



Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Référence / 2018

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :

SEGHIR MAROUA et BOUDOUKHA CHAIMA

Le : [Click here to enter a date.](#)

Impact du mercure sur la fonction hépatique

Jury :

| | | | | |
|-----|---------------|-----|-------------------------------------|-----------|
| Dr. | Gaouaui Randa | MCB | Université Mohamed Khider Biskra | Président |
| Dr. | Otmani Iness | MAB | Université Mohamed Khider Biskra | Encadrant |
| Dr. | Boucif Asma | MCB | Université Mohamed Khider Biskra | Examineur |

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude, et qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous tenons à remercier sincèrement Dr.Otmani Ines pour avoir accepté de nous encadré son grand soutien et sa supervision ; il s'est assuré pour nous guider plus qu'il ne le faut et faciliter ce travail tout le temps.

Nous remercions aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nous remercions également toute personne qui a participé à la réalisation de ce travail que ce soit de loin ou de près et tous les professeurs qui ont contribué à notre éducation et à notre formation.

Dédicaces

Grâce au Dieu le tout puissant et son aide, qui ma donner le courage et la force pour mener ce modeste travail, que je dédie :

A mes très chers parents qui n'ont jamais cessé de m'encourager pour entreprendre mes études et atteindre mes objectifs et qui' m'ont apporté leur aide pour l'élaboration de ce travail, je les remercie du fond du cœur d'être présent pour moi merci pour vos confiance .vos conseils . votre patience , votre compréhension et vos encouragements sans fin. aucune dédicace ne peut exprimer l'amour, l'appréciation et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

A tous mes professeurs du primaire à l'université nombreuses phrases et expressions, aussi éloquentes soient-elles , ne peuvent exprimer ma gratitude .

a mes chères sœurs :Naouel ,Fouzia ,Laila ,Hamida ,radia et aicha et ma belle nour , a mes frères :Abdallah ,Mohamed ,Saddam mes fidèle compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse,

A ma binôme chaima.

A mon fiancé Mbarek pour son soutien moral et les conseils dans les moments difficiles.

A mes amis :

Sara, Amani, Amira, Samah, Imane, Bouthaina, Meriem, Nessrine, Halima, Rayane, Fatiha, Zineb, Douaa, Ouisal.

Je suis fiere de notre fidélité en amitié je suis impatiente de partager encore beaucoup d'autres moments fantastiques avec vous.

A tous mes collègues de promotion 2024 .

et a toute la famille Seghir .

Maroua

Dédicaces

Tout d'abord je remercie le dieu , notre créateur de m'avoir donné la force ,la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce travail à ma mère, la source de tendresse et la lumière qui guide mes routes et qui m'emmène et chemins de réussite, pour tous ses sacrifices consentis et ses précieux conseils , pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A mon père que je le remercie énormément pour ses efforts, ses conseils et sa surveillance.

A mes chers sœurs : Safa, Maroua, Chahla, Meriem, Salima et Hanane .

A mes chers frères : Ahmed, Lahcen, Said et Ramdan

A ma binôme : Maroua

A mes meilleurs amis : Kheira, Ikram, Rokaya, Samah, Imene, Chifaa, Bouthaina, Hadjer, Amani, N essrine.

A toute la famille Boudoukha

A tout ce qui je connais sans exception.

A tous mes enseignants sans exception.

Enfin j'offre mes bénédiction a tous ceux qui m'ont soutenu dans l'accomplissement de ce travail.

Chaima

Sommaire

| | |
|------------------------------|----------|
| Remerciements | |
| Dédicaces | |
| Sommaire | |
| Liste des tableaux | I |
| Liste des figures | II |
| Liste des abréviations | III |
| Introduction | 1 |

Partie bibliographique

Chapitre 1 Généralité sur le mercure

| | |
|---|---|
| 1.1. Définition de mercure | 3 |
| 1.2. Historique | 3 |
| 1.3. Sources d'exposition au mercure | 3 |
| 1.3.1. Les sources naturelles | 3 |
| 1.3.2. Les sources anthropiques | 4 |
| 1.4. Distribution du mercure dans la chaîne alimentaire | 5 |
| 1.5. Type du mercure | 5 |
| 1.5.1. Le mercure métallique (élémentaire) | 5 |
| 1.5.2. Les composés inorganiques | 6 |
| 1.5.3. Le mercure organique | 6 |
| 1.6. Propriétés physiques et chimiques | 7 |
| 1.7. Utilisation du mercure | 8 |

Chapitre 2 Effet de mercure

| | |
|---|----|
| 2.1. Toxicocinétique du mercure chez l'humain | 10 |
| 2.1.1. Absorption | 10 |
| 2.1.2. Transport et distribution | 11 |

| | |
|--|----|
| 2.1.3. Excrétion..... | 12 |
| 2.2. Toxicité..... | 12 |
| 2.2.1. L'intoxication aiguë..... | 13 |
| 2.2.2. L'Intoxication chronique | 13 |
| 2.3. Histologie du foie | 13 |
| 2.4.Fonction du foie..... | 14 |
| 2.4.1. Le métabolisme | 14 |
| 2.4.2. La protéinogénèse..... | 14 |
| 2.4.3. Le stockage..... | 14 |
| 2.4.4. Détoxifications | 15 |
| 2.5. Effet du mercure sur le foie..... | 15 |

Partie 2 Etude expérimentale

Chapitre 3 Matérielles et Méthodes

| | |
|---|----|
| 3.1. Matériels biologiques | 16 |
| 3.2. Paramètre biochimique..... | 16 |
| 3.2.1. Méthode Collecte du sang..... | 17 |
| 3.2.2. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques | 18 |
| 3.2.3. Dosage de ALAT et ASAT | 18 |
| 3.2.4. Dosage de PAL | 18 |
| 3.2.5. Dosage de LDH..... | 19 |
| 3.2.6. Dosage du Cholestérol et des Triglycérides..... | 20 |
| 3.2.7. Dosage de l'Albumine et de la Bilirubine..... | 20 |
| 3.3. Le stress oxydatif..... | 21 |
| 3.3.1. Prélèvement d'échantillon | 22 |
| 3.3.2. Détermination de l'activité du Glutathion (GSH)..... | 23 |
| 3.3.3. dosage de l'activité du Glutathion peroxydase (GPx) | 24 |
| 3.3.4. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)..... | 24 |

| | |
|---|----|
| 3.3.5. Dosage des Hydroperoxyde lipidique ou Lipoperoxydes (LPO)..... | 25 |
| 3.3.6. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)..... | 25 |
| 3.3.7. Dosage de la Catalase (CAT)..... | 26 |
| 3.4. Etude histologique..... | 26 |
| 3.4.1. Prélèvement des échantillons..... | 27 |
| 3.5. Etude Statistique..... | 28 |

Chapitre 4 Résultats et Discussion

| | |
|--|-----------|
| 4.1. Evaluation de l'effet de Hg sur les paramètres biochimiques..... | 30 |
| 4.1.1. Activité de l'aspartate aminotransférase (AST/ TGO) et de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP)..... | 30 |
| 4.1.2. Activité de la phosphatase alcaline (PAL)..... | 31 |
| 4.1.3. Activité du lactate déshydrogénase (LDH)..... | 32 |
| 4.1.4. Taux de la Bilirubine..... | 32 |
| 4.1.5. Taux de Albumine..... | 32 |
| 4.1.6. Taux du cholestérol et des triglycérides..... | 33 |
| 4.1.7. Discussion..... | 33 |
| 4.2. Evaluation de l'effet du Hg sur les stress oxydant..... | 36 |
| 4.2.1. Evaluation de l'activité enzymatique du glutathion peroxidase (GPx), de la catalase (CAT) et du superoxyde dismutase (SOD) :..... | 36 |
| 4.2.2. Evaluation du taux du glutathion (GSH)..... | 38 |
| 4.2.3. Evaluation de la valeur de LPO et MDA..... | 39 |
| 4.2.4. Discussion..... | 40 |
| 4.3. Etude histologique..... | 42 |
| 4.3.1. Discussion..... | 45 |
| Conclusion..... | 47 |
| Bibliographie..... | 49 |
| Résumé..... | 57 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Les trois catégories des rejets anthropiques de mercure dû à l'activité humaine..... | 4 |
| Tableau 2. Les propriétés physicochimiques du mercure | 7 |
| Tableau 3 . Tableau récapitulatif des différents paramètres biochimiques analysées..... | 17 |
| Tableau 4. Tableau récapitulatif des paramètres de stress oxydatif analysé | 22 |
| Tableau 5 .Tableau récapitulatif des différents études histologiques réalisées..... | 27 |
| Tableau 6. Effet du HgCl ₂ sur l'activité d'ALT chez les rats. | 30 |
| Tableau 7 . Effet du HgCl ₂ sur l'activité d'AST chez les rats. | 30 |
| Tableau 8. Effet du HgCl ₂ sur l'activité de PAL chez les rats. | 31 |
| Tableau 9 . Effet du HgCl ₂ sur l'activité duLDH chez les rats. | 32 |
| Tableau 10. Effet du HgCl ₂ sur le taux de la bilirubine et de l'albumine chez les rats..... | 32 |
| Tableau 11. Effet du HgCl ₂ sur le taux du cholestérol et des TG chez les rats..... | 33 |
| Tableau 12. Effet du HgCl ₂ sur l'activité de la GPx chez les rats..... | 36 |
| Tableau 13. Effet du HgCl ₂ sur l'activité de la CAT chez les rats..... | 37 |
| Tableau 14 . Effet du HgCl ₂ sur l'activité de la SOD chez les rats..... | 38 |
| Tableau 15. Effet du HgCl ₂ sur le taux du GSH chez les rats..... | 38 |
| Tableau 16. Effet du HgCl ₂ sur LPO/ MDA chez les rats..... | 39 |
| Tableau 17. Tableau récapitulatif des différents coupes histologiques réalisés chez les rats . | 42 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. Le mercure pur à l'état naturel (Bensaad et Bensaad, 2016 ; Belatreche, 2019)..... | 7 |
| Figure 2. Importance relative des divers emplois du mercure. | 9 |
| Figure 3 . Vue de foie (Fortin J, 2002)..... | 14 |

Liste des abréviations

ALT /TGP: Alanine aminotransférase

AST/TGO : Aspartate aminotransférase

CAT: Catalase

ELISA : Enzyme LinkedImmuno Sorbet Assay

GPx: Glutathion peroxydase

GSH: Glutathion

Hg: Mercure

HgCl₂ : Chlorure de mercure

Ip : intrapéritonéal

LPO : Lipide peroxydase

LDH : lactate dehydrogenase

MDA:Malondialdhyde

MeHg:Méthylmercure

MeHgCl₂ : Méthyle chlorid mercure

MT :Métallothionéine

PAL : Phosphatase alkaline

Ppm:Partie par million

ROS :Reactive Oxygen Species

SOD: Superoxydedismutase

TG :Triglycéride

Introduction

Introduction

A la fin de XIXe siècle, il y a eu une augmentation exponentielle des activités industrielles et urbaines, ceci a conduit à des décharges élevées de produits toxiques qui sont libérés dans l'environnement (Cobbina *et al.*, 2015), conduisant à une vaste pollution de ce dernier, notamment par les métaux lourds (AL-Attar, 2011). Selon Jagadeesan et Pillai (2007), la consommation et l'exposition à des substances xénobiotiques ou à des composés d'origine humaine comme les complexes métalliques lourds entraînent une pollution. Les métaux lourds ne se dégradent pas dans le système biologique et ont des effets probables même à des doses faibles (Mumtaz *et al.*, 2019).

