtenir le β -tocotriénol, le γ -tocotriénol et l' α -tocotriénol. La chaîne latérale peut ensuite être saturée pour former l' α -tocophérol (Janiszowska et Pennock, 1976). Lors de la seconde voie de synthèse, une molécule de phytyl diphosphate est greffée sur le carbone 6 de l'acide homogentisique simultanément à une réaction de décarboxylation, pour former le 2-méthyle-6-phytylplastoquinol ou phytyltoquinol. Une méthylation en position 3 permet la synthèse du 2,3-diméthyle-phytylplastoquinol, qui subira une étape de cyclisation pour former le γ -tocophérol. Une 2^e méthylation en position 5 donne l' α -tocophérol (figure). La synthèse du δ et du β -tocophérol n'a pas encore été clairement élucidée mais il est vraisemblable qu'elle se produise à partir du 2-méthyle-6-phytylplastoquinol (Hirschberg, 1999).

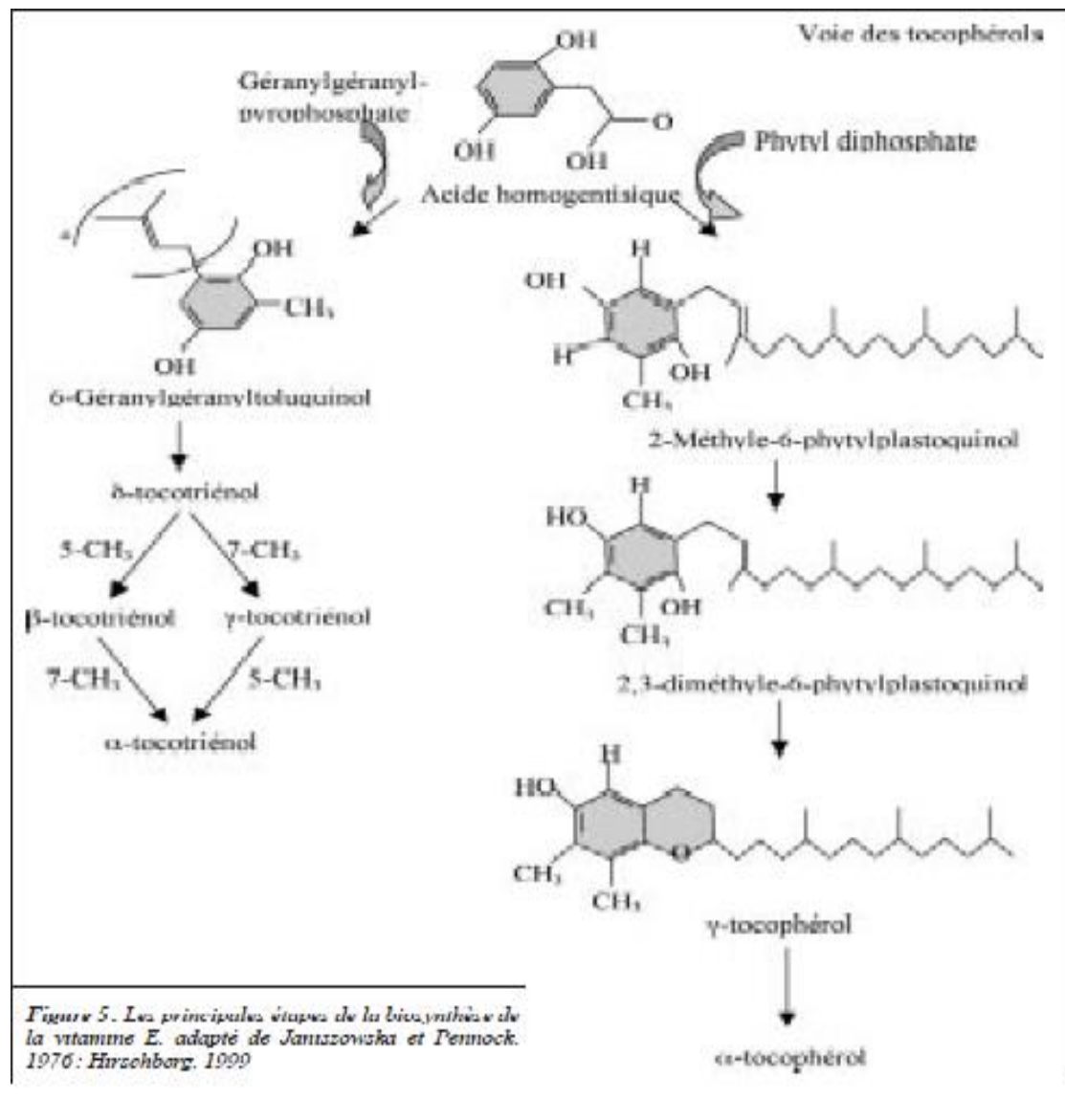


Figure 2 : Les principales étapes de la biosynthèse de la vitamine E, adapté de Janizowska et Pennock, 1976; Hirschberg

5-Métabolisme

L'absorption intestinale de la vitamine E dépend de l'intégrité de la muqueuse intestinale, de la présence des lipases pancréatiques et de l'excrétion hépatique des sels biliaires comme pour toutes les vitamines liposolubles. La vitamine E se retrouve ensuite dans le sang sous forme libre puis rapidement liée aux lipoprotéines (VLDL, LDL). Son catabolisme produit des composés glycuronés de l'acide tocophéronique. (Larbier and Leclercq., 1992)

6-Rôles biologiques de la vitamine E

6-1-Rôle antioxydant

Le stress oxydant a été défini par Sies (1991) comme un déséquilibre prononcé entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes. La vitamine E est reconnue comme antioxydant, grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques (Cheeseman et Slater, 1993). A cet égard, elle participe, avec de nombreuses autres substances, à la lutte contre les formes réactives de l'oxygène, c'est-à-dire la lutte contre les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation de radicaux libres. Il est utile d'identifier la position de la vitamine E parmi les mécanismes de défense contre les FROs. Parmi les auteurs qui se sont intéressés à ce sujet, Kirschvink (2001) propose une classification en 3 groupes :

- la prévention des phénomènes oxydants (transferrine, ferritine, etc);
- l'inactivation des FROs par:
 - transformation des FROs en éléments stables (catalase, superoxyde dismutase et glutathion peroxydase) ;
 - inactivation des FROs par captation de l'électron radicalaire : éléments hydrophiles (acide ascorbique, glutathion, etc) et éléments hydrophobes (vitamine E, caroténoïdes, flavonoïdes, ubiquinol, bilirubine, mélatonine) ;
- la réparation des lésions induites par les FROs (endonucléases, glycosylases, etc).

6-2-Stimulation des défenses immunitaires

La vitamine E agit sur la thyroïde et les glandes surrénales en synergie avec le sélénium (Larbier and Leclercq.,1992), mais à des doses très élevées (10 à 20 fois plus que les besoins, soit 300 mg/kg aliment (Latshaw., 1991). Cet effet stimulant sur la réponse immunitaire (titre d'anticorps et transformation lymphocytaire) contre les infections virales (exp ; le virus de Newcastle) et bactériennes (comme *Escherichia coli*) persiste même si l'apport en vitamine E redevient normal après la distribution de doses élevées pendant les premiers jours de vie (Morandi *et al* ., 1993).

Afin de connaître l'effet de la vitamine E sur la réponse immunitaire induite par des antigènes viraux, une étude a été menée sur 320 poulets de chair (mâles et femelles) inoculés avec différents vaccins (en modifiant l'antigène: virus de la maladie de Newcastle, virus du syndrome chute de ponte , virus de la maladie de Gumboro)

dont l'excipient huileux a été remplacé par une quantité variable de vitamine E (10, 20 ou 30 %). Les résultats ont permis d'établir qu'un vaccin dont une partie de l'excipient huileux (surtout 20 ou 30 %) a été remplacée par de la vitamine E induit une réponse en anticorps plus rapide et plus intense qu'un vaccin contenant seulement de l'huile minérale comme excipient : la vitamine E a alors un effet adjuvant (Franchini *et al.*, 1995).

6-3-Synthèse de l'hème

La vitamine E participe à l'absorption intestinale et au transport du fer, lequel entre dans la structure de l'hème (Morrissey *et al.*, 1997) : la concentration plasmatique de transferrine, et donc la capacité de transport de fer par le sang, augmente avec la quantité de vitamine E dans la ration. De plus, la vitamine E contrôle l'induction et la répression des enzymes qui participent à la formation de l'acide aminolévulinique et du porphobilinogène (Larbier et Leclercq, 1992). Une hypovitaminose E entraîne donc un déficit dans la synthèse de la myoglobine, d'où une décoloration des muscles.

1.le stress oxydant

Les radicaux libres sont des molécules instables et fortement réactives (*Suresh Kumar et al. , 2008*), entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (*Ratnam et al. , 2006*). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs (*Ece et al. , 2007*). Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des ROS (*Serdar et al. , 2006*). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (*Deaton et Marlin, 2003*) provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neuro-dégénératives et des maladies cardiovasculaires (*Ratnam et al. , 2006*). L'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter ce phénomène (stress oxydant) et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine (*Prior et Cao, 1999 ; Laguerre et al.,2007*).

2. Les radicaux libres

Les ROS peuvent être divisés en deux catégories: les molécules d'oxygène qui ont un électron non apparié et les molécules d'oxygène qui sont dans un état excité. Le premier type comprend les radicaux d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}), les radicaux peroxydes lipidiques (LOO^{\bullet}), et les radicaux d'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO^{\bullet}). Le deuxième type est l'oxygène singulet (1O_2) (*Masaki, 2010*). Les ROS les plus souvent formés sont le radical (anion) superoxyde et le radical hydroxyle. Le radical $O_2^{\bullet-}$ est formé lorsqu'un électron est ajouté à une molécule d'oxygène, il est considéré comme le type le moins réactif des ROS et le radical le plus fréquemment produit dans l'organisme humain (*Scheibmeir et al. , 2005*). Il peut être produit à partir de l'oxygène moléculaire par divers types cellulaires via des systèmes enzymatiques (*Ratnam et al. , 2006*). Une fois produit, le O_2^{\bullet} déclenche une cascade rapide des événements qui crée autres radicaux libres, éventuellement terminé par la formation de l' H_2O (*Gutteridge et Mitchell, 1999*). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est formé en tant que produit de dismutation de superoxyde (*Ratnam et al. , 2006*). Le H_2O_2 , mais pas techniquement considéré comme un radical libre d'oxygène, est un membre de la famille des ROS et peut sélectivement participer à la génération des radicaux libres (*Scheibmeir et al., 2005*). Les réactions de Fenton catalysées par les métaux de transition, comme le fer, ou les

réactions d'Haber-Weiss, convertissent le H₂O₂ en radical hydroxyle (OH•) très fort (Ratnam et al. , 2006).

Le OH• et ses radicaux subséquents sont les ROS les plus nocifs (Erel, 2004) et les plus réactifs des radicaux libres (Gutteridge et Mitchell, 1999).