Le mercure (Hg) est un métal lourd largement répandu dans le monde dont l'impact sur la santé humaine est préoccupant (Bensefa *et al.*, 2011). Il a été enregistré comme le troisième métal lourd le plus dangereux (Cagalayan *et al.*, 2019) et l'un des métaux les plus toxiques parmi les métaux polluants (Nabi *et al.*, 2010, 2011 ; Al-Othman *et al.*, 2011). Le mercure est un métal ubiquitaire présent sous forme liquide à température ambiante (Attiya *et al.*, 2020). Grâce à ses propriétés physicochimiques, en particulier sa grande volatilité, le mercure d'origine naturelle (provenant du dégazage de la croûte terrestre) ou anthropique (mines, industries) circule dans l'ensemble des milieux naturels : air, eau, sol, sédiments. En milieu aquatique, sous l'action de bactéries, le mercure est transformé de ses formes inorganiques à sa forme méthylée (MeHg), la plus toxique, et entre alors rapidement dans la chaîne alimentaire aquatique (cordier, 2003).

Ce métal lourd est présent dans l'environnement sous trois formes chimiques principales : le mercure métallique, le mercure inorganique et le mercure organique (Bensefa *et al.*, 2011). Il pénètre dans l'organisme principalement par le tube digestif et les poumons. Le Hg circule d'abord avec le sang, où il peut être facilement mesuré. Il s'accumule principalement dans le foie, les reins, les poumons et le cerveau (Agarwal *et al.*, 2007). Il entraîne toute une série d'effets néfastes sur la santé, notamment des séquelles neurologiques, rénales, respiratoires, immunitaires, dermatologiques, hépatiques, reproductives et de développement (Bashandy *et al.*, 2011).

Selon Zalups, (2000), le mercure a la capacité de causer des dommages biochimiques aux tissus en augmentant la peroxydation des lipides, en créant des espèces réactives de l'oxygène(ROS), en altérant la synthèse des protéines et en se fixant aux groupes thiols.

L'accumulation du Hg dans le foie entraîne une augmentation du taux de malonaldéhyde hépatique, ce qui entraîne une toxicité hépatique. D'après Sener *et al.* (2007), le traitement de rats avec du Hg a révélé une augmentation notable des enzymes hépatiques et des dommages aux cellules du foie. Selon des recherches précédentes, il a été démontré que le HgCl₂ entraîne des dommages histopathologiques et ultra-structuraux au foie (Bashandy *et al.*, 2011).

L'objectif de notre travail consiste à analyser différents articles pour évaluer la toxicité hépatique du mercure, en suivant les valeurs des paramètres biochimiques, du stress oxydatif et de la structure anatomique de foie.

Ce travail qui est subdivisé en deux parties :

- Une partie bibliographique : représente une synthèse bibliographique montrée deux chapitre.
- Chapitre 1 : le mercure et le foie.
- Chapitre 2 : effet de mercure
- Une partie expérimentale : basée sur l'analyse des articles sélectionnés, subdivisée en trois chapitres :
 - Chapitre 3: Matériel et méthodes.
 - Chapitre 4 : Résultats et Discussion

Partie bibliographique

Chapitre 1

Généralité sur le mercure

1.1. Historique

Le mercure (Hg) est un contaminant présente à l'échelle mondiale qui a suscité une attention considérable depuis l'émergence de la "maladie de Minamata" au Japon dans les années 1950 (Khan, 2009). Pendant trente ans, une usine fabriquant de l'acétaldéhyde a déversé des résidus de métaux lourds, tels que du chlorure de méthylmercure, dans la baie de Minamata (Maruszczak, 2011). Ce trouble, provoqué par la consommation de fruits de mer contaminés par du mercure, se manifeste par des symptômes principalement neurologiques (Sakamoto, 2011 ; Chung, 2023), entraînant le décès d'environ 1200 individus, avec 2200 personnes identifiées comme étant atteintes de la "maladie de Minamata". Plus tard (Maruszczak, 2011).

En Iraq en 1971, une autre tragédie résultant de la contamination au mercure a entraîné l'intoxication de presque 6000 personnes (Maruszczak, 2011).

En Algérie, les minéralisations mercurielles sont identifiées depuis l'époque romaine ; des restes de cinabre ont été trouvés à Grayer (Azzaba) dans la chaîne nord-numidique, faisant l'objet de diverses études. (Bensaad et Bensaad, 2016).

1.2. Définition de mercure

Le mercure est largement répandu comme source de pollution à l'échelle mondiale en raison de sa toxicité, de sa durabilité dans l'environnement et de sa capacité à s'accumuler dans les êtres vivants (ISBN, 2008). Il reste le seul métal qui demeure liquide à température ambiante, se présentant sous forme de petites gouttelettes brillantes et argentées avec une forte tension superficielle, ce qui leur donne une forme arrondie lorsqu'elles reposent sur une surface aplatie. Sa grande mobilité et sa faible viscosité facilitent la coalescence des gouttelettes (Carrière, 2007). Son symbole chimique, Hg, provient du latin "hydrargyrum", signifiant "argent liquide" (Grosman et Melet, 2011). Il est insoluble dans l'eau, les solvants habituels, et les alcalins. C'est un métal qui se caractérise par une extrême volatilité ; C'est un métal qui se combine très facilement avec d'autres molécules, que ce soient des métaux, des molécules inorganiques ou organiques (INERIS, 2010).

1.3. Sources d'exposition au mercure

1.3.1. Les sources naturelles

Les zones de convergences tectoniques sont des sources naturelles majeures de mercure dans l'environnement, abritant des mines d'exploitation telles qu'à Almadén en Espagne,

Idrijaen Slovénie, New Almaden en Californie, ainsi qu'en Algérie, en Chine et au Kirghizstan (Maruszczak, 2011). Les émissions naturelles se produisent principalement sous forme de mercure élémentaire gazeux (Hg⁰) (Maruszczak, 2011). Le mercure est libéré par diverses sources naturelles telles que les volcans, les sols, les conduits volcaniques sous-marins, les zones géologiques riches en mercure, les eaux douces et les océans, les plantes, les feux de forêt, les cristaux de sel marin et la poussière météorique (Wilhelm et Bloom, 2000; Wilhelm, 2001). De plus, la combustion de biomasse, qui entraîne une accumulation significative de mercure dans les végétaux, représente une part importante des émissions naturelles (Mosbæk *et al.*, 1988; Maruszczak, 2011). Les eaux de surface, incluant les océans et les lacs, émettent environ (2778 tonnes/ an) dans l'atmosphère. Enfin, les émissions de mercure par le sol se font principalement sous forme gazeuse, influencées par la nature du sol, la température, l'irradiation solaire (Gustin et al., 2003), et les précipitations (Lindberg *et al.*, 1999 ; Maruszczak, 2011). Actuellement, il est estimé que le sol, la roche et les végétaux émettent environ 1664 tonnes de mercure par an (Maruszczak, 2011).

1.3.2. Les sources anthropiques

Les activités humaines dégagent aussi du mercure dans l'environnement (Wilhelm et Bloom, 2000 ; Wilhelm, 2001).

Tableau 1. Les trois catégories des rejets anthropiques de mercure dû à l'activité humaine (Wilhelm et Bloom, 2000 ; Wilhelm, 2001).

| Les rejets dus à la mobilisation du mercure contenu dans les matières premières. | Les rejets provenant de l'extraction et des utilisations intentionnelles du mercure. | Les rejets issus du traitement de déchets ménagers et hospitaliers (incinération) |
|--|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> -La production d'énergie et de chaleur (charbon et d'autres combustibles fossiles), - La production de ciment (mercure dans la chaux), - L'exploitation minière, - Les activités métallurgiques | <ul style="list-style-type: none"> -L'exploitation minière du mercure, -L'exploitation minière à petite échelle de l'or et de l'argent, - L'industrie chimique (production chlore-soude à | <ul style="list-style-type: none"> -L'incinération de déchets (déchets urbains, médicaux et toxiques), -Les décharges, -La combustion par crémation, |

| | | |
|---|---|--------------------------------------|
| qui impliquent l'extraction et le traitement de matériaux minéraux vierges et recyclés. | cathode de mercure), - L'industrie électrique (les lampes fluorescentes, les piles), -Les appareils de laboratoire (thermomètres, manomètres, baromètres), -Des amalgames dentaires, la réalisation de miroir ou de dorure | -Les cimetières (rejets vers le sol) |
|---|---|--------------------------------------|

1.4. Distribution du mercure dans la chaîne alimentaire

Le (MeHg) présent dans l'environnement provient de la méthylation du mercure inorganique. Le mercure, principalement émis par des sources de combustion telles que les centrales électriques au charbon et les incinérateurs d'ordures, se dépose dans les lacs et cours d'eau, où il est ensuite transformé en MeHg par des bactéries sédimentaires. Ce composé a la capacité de s'accumuler dans les organismes (bioaccumulation) et de se concentrer le long des chaînes alimentaires (bioamplification), surtout dans la chaîne alimentaire aquatique, affectant particulièrement les poissons (notamment les truites, brochets et perches d'eau douce) ainsi que les mammifères marins prédateurs (comme les requins, les grands thons et les espadons d'eau de mer). Plus un poisson est situé à un niveau élevé de la chaîne alimentaire, plus il a tendance à accumuler un taux élevé de mercure (Bensefa *et al.*, 2011).

1.5. Type du mercure

1.5.1. Le mercure métallique (élémentaire)

Le mercure métallique, symbolisé par Hg^0 , est un métal brillant de couleur blanc argenté qui reste liquide à température ambiante. En l'absence de confinement, il peut s'évaporer partiellement à température ambiante, produisant des vapeurs incolores et sans odeur. Avec l'augmentation de la température, le mercure métallique libère plus de vapeurs. Certaines personnes ayant inhalé ces vapeurs ont rapporté avoir ressenti un goût métallique dans la bouche (Bensaad et Bensaad, 2016).

Le mercure métallique et les sels de mercure sont méthylés par des microorganismes en méthylmercure qui s'accumule dans les poissons et les crustacés (Bensefa *et al.*, 2011 ; Vincent, 2023). Ce type de mercure se trouve rarement dans la nature sous forme de métal liquide pur ; il y est plutôt présent sous forme de composés ou de sels inorganiques. On trouve des composés du mercure monovalent et divalent (symbolisés par Hg(I) et Hg (II) respectivement). L'Hg (II) forme de nombreux composés organiques et inorganiques (PNUE, 2005).

1.5.2. Les composés inorganiques

Le mercure inorganique est la combinaison du mercure élémentaire avec d'autres éléments comme le soufre (sulfure mercurique (HgS)), le chlore ou l'oxygène (l'oxyde mercurique (HgO)), ce qui forme des sels de mercure les chlorures mercurique et mercurieux (HgCl₂, Hg₂ Cl₂), le sulfate mercurique (HgSO₄). (Bensefa *et al.*, 2011 ; Vincent, 2023).

La plupart des composés inorganiques du mercure se présentent sous forme de poudre ou de cristaux blancs, sauf le sulfure de mercure, qui est rouge et qui vire au noir après exposition à la lumière. Certains sels de mercure (comme le HgCl₂) sont suffisamment volatils pour être présents à l'état gazeux dans l'atmosphère. Cependant, la solubilité de ces composés gazeux inorganiques (ioniques) du mercure dans l'eau et leur réactivité chimique font qu'ils se déposent beaucoup plus rapidement, à partir de l'atmosphère (Caglayan *et al.*, 2019 ; Moummen, 2017).

Le chlorure de mercure (HgCl₂) est l'une des formes les plus toxiques du mercure, car il traverse les membranes biologiques et forme facilement des complexes organomercuriels avec les protéines. L'accumulation de HgCl₂ dans le foie induit un stress oxydatif (Caglayan *et al.*, 2019).

1.5.3. Le mercure organique

Ce sont des composés combinés au carbone, appelée aussi « composés organomercuriels ». Il peut former un grand nombre de composés organiques comme le diméthylmercure ((CH₃)₂Hg), le phénylmercure, l'éthylmercure et le méthylmercure, le composé le plus courant dans l'environnement est le méthylmercure (PNUE, 2005).

C'est le mercure contenu dans des composés à base de chaînes de carbone, représenté sous la formule générale R-Hg-X avec R un radical organique (alkyl, aryl ou alkoxyalkyl) et

X un anion dissociable. En exemple, on note le chlorure méthylmercure (alimentaire) qui représente 80% du mercure mesuré dans la nature. (Carrière, 2007).

Les propriétés des composés organiques sont fonction du radical organique R. Leur solubilité est très variable, sont relativement stables dans l'air de part leur liaison carbone mercure avec une volatilité notable, par contre leur liposolubilité est forte. (Carrière, 2007).

1.6. Propriétés physiques et chimiques

Le mercure (Hg) est un élément de transition du groupe IIB dans la classification périodique des éléments de Mendeleïev, Avec un numéro atomique de 80 et une masse molaire de 200,59 g/mol, il se situe entre l'or et le thallium dans cette classification. Sous sa forme pure (Maruszczak, 2011).

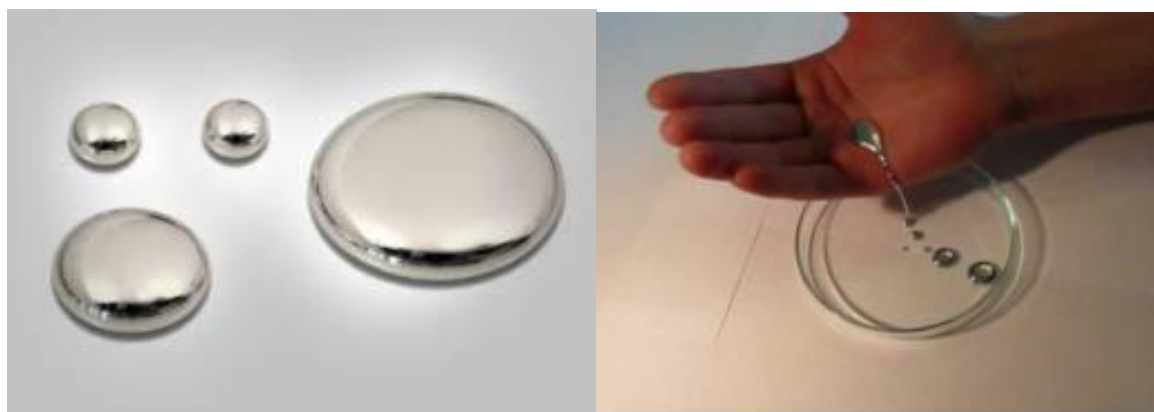


Figure 1. Le mercure pur à l'état naturel (Bensaad et Bensaad, 2016).

Tableau 2. Les propriétés physicochimiques du mercure (Bensaad et Bensaad, 2016).

| Les propriétés chimiques | Valeur | Les propriétés physiques | Valeur |
|--------------------------|-------------|--------------------------|----------------|
| La masse atomique | 200,6 g/mol | Etat ordinaire | Liquide |
| Point de fusion | -38.9° C | Chaleur massique | 138.8 J/(Kg.k |
| Point d'ébullition | 357.3 °C | Chaleur spécifique | 0.1397 J/(Kg.k |

| | | | |
|-----------------------------------|-----------------|----------------------------|---------------|
| Potentiel de couple | 0.85 V | Conductivité thermique | 8.34 W/(m.k) |
| Masse volumique | 13,6 g.cm-3 | Densité | 13.6 g/cm3 |
| Température de fusion | -38,83° | Pression de vapeur à 20 °C | 0.26 Pa |
| Densité | 13,58 g/cm3 | Viscosité dynamique η | 17×10-3 Pa.s |
| Configuration électronique | Xe 4f14 5d10 6s | Tension superficielle. | 471.6 dyne/cm |

1.7. Utilisation du mercure

Au niveau mondial, le mercure est surtout utilisé dans l'orpaillage (mines d'or), la fabrication de chlorure de vinyle et l'industrie du chlore et de la soude alors, l'industrie du chlore et de la dentisterie (Bensaad et Bensaad, 2016).

-Dans le domaine de la pâte à papier, les composés organométalliques entraînent dans la composition de fongicides destinés à combattre les moisissures, mais ils ont été pro- crits récemment en France. Ils sont interdits dans plusieurs pays industrialisés, mais sont encore autorisés en Europe du sud et dans l'ensemble des pays en voie de développement ,ce qui empoisonner l'environnement (Picot, 1998).

-Les amalgames dentaires appelés improprement plombages, qui contenaient jusqu'à récemment des quantités appréciables de mercure se libérant progressivement dans nos bouches.

- Les piles alcalines dite piles bouton ou pile galvanique, en électrochimie, pouvant contenir du mercure avec les couples (Zn^{2+}/Zn) et (Hg/Hg^{2+}).

-Les lampes basses consommation à vapeur de mercure, fluo compactes, doivent maintenant selon le règlement européen contenir moins de 5 mg de mercure.

-Les thermomètres à mercure utilisant la bonne propriété de l'expansion thermique (Belatrech, 2019).



Figure 2. Importance relative des divers emplois du mercure.

Chapitre 2

Effet de mercure

2.1. Toxicocinétique du mercure chez l'humain

La Toxicocinétique étudie le cheminement d'une substance toxique entre son entrée dans le corps humain, sa distribution dans les tissus et sa sortie de l'organisme. Pour que les substances toxiques atteignent les principaux lieux d'absorption dans le corps humain qui sont humides, les substances (épiderme, intestin et poumon) doivent être hydrosolubles (Van Collie, 2011 ; Francis, 2012).

L'absorption, la distribution et le stockage du mercure dans l'organisme sont liés à l'espèce chimique en cause et aux propriétés physicochimiques des composés, en particulier de leur solubilité. (Caroline Vincent, 2023).

On différencie pour cette raison le devenir du mercure chez l'homme pour les différents composés : le mercure métallique et inorganique, et le mercure organique .

2.1.1. Absorption

Le mercure élémentaire a la particularité d'être un liquide volatil a température ambiante (des 20°C) ; il émet des vapeurs inodores et incolores. En cas d'inhalation des vapeurs, l'absorption du Hg⁰ est rapide et élevée (jusqu'à 80% de la quantité inhalée) (Caroline Vincent, 2023).

Tans que Par voie cutanée, le taux d'absorption du mercure métallique sous forme vapeur est faible, évalué à moins de 3 % par certains auteurs. La pénétration sous-cutanée du mercure métallique est une voie accidentelle régulièrement décrite chez des infirmières par blessures suite au bris de thermomètres à mercure (Hursh *et al.*, 1989 ;Luwery *et al.*,2007). En revanche, plusieurs observations ont montré des intoxications avec syndrome néphrotique par passage transdermique lors de l'application cutanée de crème ou savon éclaircissant contenant des sels de mercure inorganique (De Bont *et al.*,1986). Par contre, après ingestion, le Hg⁰ est très faiblement absorbé (<0.01% de la quantité ingérée) et n'entraîne donc en général pas de toxicité systémique. (Caroline vincent ,2023)

Le taux d'absorption digestive des dérivés inorganiques, tels que le chlorure mercurique, suite à l'ingestion volontaire ou accidentelle peut aller jusqu'à 10 % et peut être à l'origine d'une intoxication aigue. Le risque d'inhalation de ces dérivés en milieu industriel est faible (Luwery *et al.*,2007).