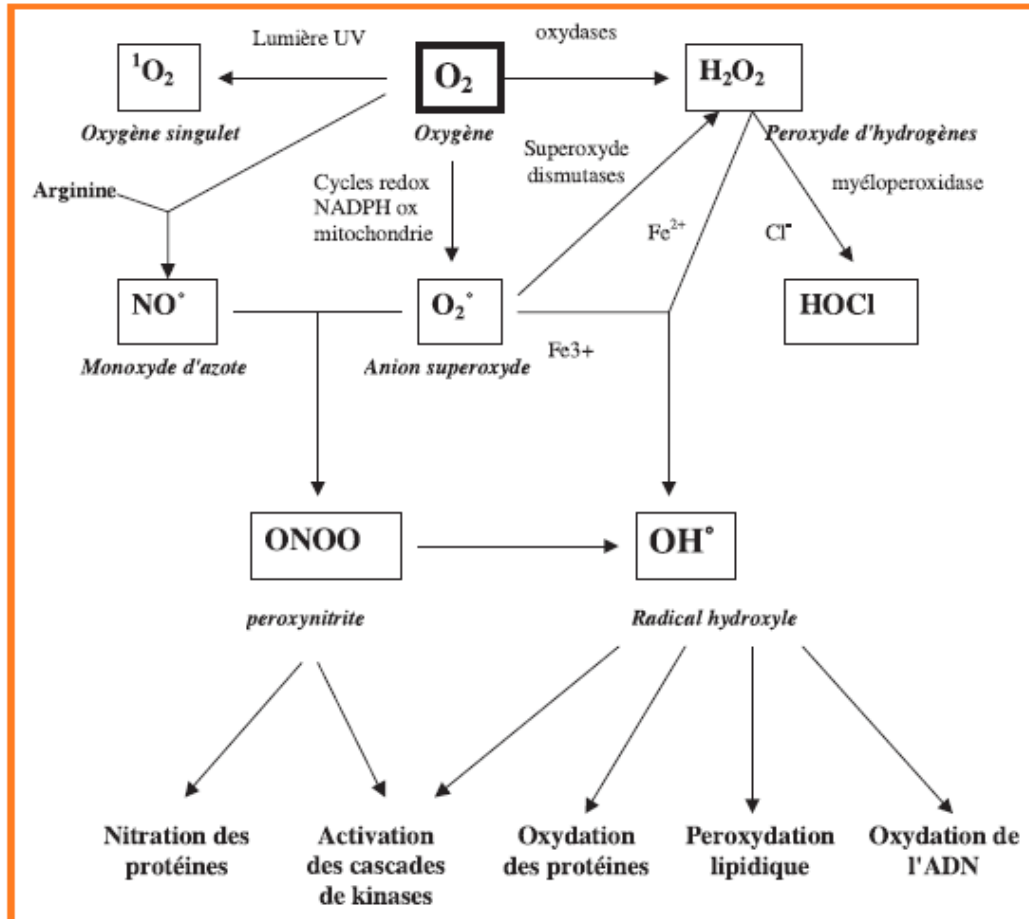


Figure1 :Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Gutteridge et Mitchell, 1999).

2-1-Sources des radicaux libres

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes. Une des plus grandes sources endogènes de production de radicaux libres est la mitochondrie, organelle utilisant de l'oxygène pour produire de l'ATP. Au cours de la respiration cellulaire, 1 à 5% de l'oxygène est transformé en anion superoxyde O₂•⁻, au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) de la chaîne de

transport des électrons (Finaud *et al.* , 2006). Ainsi, la production de radicaux libres est proportionnelle à la consommation d'oxygène, ce qui signifie que l'activité physique, constitue un facteur oxydant.

De plus, les peroxysomes, les microsomes ainsi que les leucocytes tels les granulocytes (neutrophiles et éosinophiles) et les macrophages sont d'importantes sources de production de radicaux libres (Zou *et al.* ,2008 ; Valko *et al.* , 2006). Les granulocytes et les macrophages, grandement impliqués dans le système immunitaire de par leur rôle à éliminer certains antigènes, sont munis d'un système NADPH-oxydase capable de produire des anions superoxyde($O_2^{\bullet-}$)(Finaud *et al.*,2006). Parmi les facteurs endogènes, on retrouve également le stress psychologique, l'inflammation (infection, maladies chroniques), le cancer et la mort cellulaire (Moller *et al.* ,1996).L'obésité est aussi une condition favorisant la production de radicaux libres, les responsables étant l'inflammation chronique, l'hyperglycémie, l'hyperlipémiémie, des niveaux supérieurs de lipides dans les tissus et des défenses antioxydantes inadéquates (Vincent et Taylor, 2006). Dans leur revue, Vincent et Taylor concluent qu'une réduction des niveaux de stress oxydatif peut être observée suite à une restriction calorique, une perte de poids, une intervention chirurgicale ou une supplémentation en antioxydants. La perte de poids a été reconnue capable de diminuer les concentrations de F2-isoprostanes, un marqueur de l'oxydation des lipides (Elizondo *et al.*,2008) (Dalle-Donne *et al.* , 2006) ainsi que les concentrations en lipoprotéines de faible densité (LDL) oxydées (Shin *et al.* , 2006).

Les facteurs exogènes associés à une production accrue et/ou à une diminution de l'élimination de radicaux libres sont également très variés. Parmi ces facteurs, on retrouve:

- L' alimentation (antibiotiques, alcool, café, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d'antioxydants) (Hu *et al.* , 2006), (Moller *et al.* , 1996)
- Le CO₂ atmosphérique (Bentes de Souza *et al.* ,2004)
- Les polluants (cadmium, nickel, arsenic, amiante) (Moller *et al.* ,1996 ; Valko *et al.* , 2006 ;Valko *et al.* , 2005),Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre (Houston, 2007).

- Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène) (Moller *et al.* ,1996) et l'absorption dermique (insecticides, médicaments) (Moller *et al.* , 1996);
- Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) (Moller *et al.* ,1996) ;

3-Principales cibles biologiques des EOR

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

3-1-Oxydation des protéines

La toxicité des ROS s'exerce sur les protéines. Ces ROS sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le radical $\text{OH}\cdot$ s'additionne, modifiant la conformation de la protéine. Sur les acides aminés contenant un atome de soufre 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. Les ROS sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Parailleurs, le radical $\text{OH}\cdot$, mais aussi l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$, 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 (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant la signalisation cellulaire (Favier, 2003).

3-2. Peroxydation lipidique

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique

forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonal dialdéhyde (MDA) ou l'hydroxynonéal. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de lipoprotéines de densité légère (LDL) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires ; l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003)

3-3-Dommages de l'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ROS. Les radicaux $O_2^{\bullet-}$ et OH^{\bullet} provoquent des lésions de l'ADN. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont réparées entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions, et amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

4-Les systèmes antioxydants

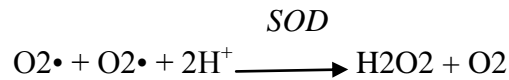
Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux: les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Certains de ces antioxydants sont d'origine endogène qui inclut les enzymes, les molécules de faible poids moléculaire et les cofacteurs d'enzymes. Parmi les antioxydants non-enzymatiques, un grand nombre provenant des sources alimentaires (Ratnam *et al.*, 2006).

4-1. Les antioxydants enzymatiques

1.1.La superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (EC. 1.15.1.1) est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (Rahman, 2007), elle est répandue dans la nature dans les organismes eucaryotes et procaryotes (Ratnam *et al.*, 2006). Il existe trois types de SOD à savoir, la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la

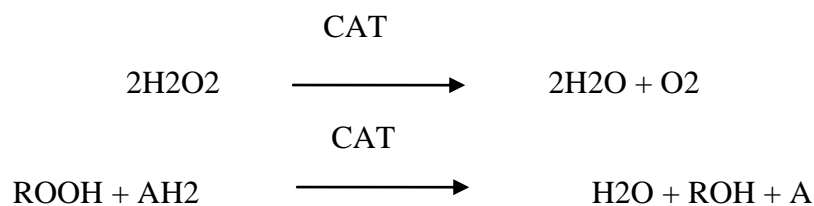
Cu/Zn-SOD extracellulaire (Zelko et al., 2002). Ces trois types diffèrent par la nature du métal du site actif, la composition en acides aminés, les cofacteurs et d'autres caractéristiques (Rahman, 2007). Chez l'homme, les plus hauts niveaux de la superoxyde dismutase se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (Scheibmeir et al., 2005). La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Matès et al., 1999).



1-2-La catalase (CAT)

la catalase (EC. 1.11.1.6) est parmi les antioxydants puissants les plus connus dans la nature (Ratnam et al., 2006). Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries (Deaton et Marlin, 2003), elle se reproduit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (Ratnam *et al.*, 2006). La catalase est composée de quatre sous unités protéiques, chacune contenant un groupement hémique avec le Fe³⁺ lié au site actif. Chaque molécule a habituellement une molécule de NADPH+H⁺ qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

La CAT réagit très efficacement avec le H₂O₂, pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire, et avec les donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, acide formique ou phénol) (Matès *et al.*, 1999):

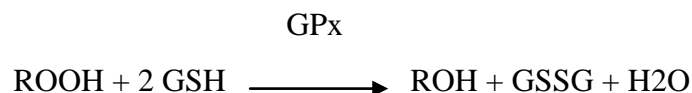


1-3- La glutathion peroxydase (GPx)

la glutathion peroxydase (EC. 1.11.10.19) est une enzyme dépendante du sélénium (Akbas *et al.*, 2005). Elle contient un seul résidu sélénio-cystéine (Se-Cys) dans chacune de ces quatre sous-unités identiques, ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique. Il existe plusieurs iso-enzymes de la GPx trouvées chez les mammifères. Bien que leur expression soit ubiquitaire, les niveaux de chaque isoforme varient selon le type de tissu (Matés *et al.*, 2000). La GPx utilise le glutathion comme un

donneur de proton (H⁺), et le GSH sera oxydé en glutathion oxydé (GSSG). La régénération du GSH est catalysée par la glutathion réductase (GR) (Serdar *et al.*, 2006).

La GPx catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes organiques (ROOH) ou inorganique (H₂O₂), en utilisant le glutathion (Matés, 2000) :



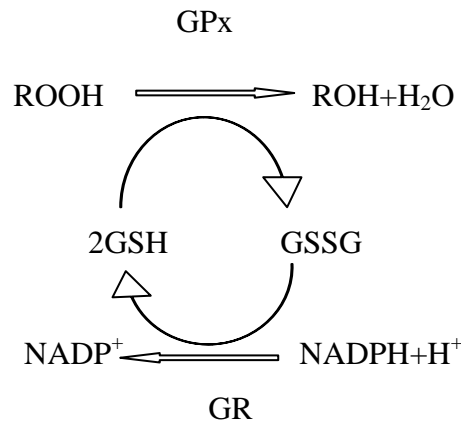
4-2-Les antioxydants non enzymatiques

2-1-Le glutathion (GSH)

Dans des cellules vivantes, le plus abondant thiol de faible poids moléculaire est le glutathion (Sugiyama, 1992). Il est un antioxydant multifactoriel intracellulaire et il est considéré comme le majeur thiol disulfure représentant la solution tampon du redox de la cellule (Rahman, 2007). Le GSH est synthétisé à partir de L-glutamate, L-cystéine, et la glycine. Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion (Sies, 1999), il est également abondant dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries. Il est le principal antioxydant soluble dans ces compartiments cellulaires (Rahman, 2007). Le groupement actif de glutathion est le sulfhydrile (-SH) de la cystéine (Deaton et Marlin, 2003) et qui peut aisément accommoder la perte de l'électron unique (Rahman, 2007).

Le glutathion disulfure ou oxydé (GSSG) est formé par l'oxydation de GSH (Sies, 1999), il est accumulé à l'intérieur de la cellule et le rapport de GSH/GSSG représente un bon indice du stress oxydant d'un organisme. Les rôles principaux de protection de glutathion contre le stress oxydant sont : il peut agir comme cofacteur de plusieurs enzymes de détoxification ; il participe dans le transport des acides aminés à travers la membrane plasmique; il piège les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet directement, et régénère les vitamines (C et E) à leurs formes actives (Rahman, 2007).

La glutathion peroxydase catalyse l'oxydation du glutathion dans laquelle deux molécules de glutathion sont reliées par leurs groupements sulfhydriles en formant un pont disulfure. Ce dernier est ensuite réduit par la glutathion réductase avec l'utilisation de NADPH+H⁺ (Deaton et Marlin, 2003).



2-2-La vitamine E

La vitamine E ou tocophérol est un composé liposoluble, elle regroupe quatre substances : l'alpha tocophérol (le plus actif), le bêta tocophérol, le gamma tocophérol et le delta tocophérol. Elle contribue à neutraliser les radicaux libres qui peuvent s'accumuler dans les membranes lipidiques et tissus gras de l'organisme, et elle joue un rôle essentiel dans la protection de la membrane cellulaire. En plus de son activité antioxydant, la vitamine E évite l'agrégation excessive des plaquettes responsables des thromboses, a une action protectrice sur les globules rouges et prévient les maladies cardiovasculaires d'origine athéromateuse. Elle a aussi un effet bénéfique sur le taux de cholestérol (Basdevant et al., 2001). De façon générale les huiles végétales, les noix, les graines et les légumes en feuilles vertes sont de bonnes sources de vitamine E.

2-3- La vitamine C

La vit C ou l'acide ascorbique a été identifié comme un facteur antiscorbutique dans le traitement du scorbut en 1920 par Szent-Gyorgy et Glenn (Deaton et Marlin, 2003). Il s'agit d'un important et puissant antioxydant hydrosoluble qui ainsi fonctionne dans les milieux aqueux de l'organisme (Sugiyama 1992 ; Deaton et Marlin, 2003). Une vaste gamme de ROS (hydroxyles, radicaux peroxydes, anions superoxydes, acides hypochloreux), les espèces réactives du nitrogène (peroxynitrite) et les radicaux dérivés des antioxydants (radicaux α -tocopheroxyl et l'urate) sont éliminés par l'acide ascorbique (Deaton et Marlin, 2003). Ses principaux antioxydants partenaires sont la vitamine E et les caroténoïdes. La vit C peut également contribuer avec les enzymes antioxydantes (Rahman, 2007).

2-4- β carotène

Le B Carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités : précurseur de la vitamine A, capte l'oxygène singlet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Goudable et Favier., 1997).

2.5. Les oligoéléments

2-5-1-Le Sélénium

Le sélénium(Se) joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases sélénio dépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénio protéines (BURK, 2002)

2-5-2-Le Zinc

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD. Cependant, au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (Powell., 2000):

- Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de Fenton ;
- Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires ;
- L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (Delattre et *al.*, 2005).

1-Généralités sur les acides aminés soufrés

Les composés riches en soufre, tels que la cystéine et méthionine, sont présentes dans toutes les cellules de l'organisme et sont indispensables à leur survie. D'un point biochimique, il est désormais couramment admis que la cystéine possède des propriétés antioxydants (Atmaca G *et al.*,2004). Ces propriétés sont dues au fait que la cystéine est un constituant essentiel du glutathion, un puissant antioxydant également indispensable à la détoxification des cellules de notre corps (Deneke S.M *et al.*.,1989) .

Les acides aminés soufrés sont contenus dans les protéines alimentaires à des teneurs comprises entre 2 et 5 % .les protéines de céréales et les protéines animales sont plutôt riches en acides aminés soufrés (3.5 à 5 %),comparativement aux protéines légumineuses qui ne contiennent que 2 à 3%de méthionine + cystéine. le ratio méthionine/cystéine de l'alimentation varie selon la nature des protéines consommées mais reste typiquement compris entre 1 :1 et 2 :1 (Dumas *et al.*,2007).

2-La Méthionine

La méthionine est une acide - α -aminé soufré non polaire, son atome de soufre participant à un thioéther (-S-CH₃). Elle joue un rôle critique dans la reproduction, la survie cellulaire, pour l'initiation de traduction, la méthylation des protéines et de l'ADN.

Elle est exigée dans le régime des humains et de bétail. Les protéines végétales sont fréquemment déficientes en méthionine et conséquent un régime exclusivement végétale peut n'arriver pas à atteindre de condition nutritionnelles (Rose.,1938). Actuellement, la méthionine est obtenue par voie de la synthèse chimique ou par l'hydrolyse, protéines. La synthèse chimique produit un mélange de d et l-méthionine (Mannsfeld *et al.* ,1978;Leuchtenberger,1996).

La méthionine est intensivement employée dans l'industrie de volaille et de matière de base (Tabor *et al.*,1958;Neuvonen *et al.*,1985 ;Funfstuck *et al.*,1997 ;Campbell,2001).

3-Biosynthèse de la méthionine

Chez les plantes et les microorganismes, la méthionine est synthétisée par une voie qui utilise à la fois de l'acide aspartique et des acides aminés cystéine. Tout d'abord, l'acide aspartique est converti par l'intermédiaire de β -aspartyl-semialdéhyde en homosérine, l'introduction de la paire de groupes méthylène contigus. Convertit homosérine O-succinylehomosérine, qui réagit ensuite avec de la cystéine pour produire cystathionine, qui est clivée pour donner l'homocystéine. La méthylation subséquente du groupement thiol par folates donne méthionine.

Deux cystathionine- γ -synthase et cystathionine- β -lyase nécessitent pyridoxyl-5'-phosphate en tant que co-facteur, alors que l'homocystéine méthyltransférase nécessite de la vitamine B12 en tant que cofacteur (Lehninger 2000).

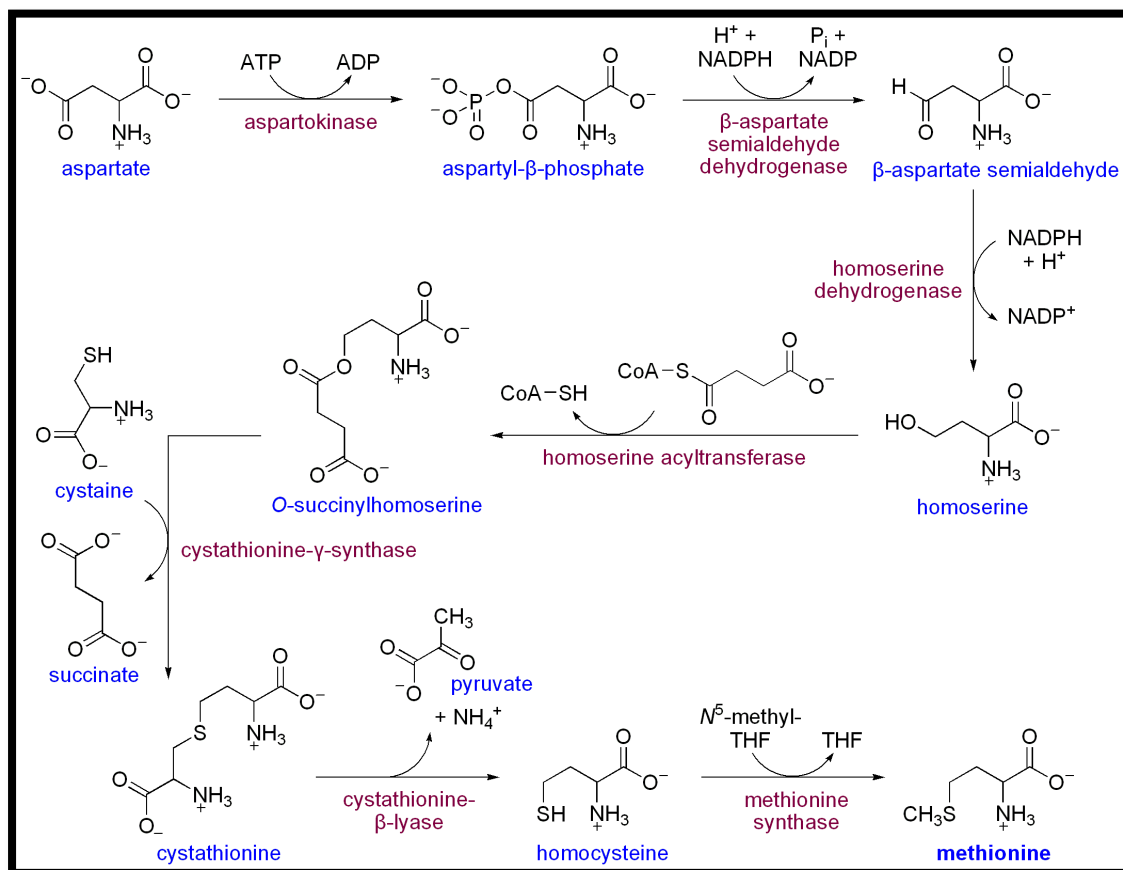


Figure 3 : la biosynthèse de méthionine (Lehninger, 2000)

4-Devenir de la méthionine dans l'organisme

La méthionine alimentaire est libérée dans l'intestin grêle au cours des processus digestifs et captée par l'épithélium sous la forme de di- et tripeptide, par

l'intermédiaire du transporteur PepT1 (Adibi,2003), ainsi que sous forme d'acide aminé libre, par la biais de co-transport avec l'ion Na⁺ impliquant les systèmes de transport B0 et B0 + (Broer *et al.*,2004,Seow *et al.* ,2004,Sloan and ager,1999,Ugawa *et al.* ,2001). L'efflux vers la circulation portale se fait principalement grace à l'intervention des systèmes L et ASC qui fonctionnent comme des échangeurs d'acides aminés neutres entre l'entérocyte et le milieu intérieur (Rossier *et al.*, 1999,Broer *et al.*,2000,Utsunomiya-Tate *et al.*,1996).

5-le métabolisme de méthionine

Le métabolisme de la méthionine commence par son activation à SAM par la méthionine adénosyltransférase (MAT). La réaction est inhabituelle en ce que tous les 3 phosphates sont retirés de l'ATP, une indication de la "haute énergie" nature de cette sulfonium ion. SAM fait ensuite donne son groupe de méthyle à un accepteur pour produire SAH. SAH est hydrolysé en homocystéine et de l'adénosine par SAH hydrolase. Cette séquence de réactions est désignée sous transméthylation et est présente de façon ubiquitaire dans les cellules. Homocystéine peut être méthylé en méthionine par la méthionine synthase distribué de façon ubiquitaire (MS) et, également, dans le foie et le rein de certaines espèces, par bétaine: homocystéine méthyltransférase (BHMT). MS utilise le 5-méthyl-THF en tant que donneur de méthyle, tandis que BHMT emploie bétaine, qui est produite lors de l'oxydation de la choline ainsi que d'être fournie par l'alimentation (Stead ,2006). la combinaison de transméthylation et reméthylation comprennent le cycle de la méthionine, ce qui se produit dans la plupart, sinon la totalité, des cellules.

Ou bien être orientée vers une voie irréversible, la synthèse de cystéine par transsulfuration (Blouet, 2006). Lors de cette étape, qui se déroule principalement au niveau du foie et du pancréas, l'homocystéine est condensée avec une sérine par la cystathionine β -synthèse pour produire la cystathionine, qui est ensuite clivée par la cystathionine γ -lyase pour produire la cystéine (Brosnan, 2006 ; Mudd *et al.*,2007).qui est nécessaire à la synthèse de glutathione et la synthèse des proteine .