Trois voies d'absorption du mercure organique sont possibles (pulmonaire, cutanée et digestive), avec une meilleure absorption des dérivés alkylés à chaîne courte (comme le MeHg). En milieu professionnel, l'absorption est surtout respiratoire et cutanée. L'absorption pulmonaire est de l'ordre de 60 % pour les dérivés alkylés les plus volatils. Très lipophile, il passe facilement la barrière cutanée. En population générale, l'exposition au mercure organique est principalement digestive par l'ingestion d'aliments contaminés (poissons) et l'absorption digestive du MeHg est de 95 % (Luwery *et al.*, 2007).

2.1.2. Transport et distribution

Le mercure élémentaire après absorption est distribué rapidement dans tous les organes (Cherian *et al.*, 1978), Hg^0 franchit facilement les barrières membranaires dont les barrières hémato-encéphalique, pulmonaire, érythrocytaire et placentaire. Très rapidement, il est oxydé par la catalase cellulaire en ions mercure (Hg^{2+}) qui ne franchissent pas avec la même facilité les membranes biologiques, ce qui peut être à l'origine d'une rétention dans différents tissus (Clackson, 1997 ; Vincent, 2023).

Le mercure inorganique se distribue de façon similaire dans tous les organes. L'accumulation des dérivés inorganiques dans le rein et le fœtus est plus faible que le mercure métallique, ce dernier étant plus lipophile. Les ions mercuriques formés se fixent sur les protéines plasmatiques et sont rapidement distribués dans le foie et le rein. Dans le rein, les ions mercuriques sont conjugués à des groupements thiol ($-SH$) de molécules endogènes pour être ensuite captés par les cellules épithéliales des tubules proximaux et des anses de Henlé, mais peu par les glomérules. Dans les cellules, il s'accumule dans les lysosomes, les mitochondries et les membranes cellulaires. Une partie importante du mercure inorganique se fixe sur une protéine aux propriétés similaires à la MT, cette dernière semblant jouer un rôle protecteur en inhibant l'action toxique du mercure (Luwery *et al.*, 2007).

Dans la circulation sanguine, le mercure organique se fixe principalement sur les groupements thiol des globules rouges (90 % du mercure organique est intraérythrocytaire) ou forme un complexe hydrosoluble en se fixant sur les groupements thiol d'un ligand (Clarkson, 2002). Très lipophile, le MeHg passe facilement la barrière hématoencéphalique par le biais d'un transport actif et, une fois dans le cerveau, devient moins échangeable que dans les autres organes. Les dérivés alkylés se distribuent et s'accumulent préférentiellement dans le cerveau et se concentrent dans les cheveux où ils sont stockés. Chez la femme enceinte, les

dérivés alkylés traversent le placenta et s'accumulent dans le cerveau du fœtus. Le MeHg ingéré est partiellement déméthylé par la flore bactérienne intestinale en une forme inorganique (Kerper *et al.*, 1996 ; Luwery *et al.*, 2007).

2.1.3. Excrétion

L'élimination du Hg⁰ ou du mercure inorganique est principalement rénale lors d'exposition prolongée (Luwery *et al.*, 2007). Le mercure inorganique et le mercure élémentaire, quelles que soient leurs valeurs d'absorption, sont principalement excrétés dans les urines et dans les fèces, leur demi-vie étant de 1 à 2 mois (Clackson, 1989).

Le mercure élémentaire inhalé, au cours d'expositions inférieures à une heure, montre que 7% du mercure absorbé est excrété dans l'air expiré (Hursch *et al.*, 1976 ; Cherian *et al.*, 1978). Le mercure inorganique est également excrété dans le lait maternel (Yoshida *et al.*, 1992 ; Sundberg *et al.*, 1999).

L'élimination du mercure organique est principalement biliaire. Il subit dans l'intestin un cycle entérohépatique avec réabsorption portale. L'excrétion fécale peut être stimulée par l'administration de résines thiolées fixant le mercure. Une partie du MeHg excrété par voie biliaire est déméthylée en mercure inorganique par la flore microbienne et une faible partie est réabsorbée. La majeure partie du MeHg est éliminée sous forme déméthylée dans les fèces. Le MeHg est faiblement excrété dans les phanères et dans les urines (< 10 %). La demi-vie biologique du MeHg chez l'homme est estimée entre 35 et 189 jours. L'excrétion du MeHg dans le lait maternel est plus faible que celle du mercure inorganique. Le mercure métal et les dérivés organiques, en particulier les dérivés alkylés, franchissent facilement la barrière hématoencéphalique et sont des toxiques cumulatifs pour le SNC (Clarkson, 2002).

2.2. Toxicité

La toxicité dépend fortement de sa forme chimique et de son degré d'oxydation. Le MeHg, forme organique du mercure, est extrêmement toxique. En effet, de par sa capacité à se bioaccumuler, c'est-à-dire à persister sans être éliminé chez les organismes vivants, il est stocké dans les graisses et les muscles, entraînant ainsi un phénomène de bioamplification tout au long de la chaîne alimentaire. (Maruszczak, 2011).

Le mercure est également toxique sous sa forme inorganique et gazeuse. La principale source d'exposition est alors l'inhalation de vapeur de mercure. L'effet de la toxicité du

mercure chez l'homme se dévoilant sous sa forme vapeur commence par les voies respiratoires, pour se solubiliser dans le plasma, le sang et l'hémoglobine. Par le sang, il attaque les reins, le cerveau et le système nerveux (Maruszczak, 2011).

Selon Bashandy, (2011) le Hg s'accumule dans le foie et augmente le taux de malonaldéhyde (MDA) hépatique, ce qui entraîne une hépatotoxicité (Lin *et al.*, 1996).

2.2.1. L'intoxication aiguë

L'exposition accidentelle à de grandes quantités de vapeur de Hg dans une pièce mal ventilée peut être corrosive pour la peau et les muqueuses.

Les premiers symptômes peuvent être un syndrome pseudo- grippal avec des frissons, de la fièvre, des maux de tête, suivis de symptômes respiratoires. L'inhalation de fortes vapeurs de mercure peut provoquer un oedème pulmonaire aigu. La pénétration rapide des vapeurs de mercure dans le système nerveux central est responsable d'une encéphalopathie accompagnée de maux de tête, de tremblements, d'une perte de vision et parfois d'un coma convulsif (Benadda, 2002)

2.2.2. L'Intoxication chronique

Les principaux organes cibles du mercure élémentaire et du mercure inorganique sont le système nerveux central, le foie et les reins. Ainsi, les principaux symptômes d'hydrargyrisme chronique (intoxication par le mercure) sont d'ordre neurologique comme des troubles de la psychomotricité, des troubles cognitifs. Le mercure organique atteint essentiellement le cerveau, avec des paresthésies, un malaise général, des modifications et des troubles sensoriels (WHO, 1991).

2.3. Histologie du foie

Le foie est l'organe principal du système biliaire (Ravichandra *et al.*, 2013), selon Chouit, (2017). est une glande volumineuse annexée au tube digestif et remplit plusieurs fonctions essentielles et complexes de synthèse et de transformation de diverses substances (Morin, 2006 ; Elaine, 2008). Il se situe sous la coupole diaphragmatique droite (Marc, 2012), Il est entouré partiellement de péritoine et enveloppé d'une capsule fibreuse, la capsule de Glisson qui se creuse en sillons délimitant quatre lobes et qui s'invagine, sur sa face inférieure, pour former le hile hépatique (Veilhan, 2006).

Le foie comprend deux éléments principaux : Un volumineux lobe droit et un petit lobe gauche. Chacun est constitué des petites unités fonctionnelles s'appellent les lobules. Le sang passe à travers ces lobules (Morin, 2006 ; Elaine, 2008 ; Chouit,2017)

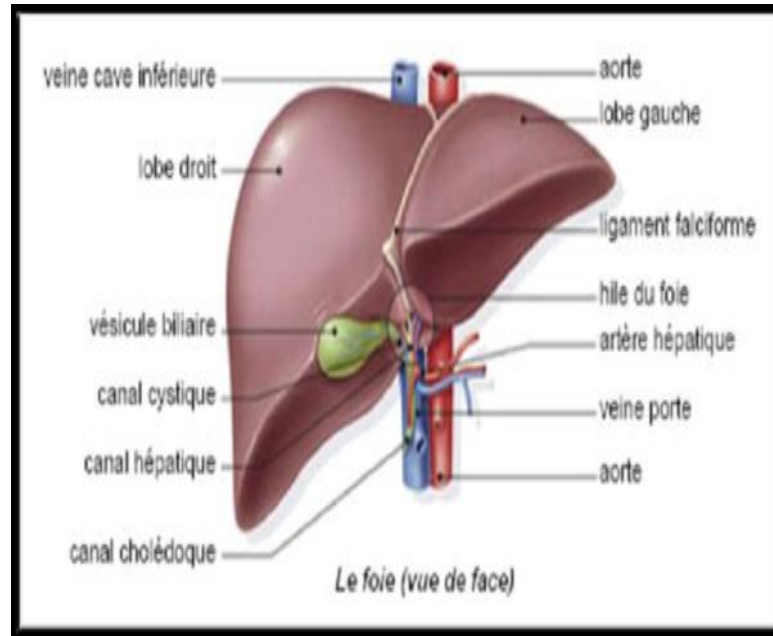


Figure 3 . Vue de foie (Fortin J, 2002).

2.4.Fonction du foie

Le foie effectue près de 500 fonctions vitales (Highleyman et Franciscus, 2004). Les principales fonctions du foie sont :

2.4.1. Le métabolisme

Les hépatocytes jouent un rôle particulièrement important dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, elles assurent le maintien de la normoglycémie par une fonction glycogénique (Gerard et Bryane, 2009; Chouit,2017), mais aussi la conversion des aliments en énergie (Highleyman et Franciscus, 2004).

2.4.2. La protéinogénèse

Le foie synthétise plusieurs protéine, tels que les enzymes, les hormones, les facteurs de coagulation et les facteurs immunitaires (Highleyman et Franciscus, 2004).

2.4.3. Le stockage

En plus d'emmagasiner le glycogène, le foie est l'un des principaux sites de stockage de certaines vitamines comme la vitamine A, B12, D, E...(Tortora et derrickson, 2007)

2.4.4. Détoxifications

Le foie assure également l'élimination des déchets endogènes qui sont nuisible pour le corps, notamment l'alcool, les drogues, les pesticides et les métaux lourds (Highleyman et Franciscus, 2004 ; Chouit, 2017).