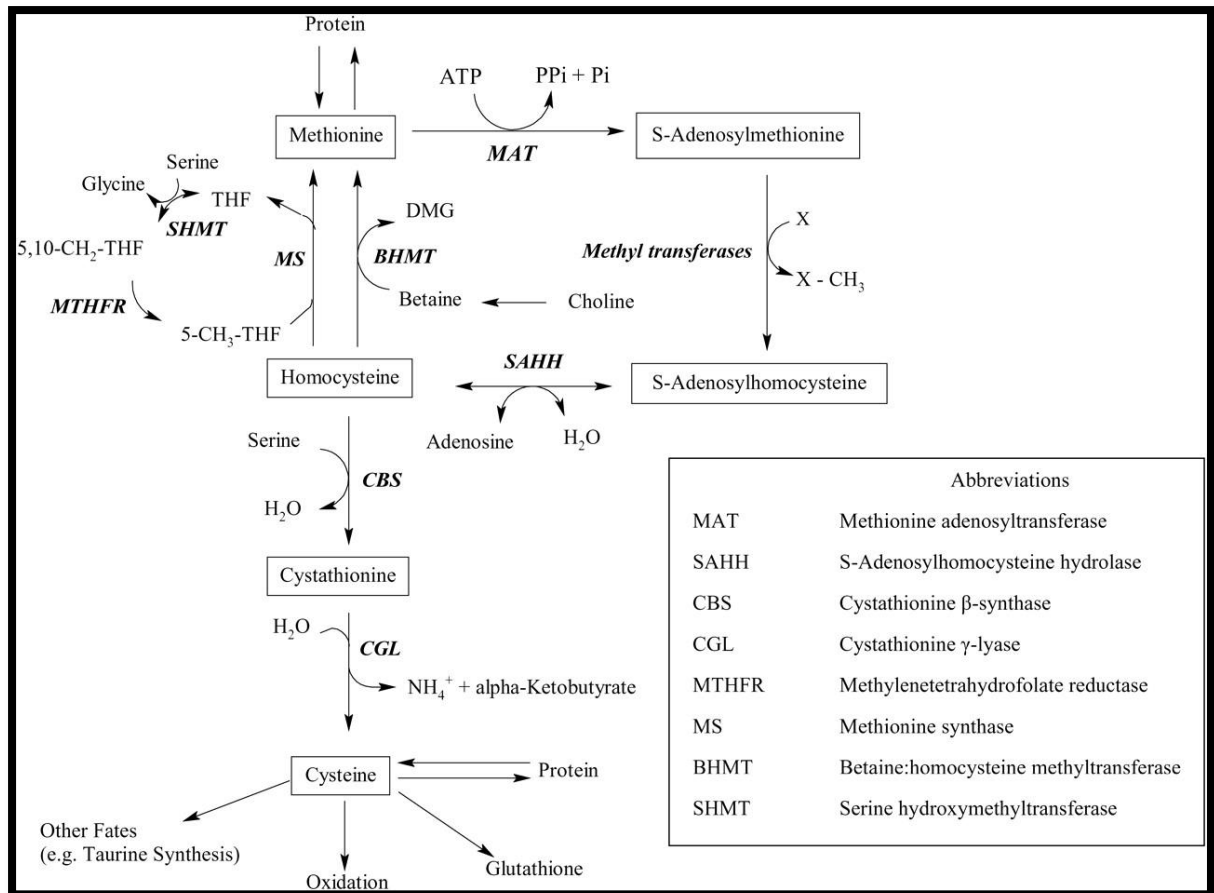


Figure 4 : Métabolisme des acides aminée soufrée (Jhon T *et al.*,2006).

6-Régulation du métabolisme de la méthionine

Les principaux moyens par lesquels le métabolisme de la méthionine est réglémenté sont la régulation allostérique par SAM et la régulation de l'expression des enzymes clés. Dans le foie, SAM exerce des effets puissants sur divers lieux. Le MAT spécifique du foie a un Km élevé pour la méthionine et, par conséquent, est bien équipée pour éliminer l'excès de méthionine alimentaire. Il présente la propriété inhabituelle de rétro activation; il est activé par son produit, SAM (Cabrerero C *et al.*,1987). SAM est aussi un activateur allostérique de CBS et un inhibiteur allostérique de MTHFR (Finkelstein *et al.*,2001). Par conséquent, une concentration élevée de SAM favorise la transsulfuration (oxydation de la méthionine) et inhibe reméthylation (conservation de la méthionine). La plupart des enzymes impliquées dans le catabolisme de méthionine (MAT 1, GNMT, CBS) augmentent l'activité suite de l'ingestion d'un régime riche en protéines (Finkelstein JD *et al.*,2001).

En plus de sa fonction dans le catabolisme de la méthionine, la voie de transsulfuration fournit également cystéine pour la synthèse du glutathion. La disponibilité de la cystéine est souvent un facteur limitatif pour la synthèse du glutathion, et il semble que dans un certain nombre de cellules (par exemple des hépatocytes), au moins la moitié de la cystéine requis est fourni par transsulfuration, même en présence de concentrations physiologiques de la cystéine (Mosharov E *et al.*, 2000). Transsulfuration est sensible à l'équilibre des pro-oxydants et les antioxydants; Les peroxydes augmentent le flux de transsulfuration, tandis que les antioxydants diminuent le (Vitvitsky V *et al.*, 2003).

7-Les dérivés de la méthionine

La méthionine est le précurseur de la S-adénosylméthionine ou SAM, un métabolite essentiel des réactions de transfert de méthyle dans la cellule. La SAM est une forme activée de la méthionine où le méthyle du thioéther devient un groupement partant utilisé pour méthyler l'ADN, l'ARN ou les protéines.

7-1-La S-adénosylméthionine (SAM)

Est un intermédiaire clé dans le métabolisme de la méthionine. Découvert en 1953 par Cantoni (Cantoni GL, 1953) comme la "méthionine active" nécessaire pour la méthylation de guanidino acetate à la créatine, il est maintenant évident que SAM est un coenzyme de polyvalence remarquable. En plus de son rôle en tant que donneur de méthyle, le SAM est une source de groupes méthylène (pour la synthèse d'acides cyclopropyle gras), des groupes amino (dans la synthèse de la biotine), amino isopropyl groupes (dans la synthèse des polyamines, et aussi, dans la synthèse de l'éthylène, utilisé par les plantes pour favoriser la maturation des plantes), et 5'-désoxyadénosyle radicaux. SAM sert également en tant que source d'atomes de soufre dans la synthèse de la biotine et l'acide lipoïque (Fontecave M *et al.*, 2004). Chez les mammifères, cependant, la grande majorité des SAM est utilisé dans les réactions de méthyltransférase. La clé de l'utilité de SAM comme donneur de méthyle se situe dans l'ion sulfonium et dans la nature électrophile des atomes de carbone adjacents à l'atome de soufre. L'essence de ces réactions méthyltransférase est que le sulfonium chargé positivement rend le groupe méthyle attendant d'électrons pauvres, ce qui

facilite son attaque sur accepteurs d'électrons riches (nucléophiles) (Fontecave M *et al* .,2004).).

8-Les fonctions de la méthionine

Méthionine et ses dérivés remplissent de nombreuses fonctions importantes dans le corps.

- ✓ **Source de soufre:** Méthionine est une source importante de soufre pour de nombreux composés, tels que l'acide aminée cystéine et taurine (Longe 2005). Le soufre est utilisé par le corps pour les cheveux de la santé, la croissance de la peau et des ongles, pour augmenter la production de foies, de la lécithine, de la réduction de la graisse du foie, de la protection des reins, de l'excrétion des métaux lourds, et la régulation de la formation d'ammoniac dans l'urine (Longe 2005) ;
- ✓ **S-adenosyl-L-méthionine (SAM) réactions:** SAM, un dérivé de la méthionine, est impliqué dans la synthèse de l'adrénaline, la choline, et d'autres substances, et est un donneur de méthyle importante ;
- ✓ **Lipotrope:** Méthionine est un lipotrope, contribuant ainsi à prévenir l'accumulation de lipides dans le foie et d'aider généralement la détoxification des déchets métaboliques et des toxines (Longe, 2005) ;
- ✓ **traitement surdose d'acétaminophène:** méthionine est utilisée dans le traitement de l'empoisonnement à l'acétaminophène pour prévenir les dommages du foie (Longe, 2005) ;
- ✓ **Traitement de l'arthrite:** SAM est utilisé pour fournir le soulagement de l'arthrite et est dit d'avoir moins d'effets secondaires que les médicaments anti-inflammatoires communs comme l'ibuprofène et l'aspirine (Longe, 2005) ;
- ✓ **Dépression:** SAM est prescrit plus que tout d'antidépresseur et est considéré comme efficace, action rapide, et avec moins d'effets secondaires, et peut stimuler l'activité des substances chimiques du cerveau clés impliqués dans l'humeur, comme la noradrénaline, la dopamine et la sérotonine (Longe, 2005) ;.
- ✓ **La fonction hépatique:** Les niveaux Méthionine sont utilisés dans ladétermination de la concentration de composés contenant du soufre et de SAM est utilisé dans l'amélioration et la normalisation de la fonction

hépatique. Il est utilisé dans le traitement de la cirrhose et de dommages à l'alcool et est essentielle à la production de glutathion (Longe, 2005). Il inactive également des oestrogènes pour empêcher le flux de bile supprimé chez les femmes enceintes ou celles sur les contraceptifs oraux (Longe, 2005) ;

- ✓ **Troubles neurologiques:** SAM est considérée pour améliorer la liaison de neurotransmetteurs vers des sites récepteurs dans le cerveau et la régénération des axones des neurones suite à une blessure ;

La méthionine joue également un rôle dans la synthèse de la phosphatidylcholine et d'autres phospholipides. La conversion incorrecte de la méthionine peut conduire à l'athérosclérose.

Discussion :

Dans nos conditions expérimentales, l'administration intra-péritonéale du sulfate de nickel, pendant 21 jours chez le rat *Wister* mâles a provoqué une diminution significative du poids corporel par rapport aux rats témoins. Ceci est en accord avec les constatations de (Dostal et al.,1989 ;Cempel et Janicka,2002). 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, cette baisse de gain de poids corporel est moins important chez les le lot traité à la combinaison Ni/VitE et Ni/Met par rapport au lot de témoin. Une action protectrice semblable des acides aminés soufrés à améliorer le poids corporel des animaux dans une autre étude de Cheesman et Slater,1993, Goon Kim *et al*.,2003 et de salman et al.,2013 concernent l'effet de Vit E contre l'inflammation et stress oxydatif.

Nos résultats révèlent une augmentation du glucose sérique chez les rats traités au sulfate de nickel par rapport aux témoins. 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).

La diminution des taux sériques en glucose vers le niveau de contrôle peut être due à la capacité 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 a fin d'améliorer l'absorption du glucose (Bierenbaum *et al*,1985 ; Moorthi *et al*, 2006).

Chez le lot traité à la combinaison on observe une diminution de taux du glucose sérique par rapport au lot témoins. Ceci est du à la diminution de gluconéogenèse (synthèse glucose à partir des composés non glucidiques),par inhibition de l'enzyme impliqué dans ce processus qui est le phosphoénol pyruvate (Saker et al.,1999).

D'autre part, on observe une diminution de glucose sérique chez les rats traité par la seule, la vitamine E seulet à la combinaison Ni/Vit E et Ni/Met grâce à la capacité 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 a fin 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.

Les résultats obtenus révèlent une augmentation de la concentration sérique des triglycérides et de cholestérol 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,) (Das *et al*, 2006 Hfaiedh *et al*, 2008. 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. Ces résultats peuvent être expliqué aussi par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus lipidiques pour assurer 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 Nickel associé au Vitamine E ou Vit E seul 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).

Chez les rats traités au nickel associé à la méthionine on note une diminution du cholestérol. Ceci en accord avec les travaux de N.Jacob *et al* (1999). Agent lipotrope, elle prévient l'accumulation de graisses dans celui-ci et en facilite l'élimination. (Mato *et al*.,2008).

Notre étude sur la fonction rénale résulte une augmentation des taux sériques en l'urée, en créatinine et en acide urique chez les rats traités par le nickel par rapport au lot témoin, qui est considérée comme un biomarqueur de la 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). Ce qui témoigne de l'installation d'une insuffisance rénale transitoire, avec baisse de la filtration glomérulaire. Sur le plan clinique, la néphropathie tubulo-interstitielle chronique est diagnostiquée par l'augmentation de l'urée et/ou de la créatinine sanguines (Couréges *et al*., 1998)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. En accord avec nos résultats, El Feki (1984), Stengel (1996),Jegou (1996). et Smaoui *et al* (2000)

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 al*, 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.

L'administration 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 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 réduit la production des radicaux libres (Al-Attar, 2011).

Dans une autre étude, l'administration orale de la méthionine après l'exposition au nickel (Patra et al., 2001). Proposé que la méthionine joue un rôle important dans le mécanisme de défense antioxydant par sa réaction avec de l'oxydant pour former la méthionine sulfoxyde (Livine et al., 1999). En outre, il agit comme précurseur pour la synthèse du glutathion par des cellules de foie (Meister, 1981). Ce résultat est en accord avec les travaux de (D.Nandi et al., 2005) qui montre un nombre moins d'altération de l'architecture rénale après un traitement par Met et Cys et aussi de l'ascorbic et thiamine contre l'arsenic.

Pour l'activité enzymatique, les deux enzymes TGO, TGP sont spécifiques et ont été considérées comme indicateurs de viabilité cellulaire et de perméabilité de membrane cellulaire (Dasgupta et al., 1996 ; Ahmed et al., 1999)

nos résultats ont montré une augmentation plus élevée de l'activité des transaminases (GOT et GPT) dans le sérum des rats traités au nickel. Probablement en raison des dommages membranaires sur les hépatocytes, entraînant une augmentation de la libération et la fuite de ces enzymes du cytosol du foie dans le sang qui donne une indication sur l'effet hépatotoxique de ce métal (Navarro et al., 1993 ; Pari et Prasath, 2008 ; Gama et Eatmad., 2011). Ces résultats sont en accord avec Chen CY et al., 1998, Novelli., 1998, Tekeli et al., 2004. Les perturbations biochimiques

Chez les rats traités au Ni associés à la méthionine, la concentration de TGO et TGP est proche des témoins. Les résultats sont en accord avec les travaux (Livine et al., 1999) qui indiquent clairement que les résidus de Met ont été suggérés pour nettoyer les ROS et servir ainsi d'antioxydant important.

D'autre part, la vitamine est bien connue par sa capacité d'inhiber le processus oxydatif des lipides et des lipoprotéines au niveau des membranes cellulaires, ce qui assure la stabilisation 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 ; Soudani *et al*, 2011).

Altération des paramètres hématologiques induite par le nickel ont été signalés plus tôt (ATSDR 2003). On a observé une diminution des globules rouges, des globules blancs et du taux d'hémoglobine, des rats traités au nickel par rapport aux témoins, nos résultats sont

confirmés par le travail de Kusal et al 2006 qui ont étudié l'effet protectrice de l'acide L-ascorbique dans le système de défense antioxydant dans les érythrocytes des rats exposés au nickel. On a enregistré aussi une augmentation de taux de l'hématocrite chez les rats traités au Ni par rapport aux témoins, même résultats trouvés dans l'étude de Jerry et al., 2008 et aussi même résultat dans l'étude des Adjour, et Mouffok, 2000.

Les composés du nickel, sont susceptibles d'exposer à des activités de surface différentielles qui résultent en capacité tout à fait différente d'induire l'hémolyse des érythrocytes humains (IARC, 1984 ; Stohs et Bagchi, 1995). Les globules rouges (RBC) ont été étudiés, il a été montré que les composés de nickel influent sur la bicouche lipidique de la membrane des érythrocytes, ainsi que les protéines de la membrane à des degrés divers en fonction du type de composés utilisés (Tkeshelashvili et al, 1989; Vest et al, 2004). Selon d'autres études la toxicité du Ni a une action négative sur l'érythropoïèse puisqu'elle entraîne une diminution de la production d'hématie ce qui déclenche des anémies sévères. Signalons aussi une diminution importante de taux de l'hémoglobine chez les rats traités au nickel par rapport aux témoins. Ceci peut être expliquée par le fait que ce métal Ni inhibe la synthèse de l'hémoglobine (Leach., 1985).

Par contre, le traitement par la vitamine E a amélioré la concentration sérique des globules rouges, d'hémoglobine et des hématocrites. Les données obtenues suggèrent que la supplémentation en vitamines E touche différents marqueurs sérologiques dans le sérum des rats traités 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

En revanche une augmentation bien claire des Hb chez les rats traités au nickel associée ou méthionine plus élevée que celle de groupe témoin, ce résultat est en accord avec les résultats des Emrah et al., 2007 contre la toxicité de nickel.

1. Variation d gain du poids corporel :

Tableau .II. Variation de gain du poids corporel chez le lot témoin (T) et les différents lots traités au Ni , Vit E et Met et à la combinaison Ni/Vit E et Ni/Met .

Paramètres	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Met	Ni	Ni+vit E	Ni+ Met
Poids corporel initial (g)	87,2	95,2	143,2	149,8	143,4	143,6
Poids corporel final (g)	135	157,2	190,8	160	172	171,4
gain du poids corporel	30,5±7,79	62±11,63	38,6±10,7	10,2±9,03	28,6±6,19	27,8±14,3

^a: Différence par rapport au témoin

^b: Différence par rapport au groupe Ni

^{a1 b1} : Différence significative (p<0,05).

^{a2 b2}: Différence hautement significative (p<0,01)

^{a3 b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)

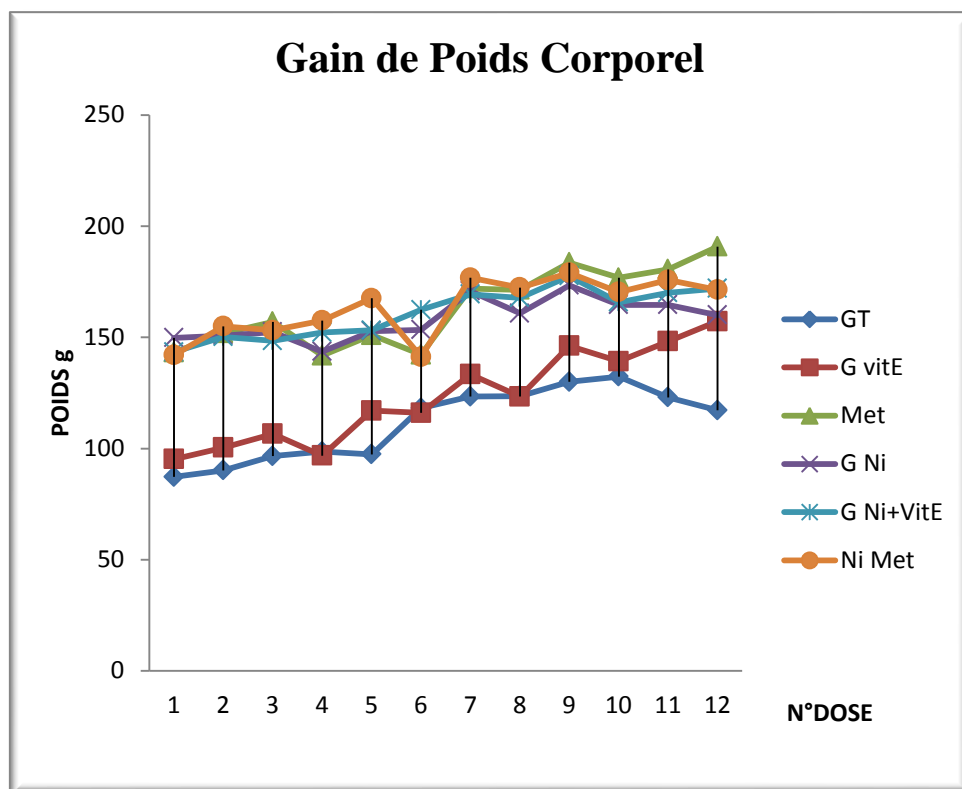


Fig6:Evaluation en fonction du temps (jours), gain du poids corporel (g) chez le lot témoin et les lots traités au nickel ,vitE,Met et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E .

Nos résultats montrent des changements dans le gain des poids corporel des animaux soumis à différents traitements (Tab:2, Fig:5). On note une diminution non significative du gain du poids corporel chez les rats traités au nickel et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit .de plus le gain de poids corporel augmente chez le lot traité à la combinaison Ni/Met ou Ni/ Vit E par rapport au groupe traité au nickel.

1. Etude biochimique :

Tableau .III. Variation de gain du poids corporel chez le lot témoin (T) et les différents lots traités au Ni, Vit E, Met et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E .

Paramètre	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Met	Ni	Ni+vit E	Ni+ Met
Glucose (mg/dl)	1,07±0,04	0,92±0,06	0,82±0,08	1,79±0,07 ^{2a}	0,97±0,07	1,2±0,07 ^b
Triglycéride(mg/dl)	0,49±0,04	0,58±0,07	0,64±0,07	0,73±0,33 ^{2a}	0,52±0,08	0,57±0,07
Cholestérol(mg/dl)	0,78±0,06	0,79±0,07	0,74±0,05	0,93±0,14	0,67±0,04	0,59±0,052 ^{2b}

^a: Différence par rapport au témoin

^b: Différence par rapport au groupe Ni^{a1}

^{b1} : Différence significative (p<0,05).^{a2}

^{b2}: Différence hautement significative (p<0,01)

^{3b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)

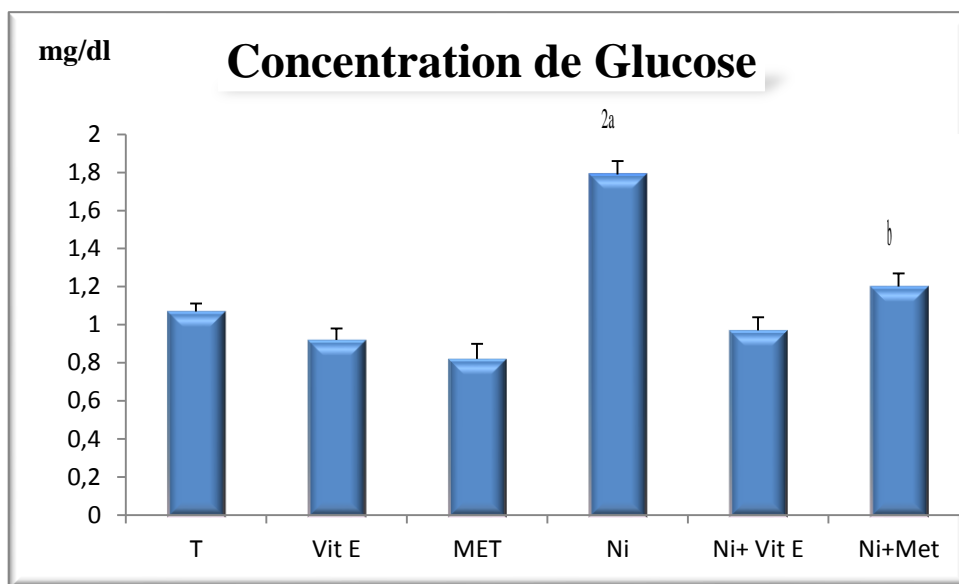
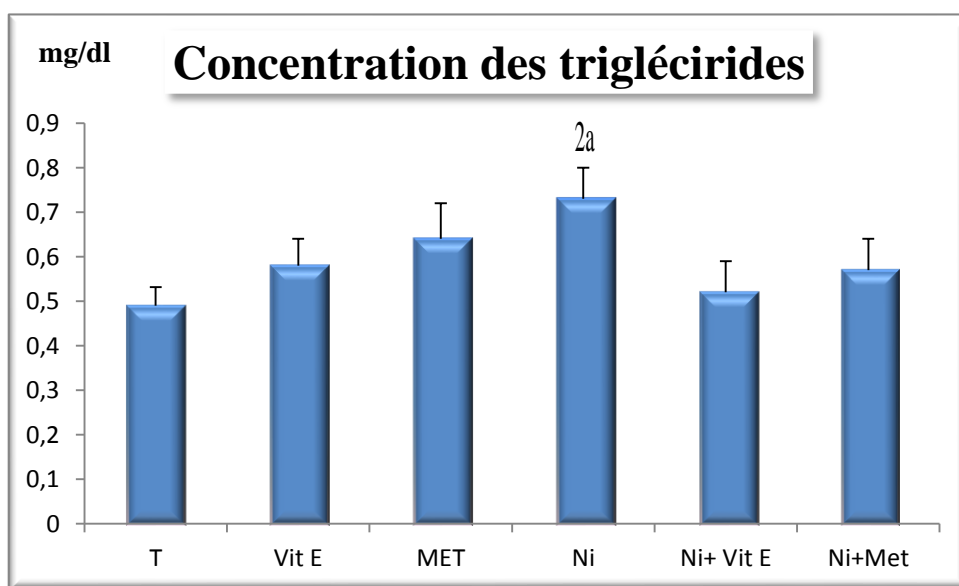