2.5. Effet du mercure sur le foie

Les impacts du mercure sur le foie sont significatifs et peuvent entraîner des complications graves. Le foie, en tant qu'organe vital et sensible, est particulièrement exposé à la toxicité du mercure (Hg) (Mumtaz *et al.*, 2019), car il est le site principal de métabolisme du mercure, pouvant entraîner son accumulation et ainsi causer des lésions hépatiques graves. Des études antérieures ont démontré que le HgCl₂ induit des lésions histopathologiques et ultra structurales dans le foie, caractérisées par une dégénérescence graisseuse péri portale et une nécrose cellulaire (El-shenawy et Hassan, 2008 ; Wadaan, 2009).

De plus, des certaines données suggèrent une possible association entre l'exposition au mercure et certaines conditions telles que l'obésité, le diabète sucré et la résistance à l'insuline (Tinkov *et al.*, 2015 ; Roy *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2019)

Partie 2

Etude expérimentale

Chapitre 3

Matériels et Méthodes

3.1. Matériels biologiques

Dans notre étude, nous avons synthétisé 15 articles pour étudier l'impact du mercure sur la fonction hépatique chez les rats (paramètres biochimiques, stress oxydatif et l'histopathologie). Ces études ont été menées de manière rigoureuse et stricte aux recommandations du guide de soin et d'utilisation des animaux de laboratoire, selon un protocole approuvé par les commutés d'éthique locale des animaux de l'université de Gazi d'éthique de l'expérimentation animale (numéro d'approbation : G.U. ET-10.026) (Uzunhisarcikli *et al.*, 2015), et par le Comité d'éthique pour l'expérimentation animale de l'Université Ataturk (Approbation n° : 2016-861) (Cagalayan *et al.*, 2019).

3.2. Paramètre biochimique

Matériels

Animaux

Des rats males pesant (126-320g) de souche *Wistar Albinos* (Haouem *et al.*, 2013 ; Uzunhisarcikli *et al.*, 2015 ; Dardouriet *al.*, 2016), et rats *Albinos Ramus norvegicus* (Wadaan, 2009), des rats de souche *Sprague-Dawley* (Cagalayan *et al.*, 2019). Les animaux ont été gardés dans des cages, et maintenus dans une animalerie à température 22 + 3C, photopériode normale (12 h de lumière/12 h d'obscurité). Ils ont eu libre accès à la nourriture et à l'eau (H₂O) (Wadaan, 2009 ; Dardouri *et al.*, 2016). Les animaux (rats) sont répartis en 2 groupes : groupe témoin et groupe traité au Hg.

Produits chimiques

Le mercure

HgCl₂ (pureté 99%) a été obtenu auprès de Sigma-Aldrich (Uzunhisarcikli *et al.*, 2015 ; Cagalayan *et al.*, 2019). Selon Wadaan, (2009), le HgCl₂ a été obtenu auprès de Winlablaboratory Chemicals, Royaume-UK.

Réactifs

Des kits cinétiques enzymatiques disponibles dans le commerce. (Spin React-BECGMAN, Allemagne).

Anesthésie

Dans la présente étude, nous avons deux types d'Anesthésie ; une légère à l'éther (Wadaan, 2009 ; Haouem *et al.*, 2013 ; Dardouri *et al.*, 2016), et anesthésie au sévoflurane (Cagalayan *et al.*,2019).

3.2.1.Méthode Collecte du sang

À la fin de la période d'exposition, des échantillons de sang ont été prélevés chez tous les animaux après anesthésie. Ces échantillons ont été collectés dans des tubes à centrifuger stérilisés et laissés à reposer pendant 30 minutes pour éviter l'hémolyse avant d'être centrifugés à 3000 tours pendant 10 à 20 minutes (Wadaan, 2009 ;Uzunhisarcikli *et al.*, 2015 ; Cagalayan *et al.*,2019). Le liquide clair résultant de la centrifugation (le sérum) a été utilisé pour évaluer divers paramètres chimiques du sérum sanguin. Ce dernier a été conservé à -80°C (Dardouri *et al.*, 2016).

Tableau 3 .Tableau récapitulatif des différents paramètres biochimiques analysées

| Référence | Animale | Dose | Durée | Type de Hg | Voie d'administ ration | Paramètres biochimiques |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------|-------------------|------------------------|-----------------------------|
| (Wadaan,2009) | 20 rats males(150-170g) | 20 ppm | 8semaines | HgCl ₂ | 1/jour par voie orale | ALT-AST-PAL- TG-Cho |
| (Haouem <i>et al.</i> , 2013) | 8 rats males132 ± 11 g | (80 mg/l) | 4semaines | HgCl ₂ | 1/jour par voie orale | AST-ALT-PAL |
| (Uzunhisarcikli <i>et al.</i> ,2015) | 12 rats males 300-320g | (1 mg/kg poids corporel) | 4 semaines | HgCl ₂ | 1/jour par voie orale | ALT-AST-PAL-LDH-Chol-TG-alb |
| (Dardouri <i>et al.</i> ,2016) | 9 rats mâles 126 ± 11 g | (25 mg/l) dans l'eau de boisson | 10 semaines | HgCl ₂ | 1/jour par voie orale | AST-ALT-LDH-biliribine |
| (Cagalayan <i>et al.</i> , 2019) | 14 rats males250-270 g | 1.23 mg/kg | 7 jours | HgCl ₂ | 1/jour par voie i.p. | AST-ALT-PAL |

3.2.2. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques

3.2.3. Dosage de ALAT et ASAT

Les activités sériques de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT), ont été déterminées à l'aide d'un automate (Synchrom CX9 PRO Beckmancoulter ou Bayer ope-RA, Allemagne). (Haouem *et al.*, 2013 ; Dardouri *et al.*, 2016). Uzunhisarcikli *et al.*, (2015) a été réalisée ses dosages à l'aide d'un kit cinétique enzymatique disponible dans le commerce (Spin React-BECGMAN, Allemagne).

Pour la détermination de l'activité ALAT, 0,1 ml de sérum a été mélangé à 0,5 ml de liquide de la matrice de réaction et incubé à 37°C pendant 30 minutes. Ensuite, 0,5 ml de 2,4-dinitrobenzène hydrazine a été ajouté, suivi d'une incubation de 20 min à 37°C. La réaction a été stoppée par l'addition de 0,4 mol/L de NaOH. L'absorbance est lue à 505 nm (Liu *et al.*, 2016). Dans l'étude de Cagalayan *et al.*, (2019), ses paramètres ont été déterminée par un lecteur ELISA (Bio-Tek, Winooski, VT, USA) avec des kits commerciaux selon les instructions du fabricant.

Pour l'AST : 1ml du substrat souhaité est pipé dans un tube d'essai et placé dans un bain d'eau à température constante (40 °C) pendant 10 min. Après l'ajout de 0,2 ml. de sérum, le contenu est mélangé, et après une période d'incubation de exactement 30 min, le tube est retiré du bain d'eau. 1ml du réactif 2,4-dinitrophénylhydrazine est ajouté immédiatement, arrêtant ainsi la réaction. Après le tube est autorisé à se tenir à la température ambiante pendant un minimum de 20 min., 10 ml. de 0,4 N d'hydroxyde de sodium sont ajoutés, un frein de caoutchouc est inséré, et le contenu est mélangé par inversion. À la fin exactement de 30 min., la densité optique de la solution est mesurée à 505 m/i, en utilisant l'eau comme le vide. Tout filtre dans la plage de 490 à 530 m/h peut être utilisé de manière satisfaisante. (Reitman et Frankel, 1957).

ALAT enzyme présente dans le cytosol, relativement spécifique de foie.

ASAT enzyme présente dans le cytosol et la mitochondrie, se trouve dans le foie, les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le pancréas.

3.2.4. Dosage de PAL

Le dosage de la phosphatase alcaline (PAL), a été réalisée à l'aide d'un appareil d'analyse automatique utilisant des kits commerciaux spécifiques disponibles dans le

commerce (Wadaan, 2009), et à l'aide d'un automate (Synchrom CX9 PRO Beckmancoulter) (Haouem *et al.*, 2013).

Selon kind and king(1954) La méthode de GrifolsLucas est la suivante

1 millilitre M/ 100 Na₂ phényle phosphate + 1 - ml. Na₂CO₃ : NaHCO₃ (6:4, pH 10) tampon chauffé pendant 3 minutes à 37°C ; 0,1 ml. plasma ou sérum ajouté et mixte; maintenu à 37°C pendant 15 minutes ; 1 ml. M/10 Na₂CO₃ ajouté et mélange retiré à température ambiante; 1 ml. 0,06 % de 4-amino-antipyrine (A.A.P.) et 1 ml. 0,24 % de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) ajouté et mélangé.

Contrôle.-Identique au test, sauf que le plasma est ajouté après le M/10 Na₂CO₃.

Standard.-Solution de phénol standard(0,02 mg de phénol), 1 ml., + 1,1 ml.Na₂CO₃ : tampon NaHCO₃ + 1 ml. M/10Na₂CO₃ + 1 ml. 0,06% A.A.P. + 1 ml. 0,24 % K₃Fe(CN)₆.

Les couleurs se développent immédiatement et sont lus dans un colorimètre photoélectrique avec un filtre de lumière verte Ilford 624.

$$\text{Calcule } phosphatase = \frac{\text{teste*}-\text{contol*}}{\text{standard*}} \times 0.02 \times \frac{100}{0.1} (\text{unités}/100 \text{ ml.}) .$$

PAL enzyme présente dans les os, le foie et les intestins peuvent être mesurée dans le sang pour évaluer la santé des organes.

3.2.5.Dosage de LDH

La lactate déshydrogénase (LDH) a été dosés dans le sérum à l'aide d'un kit cinétique enzymatique disponible dans le commerce (Spin React-BECGMAN, Allemagne) par un auto analyseur (Bayer ope-RA, Allemagne) (Uzunhisarcikliet *al.*,2015) ou par automate (Synchrom CX9 PRO Beckmancoulter) (Dardouriet *al.*, 2016).

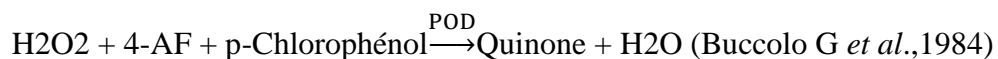
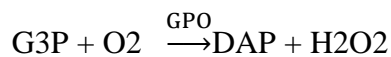
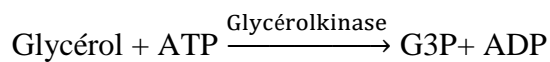
Selon la méthode de Lui *et al.* (2016), l'activité du LDH a été déterminé on ajoutant le NADH et 0,1 % de pyruvate au sérum puis laissé incubé à 37°C pendant 15minutes. Les échantillons ont ensuite été incubés avec le réactif de coloration à 37°C pendant 15 minutes. La réaction a été stoppée par l'ajout de 0,4 mol/L (NaOH). L'activité de la LDH est proportionnelle à l'augmentation de l'absorbance due à la réduction du NAD en NADH. L'absorbance du LDH est à 440 nm. Le taux de LDH (en pourcentage) Le principe selon lequel la LDH catalyse l'oxydation du NAD en hydrogène nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) (Liu *et al.*, 2016).

LDH : enzyme présente presque dans tous les tissus et les organes ; foie, muscle cœur et les poumons, les variations de taux de LDH indique la présence des maladies aiguës ou chroniques comme les maladies hépatiques et cardiaque.

3.2.6. Dosage du Cholestérol et des Triglycérides

Le cholestérol (CHOL), les triglycérides (TG) ont été évalués dans sérum à l'aide d'un kit enzymatique spectrophotométrique enzymatique disponible dans le commerce (Thermo Trace-BECGMAN, Allemagne) avec un autoanalyseur (Bayer ope-RA) (Wadaan, 2009 ; Uzunhisarcikli *et al.*, 2015).

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le GPO. Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge



3.2.7. Dosage de l'Albumine et de la Bilirubine

Les concentrations de bilirubine, ont été déterminées par automate (Synchrom CX9 PRO Beckmancoulter) (Dardouri *et al.*, 2016). L'albumine a été évalué dans le sérum à l'aide d'un kit enzymatique spectrophotométrique disponible dans le commerce (Thermo Trace-BECGMAN, Allemagne) avec un autoanalyseur (Bayer ope-RA). (Uzunhisarcikli *et al.*, 2015).

Mesure de l'albumine L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé. (Gendler *et al.*, 1984).

Mesure de bilirubine La bilirubine totale est déterminée à l'aide d'une approche d'étalonnage multipoint et en utilisant le matériel de référence standard no 916 de la Bilirubine du Bureau national des normes. Les solutions de calibration de la bilirubine préparées dans des solutions d'albumine humaine Cohn Fraction V sont stables pendant au moins un an lorsqu'elles sont stockées à -80 ± 176 C. Des études pour l'analyse directe de la bilirubine montrent que l'échantillon sérique doit être pré incubé avec le réactif HCl avant d'ajouter le diazo afin de minimiser la fausse réaction avec la bilirubine non conjuguée. Avec une pré-incubation de 15 mm et un intervalle de réaction de 15 millimètres, une norme de bilirubine non conjuguée de 250 mg/L n'a donné que 1 mg de bilirubine conjuguée apparente par litre. (Garber, 1981).

3.3.Le stress oxydatif

Matériels

Animal

Des rats mâles et femelles pesant (100-200g) de souche *Albinos Wistar* (Jagadasean *et al.*, 2007 ; Baharathi *et al.*, 2014 ; Othman *et al.*, 2014 ; Liu *et al.*, 2016), et de souche *Charles Foster* (Pal et Gosh, 2012). Les contrôles environnementaux de la salle des animaux ont été maintenus 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité, une température contrôlée de 21-24°C et une humidité relative de 30-40%. Tous les rats et ont reçu une alimentation équilibrée et de l'eau ad libitum les régimes étaient adéquats en tous les nutriments (Pal et Gosh, 2012 ; Liu *et al.*, 2016). L'expérimentation animale a été réalisée sous la supervision du Comité d'éthique des animaux institutionnels (IAEC) du RMMCH, Université Annamalai (Jagadasean *et al.*, 2007) et par le comité institutionnel d'éthique animale du Rajah Muthiah Medical College and Hospital (numéro d'enregistrement 160/1999/CPCSEA, numéro de proposition : 954), Université Annamalai, Annamalainagar (Baharati *et al.*, 2014). Les animaux (rats) sont répartis en 2 groupes : groupe témoin et groupe traité au Hg.

Les produits chimiques

Le chlorure mercurique ($HgCl_2$) a été achetés auprès des laboratoires Hi-Media Ltd, Mumbai, Inde (Baharati *et al.*, 2014) et chez Sigma (St. Louis, MO, États-Unis). (Othman *et al.*, 2014). L'étalon $MeHgCl$ a été acheté auprès de Sigma-Aldrich Chemicals Co., St. Luis, USA (Pal et Gosh, 2012).

Les kits d'analyse de la SOD, de la GPx et de la MDA ont été fournis par le Jiancheng Bio-engineering Jiancheng Bio-engineering Institute (Nanjing, Chine) (Liu *et al.*, 2016)

L'acide nitrique, acide sulfurique, permanganate de potassium saturé, d'hydroxylamine à 50 %, alcool déshydraté, chlorure stanneux à 20 % (Liu *et al.*, 2016), NaCl à 0,9% (Baharati *et al.*, 2014) et l'huile de tournesol (Pal et Gosh, 2012).

Matériels utilisés

Spectrométrie de fluorescence atomique

Méthodes

3.3.1.Prélèvement d'échantillon

24 heures après la dernière administration, les animaux ont été euthanasiés sous une légère anesthésie à l'éther, suivie d'une décapitation rapide pour tous les groupes. (Othman *et al.*, 2014), 100 mg de foie ont subi une digestion par l'acide nitrique pendant une période de 12 jours afin de déterminer les niveaux de Hg. Les échantillons de foie restants ont été préparés en homogénats à 5 % ou 10 % pour l'évaluation des taux de paramètre de stress oxydatif (MDA, SOD et GPx) (Liu *et al.*, 2016).

Tableau 4.Tableau récapitulatif des paramètres de stress oxydatif analysé

| Référence | Echantillon | Dose | Durée | Type de Hg | Paramètres de stress oxydatif | Voie d'administration |
|---------------------------------|---|---|----------|---------------------|-------------------------------|-------------------------|
| Jagadaseean et al., 2007 | Des <u>rats</u> femelles adultes (200 ±5g) | 2mg/Kg | 30 jours | HgCl ₂ | LPO, GPx, CAT | 1/ jours par voie orale |
| Pal et Gosh, 2012 | 12 Albinos males souche <i>charlesFoster</i> (100-130g) | 5mg/kgDissous dans l'huile de tournesol | 15 jours | MeHgCl ₂ | LPO, SOD, CAT, GPx, GSH | 1/ jours par voie orale |

| | | | | | | |
|-------------------------------|--|-----------|---------|-------------------|-------------------------|--|
| (Baharati et al., 2014 | 12 <i>Albinos</i> males rats (150-200g) | 1,23mg/kg | 7 jours | HgCl ₂ | LPO, SOD, GSH, GPx, CAT | 1/ jours par voie intrapéritonéal (ip) |
| Othman et al., 2014 | 14 rats <i>Wistar Albinos</i> (120-150g) | 0,4mg/kg | 7 jours | HgCl ₂ | LPO, SOD, CAT, GPx, GSH | 1/ jours par voie orale |
| Liu et al., 2016 | 28 Rats <i>Wistar</i> mâles et femelles (160-180g) | 0,4mg/kg | 3 jours | HgCl ₂ | GPx, SOD, MDA | 1/ jours par voie intrapéritonéal (ip) |

3.3.2.Détermination de l'activité du Glutathion (GSH)

La méthode de Beutler et Kelley a été utilisée pour estimer le niveau de glutathion réduit dans les tissus hépatiques. Un poids précis de tissu a été homogénéisé dans un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,0) puis centrifugé à 2 500 tr/min pendant 5 minutes. Environ 0,2 ml de l'échantillon (la phase supérieure) a été prélevé dans un tube à essai propre, auquel 1,8 ml de solution d'EDTA ont été ajoutés. Ensuite, 3,0 ml de réactif précipitant ont été ajoutés, soigneusement mélangés et laissés reposer pendant 5 minutes avant d'être centrifugés à 3 000 tr/min pendant 10 min.

Dans un tube à essai propre, 2,0 ml du mélange ont été prélevés, auquel ont été ajoutés 4,0 ml de solution de dihydrogénophosphate disodique 0,3 M et 1,0 ml de réactif DTNB. La couleur jaune formée a été mesurée à une longueur d'onde de 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Spectronic-20, Bausch et Lomb). Un jeu de solutions étalons, contenant de 20 à 100 µg de glutathion réduit, a été traité de la même manière. Les résultats sont exprimés en µg pour 100 mg de protéines (Baharathi *et al.*, 2014).

3.3.3.dosage de l'activité du Glutathion peroxydase (GPx)

Selon la méthode de Liu *et al.*, (2016), l'activité de la GPx dans le foie a été mesurée à l'aide de kits d'analyse, suivant les instructions du fabricant. Cette mesure repose sur le principe selon lequel la GPx catalyse l'oxydation du glutathion par l'Hydroperoxyde de cumène. En présence de glutathion réductase et de phosphate de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH), le glutathion oxydé peut immédiatement se convertir en forme réduite, avec une concomitante oxydation du NADPH en NADP⁺.

L'absorbance a été enregistrée à 340 nm, en utilisant un kit de dosage spectrophotométrique de type 722 (limites de détection : 330-800 nm ; plage de mesure de l'absorbance : 0-1.999A). Les valeurs ont été exprimées en unités par milligramme de protéine.

3.3.4. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

La détermination de l'activité SOD basée sur la génération de radicaux superoxydes produits par la xanthine et la xanthine oxydase, qui réagit avec le chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophénol)-5- phényltétrazolium pour former un colorant formazan rouge. L'activité de la SOD a été estimée par le degré d'inhibition de la réaction (Liu *et al.*, 2016).