Fig7: Variation de la concentration sérique de glucose chez le lot de témoin et les lots traités au nickel la méthionine, vit E, et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E



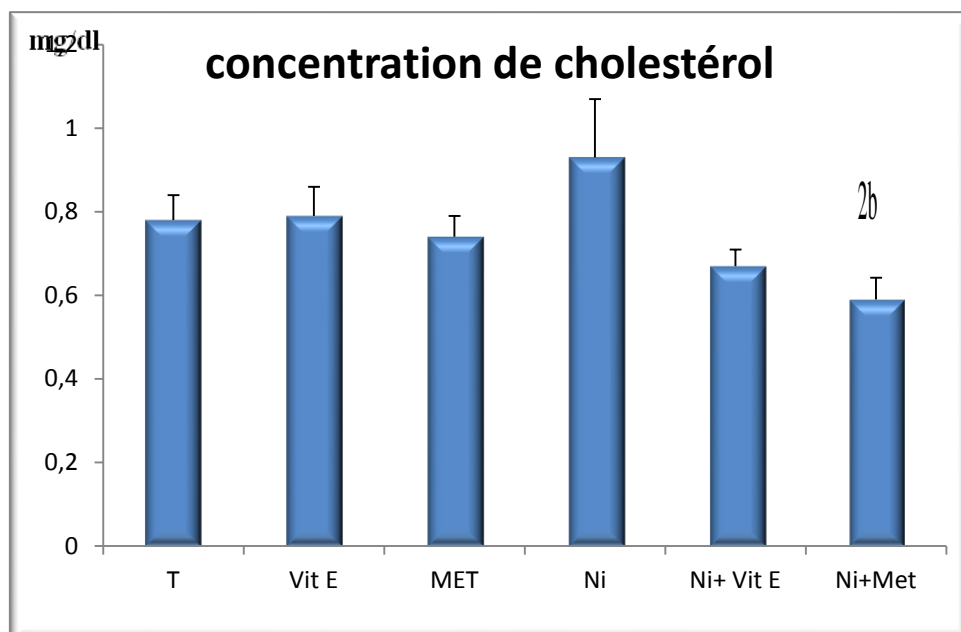


Fig8: Variation de la concentration sérique de triglycéride, cholestérol chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, méthionine , VitEet à la combinaison Ni/Met et Ni/VitE.

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une augmentation hautement significative de la concentration sérique de glucose triglycérides chez les lots traités au nickel par rapport au groupe témoin. Aucune signification obtenue chez les restes des groupes traités par méthionine, vitamine E et les groupes traités à la combinaison Ni/Met et Ni/VitE.

Cependant nous enregistrons une augmentation hautement significative de cholestérol, chez les rats traités au Met associé au nickel par rapport au groupe de Ni, mais elle est non significative chez le groupe de Nickel par rapport au groupe témoin.

Tableau IV : Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et l'acide urique chez le lot de témoin et les lots traités au nickel , Met, Vit E et a la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E.

Paramètre	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Met	Ni	Ni+vit E	Ni+ Met
L'urée (mg/dl)	0,31±0,04	0,29±0,06	0,3±0,02	0,39±0,17	0,32±0,04	0,34±0,04
Créatine(mg/dl)	3,66±0,4	4,2±0,65	4,2±0,3	6,18±0,2 ^{2a}	5,01±0,5 ^a	5,97±0,15
l'acide urique (mg/l)	2,67±0,4	2,82±0,31	2,79±0,29	3,9±0,5	2,57±0,3	2,89±0,36

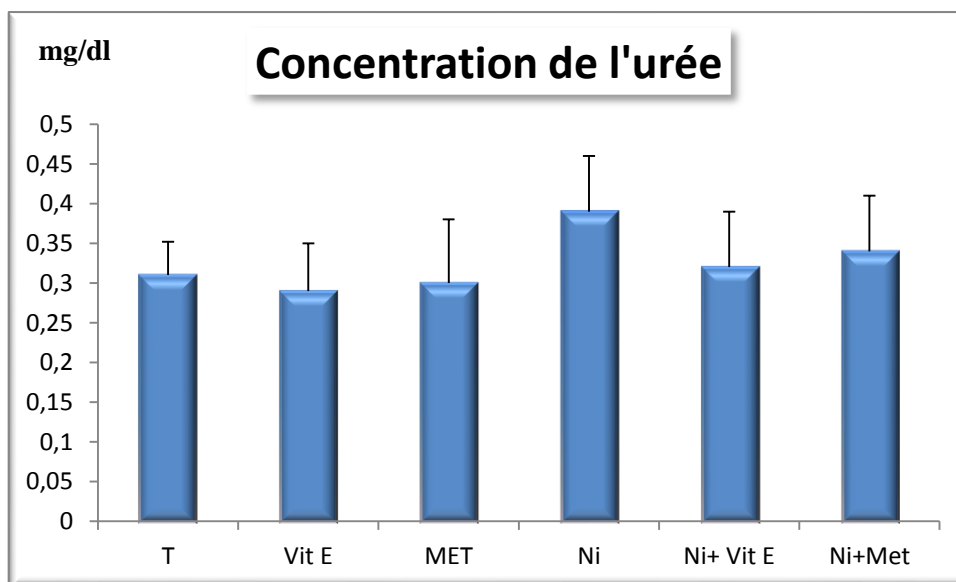
^a: Différence par rapport au témoin

^b: Différence par rapport au nickel

^{a1, b1} : Différence significative (p<0,05).

^{a2, b2} : Différence hautement significative (p<0,01)

^{a3, b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)



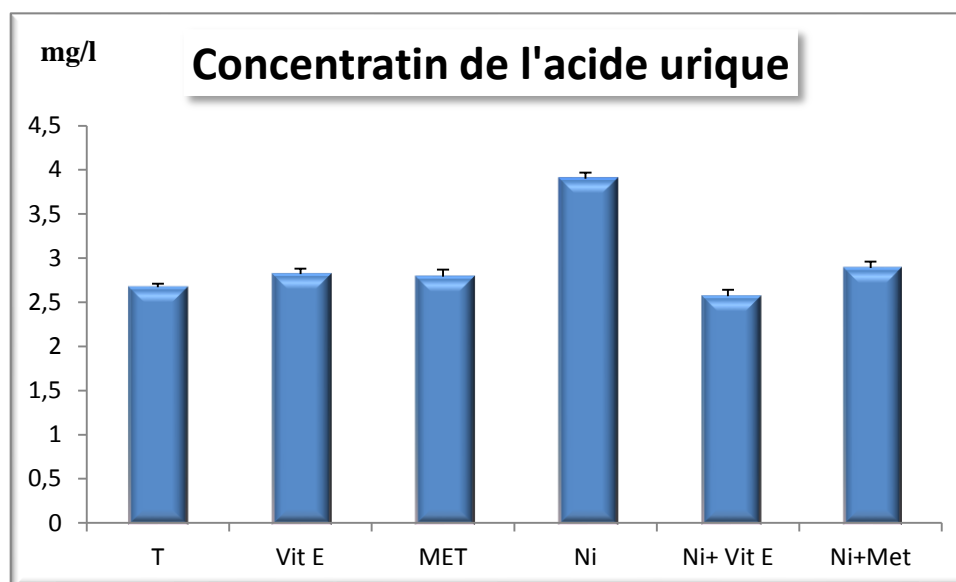
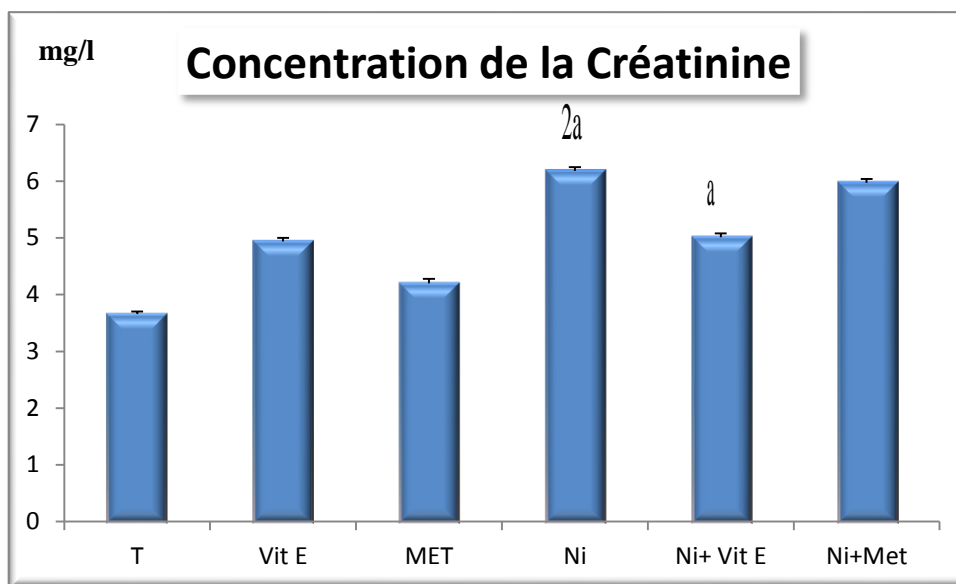


Fig 9: Variation de la concentration sérique de l'urée et créatinine chez le lot de témoin et les lots traités au nickel ,vitE,Met et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E

Nos résultats montrent une augmentation non significative de la concentration de l'urée et l'acide urique chez les groupes traités au nickel, méthionine, vitamine E et les traités a la combinaison Ni/Met, Ni/Vit E par rapport au groupe témoin.

L'analyse de créatinine fait apparaitre une augmentation hautement significative chez le groupe traité au nickel, significative chez le groupe traité au nickel associe à lavitamine E par rapport au groupe témoin. On note aucun signification chez les reste

groupes traités par méthionine, vitamine E et les groupes traités à la combinaison Ni/Met par rapport au groupe témoin.

Tableau V: Variation de la concentration sérique de l'activité enzymatique de l'aspartat aminotransférase (AST/TGO), l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) chez le lot de témoin et les lots traités par Met, Vit E, Ni/Met et Ni/Vit E

Paramètre	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Met	Ni	Ni+vit E	Ni+ Met
AST/TGO	142,3±12,5	130,4±14,5 ^{2b}	159,5±15,7 ^{2b}	223,44±12,3 ^{2a}	132,9±8,4 ^{2b}	149,66±7,3 ^{2b}
ALT/TGP	62,6±4,11	64,94±6,5	57,64±5,5 ^{2b}	87,25±5,73 ^a	69,25±4,7 ^b	78,2±3,78 ^a

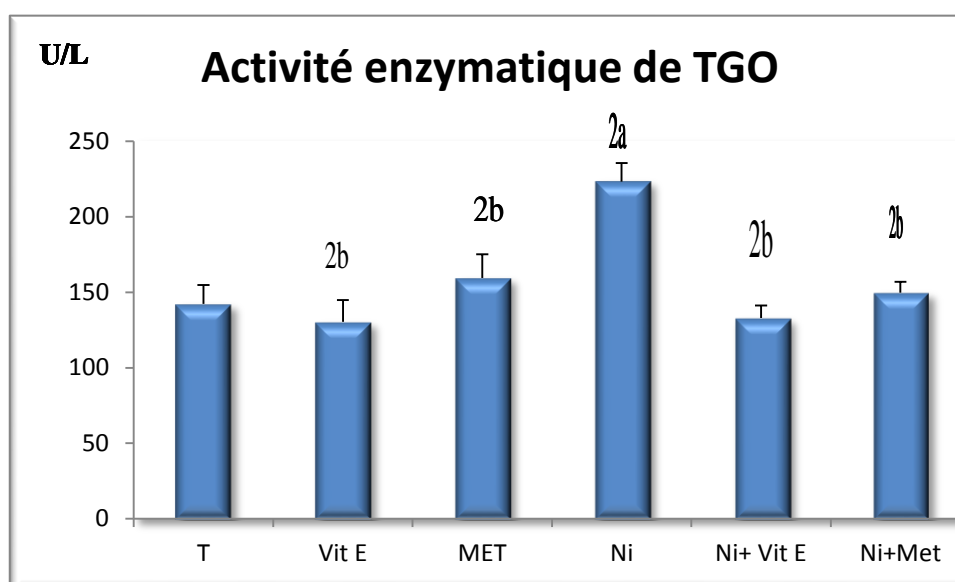
^a: Différence par rapport au témoin

^b: Différence par rapport au nickel

^{a1, b1} : Différence significative (p<0,05).

^{a2, b2} : Différence hautement significative (p<0,01)

^{a3, b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)



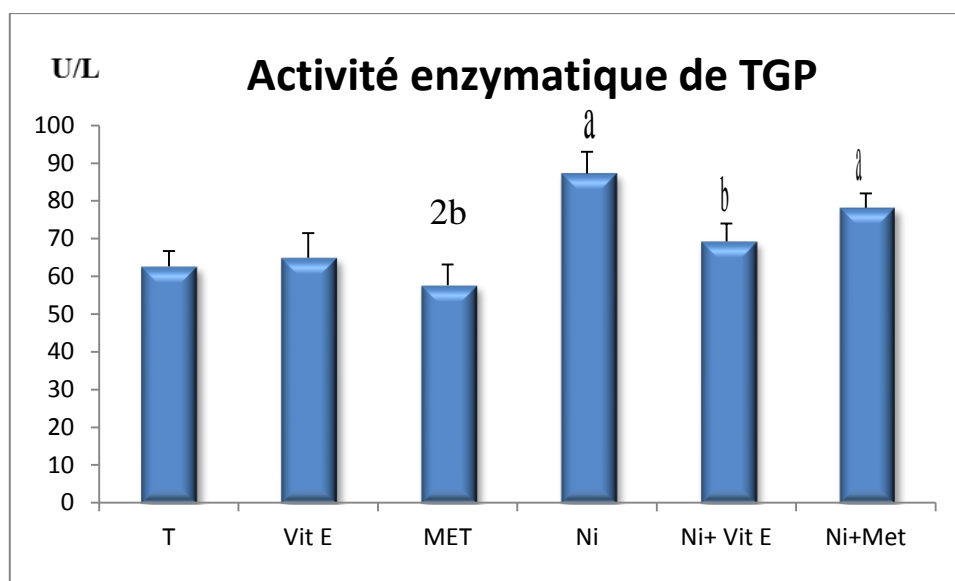


Fig10: Variation de la concentration sérique d’aspartate aminotransférase(AST/TGO), d’alanine aminotransférase(ALT/TGP), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Met , Vit E et à la combinaison Ni/Met et Ni/Vit E.

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative de l’activité enzymatiques de L’aspartateaminotransférase (AST/TGO) chez le groupe traité au nickel par rapport au groupe témoin.Aucune signification obtenue chez les restes des groupes traités par méthionine, vitamine E et les groupes traités à la combinaison Ni/Met et Ni/VitE par rapport au groupe témoin.

Cependant nous enregistrons une augmentation hautement significative de l’activité enzymatiques de TGOchez les groupes traités au Met, Vit E ,et les groupes traité à la combinaison Ni/Met , Ni/Vit E par apport au groupe de Ni , mais elle est non significative chez le groupe de Nickel par apport au groupe témoin.

L’activité enzymatique de d’alanine aminotrasférase (ALT/TGP) montre une augmentation significative chez les groupes traités au Ni et Ni/Met par rapport au groupe témoin .mais aucun signification chez les reste groupes traités par Met, Vit E, Ni/Vit E par rapport au groupe témoin .

Cependant nous enregistrons une augmentation hautement significativeetsignificative de l’activité enzymatiques de TGPchez les groupes traités auMet etNi/Vit Epar rapport au

groupede Nickel.mais elle est non significative chez le groupe de Nickel par apport au groupe témoin.

2. Etude hématologique :

Tableau VI : Variation du nombre des globules blancs (n GB) , des globules rouge (n GR), du tauxmoyend'hémoglobine(HB), du pourcentage d'hématocrite (HT) , chez le lot de témoin et les lots traités par Met,Vit E ,Ni , Ni+vit E et Ni+ Met

Paramètre	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Met	Ni	Ni+vit E	Ni+ Met
nGR(10^6mm^{-3})	8,59±0,7	7,9±1,01	8,95±2,1	6,57±1,9 ^a	8,41±1	6,88±1,62
nGB(10^3mm^{-3})	8,36±0,7	8,9±1,6 ^b	7,8±1,18 ^b	5,8±1,6 ^a	7,41±1,2	8,63±1,03
Hb	19,9±0,7	14±0,8	19,71±2,9	12,3±2,03 ^a	16,37±2,9	13,93±2,5
Ht	34,4±3,15	28,6±4,07 ^{2b}	35,8±3,9	49,1±4,3	39,4±5,6	44,7±4,8
VGM	48,4±1,2	48,8±0,96	61,7±0,92	61,7±0,92 ^a	60,7±0,98	59,3±0,93

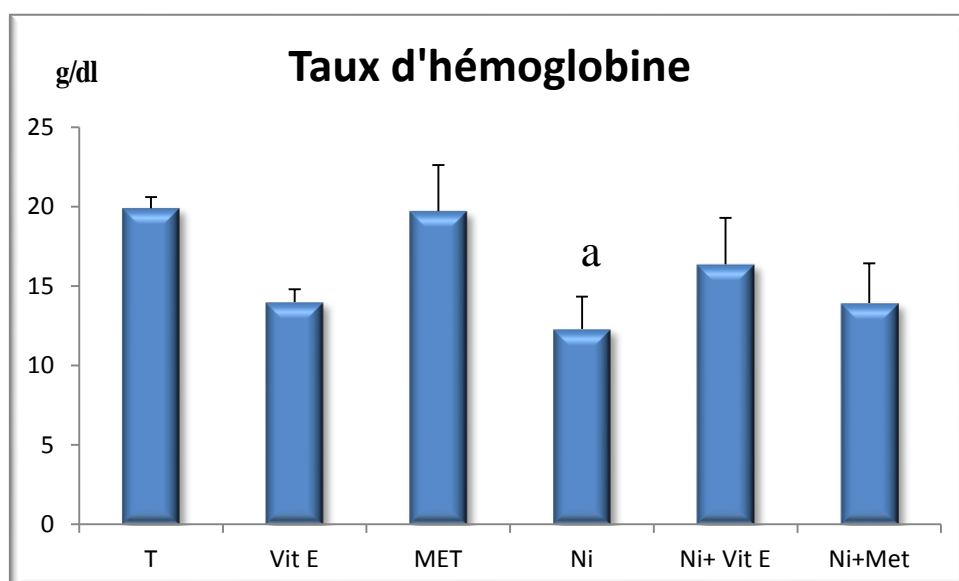
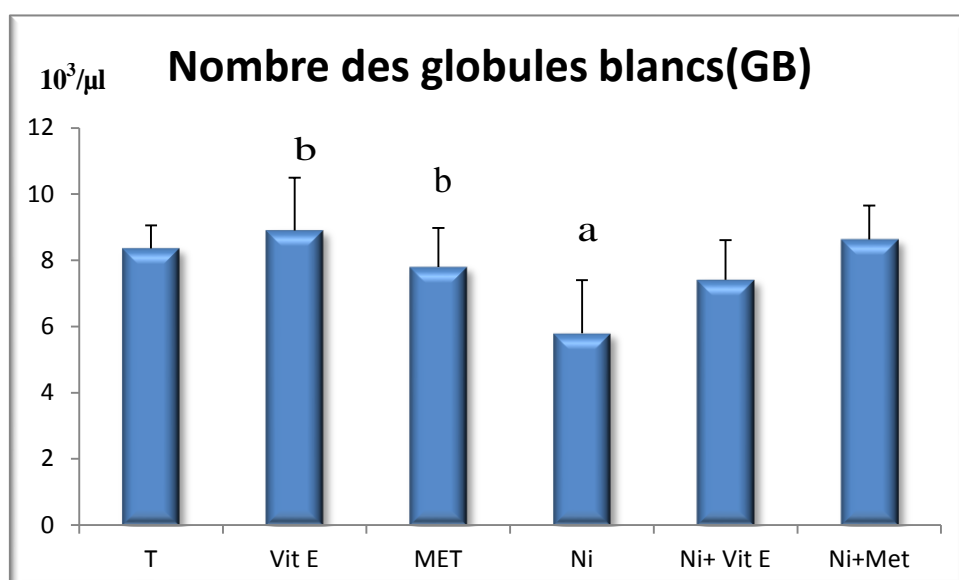
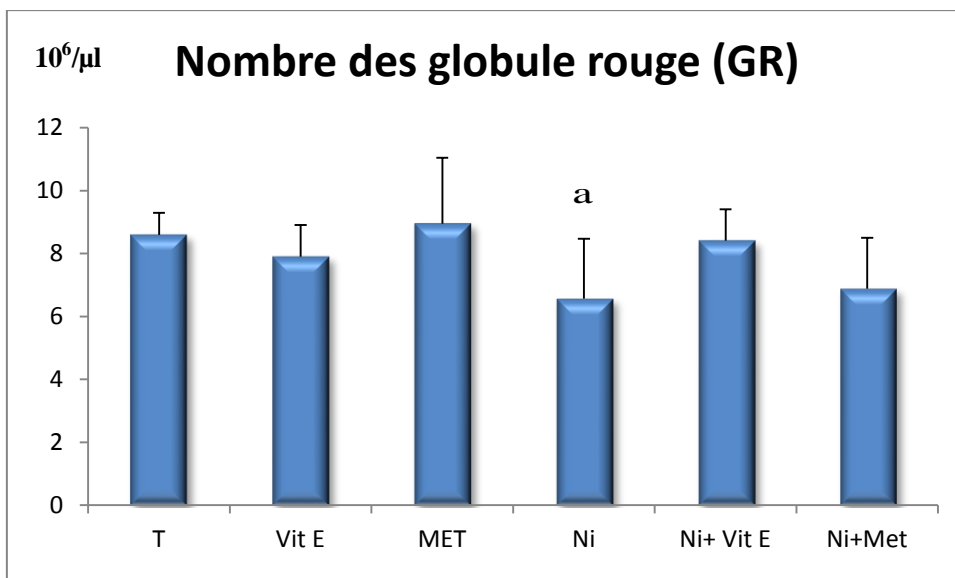
^a: Différence par rapport au témoin

^b: Différence par apport au nickel

^{a1, b1} : Différence significative ($p < 0,05$).