Jagadaseean *et al.*, (2007) et Baharati *et al.*, (2014) ont utilisé la méthode de Kakkar *et al.*, (1984), qui consiste à homogénéiser un tissu hépatique avec 2,0 ml de solution de saccharose 0,25 M et le contenu a été centrifugé à 10 000 tr/min pendant 30 min dans une centrifugeuse froide. Après avoir terminé la centrifugation, le surnageant a été prélevé dans un tube à essai propre et le contenu a été dialysé contre le tampon Tris-HCl, puis mélangé soigneusement le contenu. Le contenu a été à nouveau centrifugé à 3 000 tr/min pendant 15 min. Le surnageant a été prélevé dans un tube à essai propre puis 1,2 ml de tampon pyrophosphate de sodium, 0,1 ml de méthosulfate de phénazine et 0,3 ml de réactifs nitro-blue-tétrazolium ont été ajoutés. Le mélange d'échantillons (préparation enzymatique) a été conservé dans un bain-marie à 30 ° C pendant 90 secondes et la préparation enzymatique diluée de manière appropriée dans un volume total de 3 ml avec de l'eau distillée. La réaction a été déclenchée par l'ajout de 0,2 ml de NADH. Après avoir terminé la période d'incubation, la réaction a été arrêtée par l'ajout de 1 ml d'acide acétique glacial. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et secoué avec 4 ml de n-butanol. Le mélange a été laissé au repos pendant 10 minutes, puis le contenu a été centrifugé à 3 000 tr/min pendant 5 minutes et la couche de n-butanol a été séparée. La densité de couleur du chromogène dans le n-butanol a été mesurée dans un spectrophotomètre UV à 510 nm. Un système dépourvu d'enzyme a servi

de contrôle. La concentration en enzyme requise pour inhiber le chromogène produit de 50 % en 1 minute dans des conditions standard a été prise comme une unité. L'activité spécifique de l'enzyme a été exprimée en unité/min/mg de protéine pour les tissus.

3.3.5. Dosage des Hydroperoxyde lipidique ou Lipoperoxydes (LPO)

La peroxydation lipidique est un mécanisme chimique capable de perturber la structure et le fonctionnement des membranes biologiques, résultant de l'attaque des radicaux libres sur les lipides (Jagadaseen *et al.*, 2007).

Pour la mesure du peroxyde lipidique, environ 1 g de tissu (foie) a été placé dans un tube à centrifuger en verre (70 ml) pendant 2 min dans un mélange de solvants constitué de 10 ml de chloroforme et 20 ml de méthanol, et homogénéisé sur glace. Ensuite, 10 ml de chloroforme ont été ajoutés et l'homogénéisation a été poursuivie pendant une autre période (30 s). Enfin, 10 ml d'eau redistillée ont été ajoutés et le mélange a été homogénéisé pendant 30 s. Les tubes ont ensuite été centrifugés pendant 20 min à 4 000 g et la couche de chloroforme a été séparée dans une ampoule à décanter. Un test TBA en phase chloroforme issu d'une extraction de Bligh et Dyer, (1959) a été réalisée selon la méthode décrite par Schmedes et Holmer (1989). Le chloroforme (2,5 ml) provenant de l'extraction de Bligh et Dyer a été pipeté dans un tube de culture en verre auto-clavable de 30 ml (Kimax ; Kimble/Kontes, Vineland, NJ) ayant un bouchon à vis doublé de téflon ; 4 ml du réactif TBA ont été ajoutés et le tube était bien bouché. Les tubes protégés par la sécurité ont été chauffés pendant 30 minutes dans bain-marie et refroidi dans l'eau du robinet. Après refroidissement, 3,5 ml d'acide trichloracétique à 5 % (TCA) a été ajouté à chaque tube, soigneusement mélangé, puis les tubes ont été centrifugés à 3000g (Pal et Gosh, 2012).

3.3.6. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est un indicateur de stress oxydatif résultant de la dégradation des lipides de la membrane cellulaire. Elle est mesurée par la production de peroxyde lipidique, qui réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un composé chromogène rose.

Un homogénat de foie à 10% a été mélangé avec le mélange réactionnel composé de 0,1Mice-cold PBS et 0,1M de chlorure ferreux dans un volume total de 1,0 ml (pH 7,4). La réaction a ensuite été stoppée par 1,0 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10 %, suivi de 1,0 ml d'acide trichloracétique à 0,5 %, suivi de 1,0 ml de TBA à 0,67%. Après centrifugation à 2500 tours pendant 10 min, la quantité de MDA dans les lysats cellulaires a été déterminée

par l'absorbance des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) à 530 nm dans un spectrophotomètre à microplaques Wallac 1420 (Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA). Le contenu cellulaire en MDA cellulaire a été calculée à l'aide d'une courbe standard concomitante. Les valeurs ont été exprimées en nanomoles par milligramme de protéine et normalisées par rapport au groupe témoin (Lui *et al.*, 2016).

3.3.7. Dosage de la Catalase (CAT)

Selon Baharathi *et al.*, (2014), L'activité de la catalase dans le tissu hépatique a été mesurée en utilisant la méthode de Sinha, (1972). Pour cela, un homogénat tissulaire a été préparé en utilisant un tampon phosphate (0,01 M, pH 7,0). Dans un tube à essai propre, on a ajouté 0,9 ml de tampon phosphate, 0,1 ml d'homogénat tissulaire et 0,4 ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La réaction a été stoppée après 15, 30, 45 et 60 secondes en ajoutant 2,0 ml d'un mélange d'acide acétique dichromate. Ensuite, les tubes ont été placés dans un bain-marie bouillant pendant 10 minutes, puis refroidis à l'aide d'eau courante du robinet. La couleur développée a été mesurée à 620 nm dans un spectrophotomètre UV. Des étalons dans la plage de concentration de 20 à 100 µmol ont été utilisés comme référence. L'activité spécifique a été exprimée en µmol de H₂O₂ consommée par minute/mg de protéine pour les tissus.

3.4. Etude histologique

Matériels

Animaux

Des rats mâles et femelles de souche *albinos Wistar*, pesant 200 à 250g, ont été obtenus auprès du Centre de recherche et d'application sur les animaux expérimentaux de l'Université Atatürk (Yahyazedeh *et al.*, 2017). Les animaux ont été maintenus à 22 ± 2 °C avec une humidité optimale et un cycle de lumière de 12 h obscurité de 12 h. Les rats avaient accès à de la nourriture et à de l'eau à volonté (Sheikh *et al.*, 2011 ; Yahyazedeh *et al.*, 2017).

Produit chimique

Le mercure a été obtenu sous forme de chlorure mercurique Dom MerckIndia 144 (Mumbai Inde) (Sheikh *et al.*, 2011).

Paraffine – formol à 10%- alcool – xylène - l'hématoxyline et l'éosine – éther –

2 à 3 % de sévoflurane (Sevorane® Liquid 250 ml ; Abbott, Istanbul, Turquie) (Yahyazedeh *et al.*, 2017).

Tableau 5 .Tableau récapitulatif des différents études histologiques réalisées

| Références | Animal | Dose | Durée | Type de Hg | Voie d'administration |
|--|--|------------------------------|------------|-------------------|--|
| Sheikh <i>et al.</i>, 2011 | 40 rats <i>Wistar</i> âgées (5-7 semaines) | 2mg/kg 4mg/kg 8mg/kg | 4 semaines | HgCl ₂ | 1/jour par voie orale dissous dans H ₂ O distillé |
| Necib <i>et al.</i>, 2013 | 16 rats males âgées <i>Albinos Wistar</i> (8semaines) (200g) | 0,25mg/kg | 3 semaines | HgCl ₂ | 1/jour par injection intrapéritonéale |
| Trebucobich <i>et al.</i>, 2014 | Des rats mâles <i>Wistar</i> âgés de 110 à 130 jours | 4mg/kg | 18 heures | HgCl ₂ | 1/jour par injection intrapéritonéale |
| Yahyazedeh <i>et al.</i>, 2017 | 12 rats <i>Albinos Wistar</i> femelles âgées 10à12 semaine(200g) | 1mg/m ³ /jours | 45 jours | Vapeurs de Hg | 1/jour par inhalation |
| Hosseini <i>et al.</i>, 2018 | 12 rats adultes males <i>Wistar</i> (220-250g) | 5mg/kg | 3jours | HgCl ₂ | 1/jour par voie intrapéritonéale |

Méthodes

3.4.1.Prélèvement des échantillons

Vingt-quatre heures après l'administration finale de Hg, tous les rats ont été anesthésiés soit par inhalation de 2 à 3 % de sévoflurane (Yahyazedeh *et al.*, 2017) ou avec du thiopental de sodium (70 mg/kg de poids corporel) (Trebucobich *et al.*, 2014) ou par l'éther (Hosseini *et al.*, 2018). Ensuite, les rats ont été décapités et le foie retiré.

L'étude histologique a été faite selon la méthode d'hématoxyline & éosine (H & E) selon les étapes suivantes :

Fixation

Après le sacrifice, le foie des animaux autopsiés a été excisé et fixé dans du formol (10 %) pendant au moins 24 heures (Hosseini *et al.*, 2018).

Déshydratation

Les échantillons de foie ont été déshydratés par une série ascendante d'alcools, clarifiés trois fois dans du xylène (Yahyazedeh *et al.*, 2017).

Inclusion

Les échantillons incorporés dans la paraffine. Les coupes de microscopie optique ont été coupées à 5 μm à l'aide d'un microtome rotatif (Necib *et al.*, 2013 ; Yahyazedeh *et al.*, 2017 ; Hosseini *et al.*, 2018).

Coloration et observation

Les coupes ont été placées sur des lames de verre et colorées à l'hématoxyline et à l'éosine pour la microscopie optique.

3.5. Etude Statistique

Dans l'étude menée par Yahyazedeh *et al.* (2017), les données ont été analysées à l'aide du test statistique de Mann Whitney-U à l'aide du logiciel SPSS. Les données ont été exprimées en médianes \pm erreur standard de la moyenne (SEM), et les valeurs de $p \leq 0,05$ ont été considérées comme significatives. En revanche, dans l'étude de Jagadaseen, les données biochimiques ont été analysées à l'aide de logiciel SPSS, et ont été exprimées en moyennes \pm SEM. Les tests ANOVA et post hoc de Tukey ont été utilisés pour les comparaisons entre les groupes, avec un seuil de $p < 0,05$ défini comme statistiquement significatif. En ce qui concerne l'étude de Cagalyan *et al.* (2019), une analyse ANOVA a également été utilisée pour comparer les groupes traités au groupe témoin, avec un seuil de $p \leq 0,05$ considéré comme significatif. De même, dans l'étude de Houem *et al.* (2013), une analyse ANOVA a été réalisée

pour comparer les groupes traités au groupe témoin, avec un seuil de $p \leq 0,05$ considéré comme significatif. En cas de différences significatives, le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour analyser les données histopathologiques semi-quantitatives, et si des différences significatives étaient révélées, le test de Mann Whitney U était utilisé pour les comparaisons bilatérales.