^{a2, b2} : Différence hautement significative ($p < 0,01$)^a

^{3, b3} : Différence très hautement significative ($p < 0,001$)



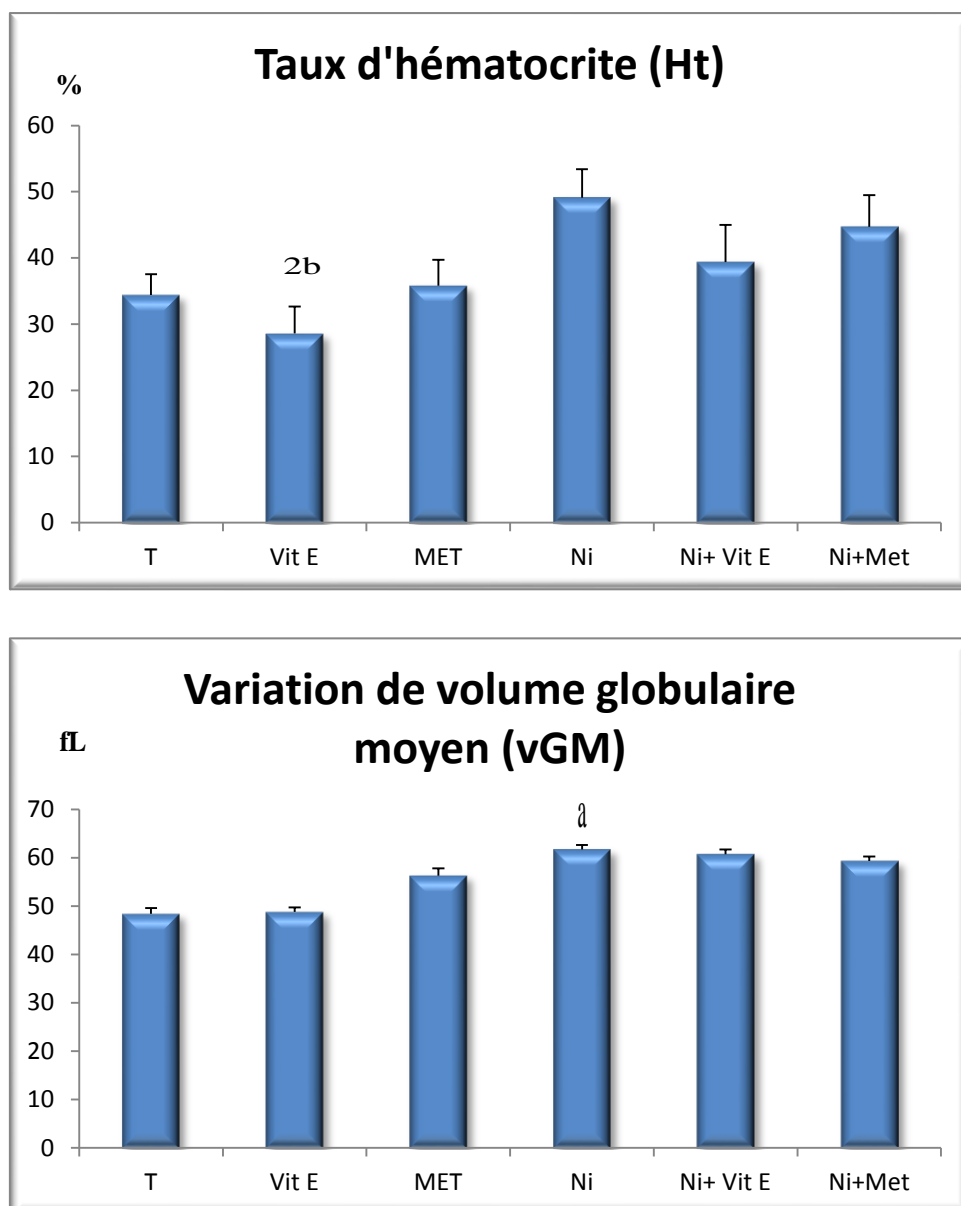


Fig11: Variation du nombre des globules rouge (n GR), des globules blancs (n GB), du taux moyen d'hémoglobine(HB), du pourcentage d'hématocrite (HT), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, méthionine, vitamine E et à la combinaison Ni/Met , Ni/Vit E.

L'analyse du taux des globules rouges révèle l'existence d'une légère diminution significative chez les rats traités au nickel, et non significative à la combinaison Ni/ Met en comparaison avec le lot témoin. On note aussi une augmentation statistiquement significative chez le lot les lots traités au Met associé au nickel par apport au lot traité au nickel seul.

En ce qui concerne les globules blancs, nous constatons une diminution significative chez les lots traités au nickel par rapport au groupe témoin .On note une augmentation statistiquement significativechez le lot les lots traités au Met et Vit E par rapport au lot traité au nickel seul.

L'analyse du taux des Hbrèvele l'existence d'une diminution chez les rats traités au nickel par rapport au lot témoin.

Nos résultat montre une diminution hautement significative de taux de Ht chez les rats traité au Vit E par rapport au groupe traité au nickel.

L'analyse de variation de volume moyen globulaire montre augmentation significative chez les rats traités au nickel par rapport au lot témoin.

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'administration de sulfate de nickel chez les rats, a engendré :
 - Des perturbations au niveau de la croissance générale des rats : Diminution du poids corporel durant la période de traitement.
 - Des perturbations 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,
 - Des perturbations au niveau de certains paramètres métaboliques biomarqueurs de l'activité hépatique : Augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT),
 - Une perturbation des paramètres plasmatiques de la néphrotoxicité (urée et créatinine)
 - 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.
- La supplémentation en méthionine ou vitamine E chez des rats traités au nickel, a provoqué :
 - Une amélioration au niveau de la croissance générale des rats
 - Une correction des taux plasmatiques en glucose, , en triglycérides et en cholestérol total ;
 - Une correction des taux plasmatiques en créatinine et en urée ;
 - Une réduction de l'activité des biomarqueurs de la cytolyse et de l'état inflammatoire (ASAT et ALAT)
 - il semble que la cystéine et la vitamine E protège l'érythropoïèse contre les effets cytotoxiques de nickel.

Ainsi, des supplémentations en méthionine ou en vitamine E permettent de limiter les perturbations provoquées par le nickel. Ces supplémentations semblent avoir des effets bénéfiques, par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydantes, ceci est expliqué par leur pouvoir antioxydant qui conduit donc à contracter l'état du stress oxydant.

En perspectives

Il s'avère intéressant d'approfondir ces conclusions par :

- ✓ L'exploration de l'effet du nickel sur les paramètres de stress oxydatif ;
- ✓ Déterminer la concentration en nickel au niveau des organes cibles notamment dans les organes de détoxification ;
- ✓ Etudier l'histologie des organes.
- ✓ Etudier les mécanismes cellulaire et moléculaire des effets protecteurs de cys et de la vitamine E contre la cytotoxicité induite par le nickel ;
- ✓ L'exploration des métallothionéines ainsi que les protéines stress : les heatshock proteins (HSP) ;
- ✓ Etudier enfin, l'effet protecteur des antioxydants naturels contre la toxicité induite par le nickel chez le rat ou d'autres modèles expérimentaux.

Résumé

Le nickel est un métal toxique impliqué dans plusieurs maladies liées au stress oxydant. Cette étude a été axée sur l'examen de l'effet toxique du nickel et d'examiner l'effet protecteur de la méthionine et de la vitamine E contre la toxicité nickel chez les rats blancs mâles de la souche Wister .

Nous avons utilisé 36 rats repartis en 6 groupes de 6 rats chacun dont 3 lots traité par le sulfate du nickel à raison de 20 mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale. La méthionine et vitamine E est administré par voie orale à la concentration 100/kg du poids corporel. Après trois semaines de traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.

A partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution du gain du poids corporel chez les rats traités au nickel avec une perturbation très claire des paramètres biochimiques et hématologiques.

Nous avons constaté une augmentation du glucose, avec une augmentation de la concentration sérique du bilan lipidique(cholestérol, triglycérides).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 hématotoxique (diminution du taux des globules rouges, du concentration d'hémoglobine et le pourcentage de l'hématocrite).

Par ailleurs, le traitement par la méthionine et la vitamine E entraînent une amélioration de l'ensemble des paramètres biochimiques et hématologique étudiés.

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

Mots clés : Nickel, stress oxydant, Méthionine, Vitamine E, hépatotoxicité.

Année université :2015/2016	GHELLOUDJ Hanane CHEKRAOUI Abla
Master Biochimie appliquée	
Contribution a l'étude des effets de alpha tocophérol et méthionine sur la toxicité d'un métaux lourd chez des rats de la souche WISTER aspect biochimique, hématologique	
<p>Résumé</p> <p>Le nickel est un métal toxique impliqué dans plusieurs maladies liées au stress oxydant. Cette étude a été axée sur l'examen de l'effet toxique du nickel et d'examiner l'effet protecteur de la méthionine et de la vitamine E contre la toxicité nickel chez les rats blancs mâles de la souche Wister.</p> <p>Nous avons utilisé 36 rats repartis en 6 groupes de 6 rats chacun dont 3 lots traité par le sulfate du nickel à raison de 20 mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale. La méthionine et vitamine E est administré par voie orale à la concentration 100/kg du poids corporel. Après trois semaines de traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.</p> <p>A partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution du gain du poids corporel chez les rats traités au nickel avec une perturbation très claire des paramètres biochimiques et hématologiques.</p> <p>Nous avons constaté une augmentation du glucose, avec une augmentation de la concentration sérique du bilan lipidique(cholestérol, triglycérides).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 hématotoxique (diminution du taux des globules rouges, du concentration d'hémoglobine et le pourcentage de l'hématocrite).</p> <p>Par ailleurs, le traitement par la méthionine et la vitamine E entraînent une amélioration de l'ensemble des paramètres biochimiques et hématologique étudiés.</p> <p>En conclusion, la méthionine et la vitamine E sont des antioxydants puissants grâce à leurs effets protecteurs .ils sont capables de piéger et de neutraliser la plupart des radicaux libres et leurs effets toxiques, et par conséquence, l'atténuation de l'effet toxique du nickel.</p>	
Mets clés : Nickel, stress oxydant, Méthionine, Vitamine E, hépatotoxicité	
Le travail à été réalisé au laboratoire de ALRMILA et AL BALSEM AL CHAFI –KHENCHELA	

Année universitaire : 2015/2016	Présenté par : GHELLOUDJ Hanane CHEKRAOUI Abla
Master de Biochimie appliquée	
Contribution a l'étude des effets de alpha tocophérol et méthionine sur la toxicité d'un métaux lourd chez des rats de la souche WISTER aspect biochimique, hématologique	
Résumé	
<p>Le nickel est un métal toxique impliqué dans plusieurs maladies liées au stress oxydant. Cette étude a été axée sur l'examen de l'effet toxique du nickel et d'examiner l'effet protecteur de la méthionine et de la vitamine E contre la toxicité nickel chez les rats blancs mâles de la souche Wister.</p> <p>Nous avons utilisé 36 rats repartis en 6 groupes de 6 rats chacun dont 3 lots traité par le sulfate du nickel à raison de 20 mg/kg de poids corporel par injection intrapéritonéale. La méthionine et vitamine E est administré par voie orale à la concentration 100/kg du poids corporel. Après trois semaines de traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.</p> <p>A partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution du gain du poids corporel chez les rats traités au nickel avec une perturbation très claire des paramètres biochimiques et hématologiques.</p> <p>Nous avons constaté une augmentation du glucose, avec une augmentation de la concentration sérique du bilan lipidique(cholestérol, triglycérides).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 hématotoxique (diminution du taux des globules rouges, du concentration d'hémoglobine et le pourcentage de l'hématocrite).</p> <p>Par ailleurs, le traitement par la méthionine et la vitamine E entraînent une amélioration de l'ensemble des paramètres biochimiques et hématologique étudiés.</p> <p>En conclusion, la méthionine et la vitamine E sont des antioxydants puissants grâce à leurs effets protecteurs .ils sont capables de piéger et de neutraliser la plupart des radicaux libres et leurs effets toxiques, et par conséquence, l'atténuation de l'effet toxique du nickel.</p>	
Mets clés : Nickel, stress oxydant, Méthionine, Vitamine E, hépatotoxicité	
<p>Le travail à été réalisé au laboratoire de ELRMILA et EL BALSEM EL CHAFI -KHENCHELA-</p> <p>Animalerie de L'institut de science de la nature et de la vie.</p>	