Chapitre 4

Résultats et Discussions

4.1.Evaluation de l'effet de Hg sur les paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques ont été étudiés pour évaluer les changements dans la fonction hépatique. Cette dernière a été évaluée en mesurant l'activité sérique de l'ALT, de la AST, PAL, LDH, Albumine, la Bilirubine, le cholestérol et triglycérides.

4.1.1.Activité de l'aspartate aminotransfère (AST/ TGO) et de l'alanine aminotransfère (ALT/TGP).

D'après les résultats (tableau 6 et 7), le Hg semble avoir un effet sur l'activité d'AST et d'ALT. On note une augmentation de la concentration de l'AST/ALT chez les groupes traités par HgCl₂ par rapport le groupe témoin.

Tableau 6.Effet du HgCl₂ sur l'activité d'ALT chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité par HgCl ₂ | Dose Durée | Références |
|------------|--------------------|-------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| ALT | 42.27±6.12 ul/L | 69.77± 2.54 ul/L | 20ppm 8 semaines | (Wadaan, 2009) |
| | 49.0 ± 1.2 (U/L) | 55.5 ± 2.0 (U/L) | 80 mg/l 4 semaines | (Haouem <i>et al.</i> , 2013) |
| | 62.8 ± 6.8 (U/L) | 101.0 ± 5.3 (U/L) | 1mg/k 4 semaines | (Uzunhisarcikli <i>et al.</i> ,2015) |
| | 45.00 IU/L | 55.00 IU/L | 25mg/l 10 semaines | (Dardouri <i>et al.</i> , 2016) |
| | 66.51 ± 1.46 (U/L) | 167.63 ± 2.05 (U/L) | 1,23mg/kg 7 jours | (Cagalayan <i>et al.</i> , 2019) |

Tableau 7 .Effet du HgCl₂ sur l'activité d'AST chez les groupes témoins et les traités chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité par HgCl ₂ | Dose Durée | Références |
|------------|--------------------|-------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| AST | 167.00± 8.66 ul/L | 191.00± 1.41 ul/L | 20ppm 8 semaines | (Wadaan, 2009) |
| | 101.05 ± 9.9 (U/L) | 109.3 ± 6.6 (U/L) | 80 mg/l 4 semaines | (Haouem <i>et al.</i> , 2013) |
| | 151.0 ± 7.9 (U/L) | 219.5 ± 6.9 (U/L) | 1mg/k 4 semaines | (Uzunhisarcikli <i>et al.</i> ,2015) |
| | 110.00 IU/L | 140.00 IU/L | 25mg/l 10 semaines | (Dardouri <i>et al.</i> , 2016) |
| | 56.67 ± 0.94 (U/L) | 138.55 ± 1.58 (U/L) | 1,23mg/kg 7 jours | (Cagalayan <i>et al.</i> , 2019) |

4.1.2. Activité de la phosphatase alcaline (PAL)

Les résultats obtenus dans le tableau (8) montrent que les études de Uzunhisarcikli *et al.*(2015) et Cagalayan *et al.*(2019) ont enregistré une augmentation de l'activité de la PAL chez les groupes traités par HgCl₂ par rapport au groupe témoin. Tandis que, les travaux de Wadaan,(2009) ; Haouem *et al.* (2013), une diminution de ce paramètre a été observée chez les rats traités par rapport aux rats témoins.

Tableau 8.Effet du HgCl₂ sur l'activité de PAL chez les rats.

| Paramètre | Groupe témoin | Groupe traité | Dose Durée | Référence |
|-----------|--------------------|-------------------|-----------------------|-------------------------------|
| PAL | 323.00± 2.65 ul/L | 83.5± 0.28 ul/L | 20ppm 8 semaines | (Wadaan,2009) |
| | 307.30 ± 7.9 (U/L) | 284.5 ± 1.5 (U/L) | 80 mg/l 4 semaines | (Haouem <i>et al.</i> , 2013) |

| | | | | |
|--|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 145.0 + 8.6 (U/L) | 224.3 ± 10.1 (U/L) | 1mg/kg 4 semaines | (Uzunhisarcikli <i>et al.</i> ,2015) |
| | 36.94 ± 0.82 (U/L) | 109.79 ± 2.32 (U/L) | 1,23mg/kg 7 jours | (Cagalayan <i>et al.</i> ,2019) |

4.1.3. Activité du lactate déshydrogénase (LDH)

Les travaux effectués par Uzunhisarcikli *et al.*,(2015), Dardouri *et al.*,(2016), ont indiqués que l'activité du LDH, un indicateur de la fonction hépatique a été augmenté chez les groupes traités par HgCl₂ en comparaison au groupe témoin.

Tableau 9 .Effet du HgCl₂ sur l'activité du LDH chez les rats.

| Paramètre | Groupe témoin | Groupe traité | Dose Durée | Référence |
|------------|-------------------|------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| LDH | 1736.8 ± 79.1 U/L | 2963.0 ± 98.3U/L | 1mg/kg 4 semaines | (Uzunhisarcikli <i>et al.</i> ,2015) |
| | 653.57 U/L | 871.42 U/L | 25mg/l 10 semaines | (Dardouri <i>et al.</i> ,2016) |

4.1.4. Taux de la Bilirubine

Le traitement des rats par HgCl₂a induit une augmentation de taux de la bilirubine(Wadaan, 2009). Alors que l'étude de Dardouri *et al.*(2016) des changements non significatifs ont été observés dans le taux sérique de ce paramètre par rapport au groupe témoin(Tableau 10).

4.1.5. Taux de Albumine

Selon Uzunhisarcikli *et al.*(2015) Il y a eu une diminution statistiquement significative du taux d'albumine (Tableau10).

Tableau 10.Effet du HgCl₂ sur le taux de la bilirubine et de l'albumine chez les rats.

| Paramètre | Groupe témoin | Groupe traité | Dose Durée | Référence |
|-------------------|-----------------|------------------|----------------------|--------------------------------------|
| Bilirubine | 1.85±0.53 mg/dl | 2.54± 0.62 mg/dl | 20ppm 8 semaines | (Wadaan,2009) |
| | 3.8 ± 0.2 g/dl | 2.5 ± 0.2 g/dl | 1mg/kg 4 semaines | (Uzunhisarcikli <i>et al.</i> ,2015) |

| | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------------------|-------------------------------|
| Albumine | 2.083 U/L | 2.001 U/L | 25mg/l 10 semaines | (Dardouri et al.,2016) |
|-----------------|-----------|-----------|-----------------------|-------------------------------|

4.1.6.Taux du cholestérol et des triglycérides

Selon Wadaan, (2009), Uzunhisarcikli *et al.*, (2015), Il y a une diminution statistiquement significative des taux de cholestérol total et de triglycérides en Comparaison avec le groupe témoin (Tableau 10).

Tableau 11.Effet du HgCl₂ sur le taux du cholestérol et des TG chez les rats.

| Paramètre | Groupe témoin | Groupe traité | Dose Durée | Référence |
|--------------------|-----------------------|----------------------|---------------|-------------------------------------|
| Cholestérol | 101.67± 3.79 mg/dl | 89.24± 4.31 mg/dl | 20ppm | (Wadaan,2009) |
| TG | 112.67± 8.08 mg/dl | 92.68± 5.84 mg/dl | 8 semaines | |
| Cholestérol | 83.0 ± 4.1 mg/dl | 47.5 ±3.2 mg/dl | 1mg/kg | (Uzunhisarcikli et al.,2015) |
| TG | 128.8 ± 10.2 mg/dl | 77.3 ± 7.5 mg/dl | 4 semaines | |

4.1.7. Discussion

Le mercure est l'un des métaux les plus dangereux et les plus toxiques parmi les métaux polluants (Al-Othman *et al.*, 2011 ; Nabi *et al.*, 2010, 2011). Il est très nocif pour les végétaux et les animaux, a une demi-vie très longue et est très persistant dans l'environnement. Le mercure inorganique entraîne des dommages importants aux tissus humains et animaux (Agarwal *et al.*, 2010), ce qui en fait un polluant environnemental majeur.

Le HgCl₂ est principalement un polluant néphrotoxique (Merzoug *et al.*, 2009). La plupart des études relatives à la toxicité Hg ont été menées dans les reins (Aslanturk *et al.*,2014; Joshi et al. 2014). Cependant, peu d'études ont été menées sur le foie (Mohamed *et al.*, 2010).Selon Merzoug *et al.*(2009) la néphrotoxicité causée par le HgCl₂ précoce pourrait accentuer le déséquilibre biochimique et accélérer l'hépatotoxicité.

-Activité des Transaminases

Selon Anuradha et Krishnamoorthy (2012), les métaux lourds ont la capacité d'exercer leurs effets cytotoxiques en altérant les membranes cellulaires. Quand la membrane plasmatisque des hépatocytes est altérée, différentes enzymes habituellement présentes dans le cytosol sont libérées dans le sang. Ainsi, on surveille principalement les enzymes sériques,

ALT, AST, PAL et LDH afin d'évaluer la dysfonction hépatique et les dommages, comme le confirment Cagalayan *et al.*, (2019) et Uzunhisarcikli *et al.*, (2015). En effet, même avec une dose faible de HgCl₂ (1 mg/kg), on peut constater des modifications pathologiques dans le foie du rat.

-AST / ALT

Les études réalisées par Haouem *et al.* (2013) ; Uzunhisarcikli *et al.* (2015) et Cagalayan *et al.*(2019) confirme que l'administration du HgCl₂ entraîne une augmentation significative des niveaux de activités sériques AST, ALT indiquant une lésion hépatique due à la fuite de ces enzymes du cytosol du foie dans la circulation sanguine et/ou à une dysfonction hépatique et à une perturbation de la biosynthèse de ces enzymes avec une altération de la perméabilité de la membrane des cellules hépatiques. En outre, selon Wadaan,(2009) et Dardouri *et al.*(2016), une hausse de ces enzymes peut être due à la nécrose cellulaire des hépatocytes, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité de la cellule ce qui suggère que nos résultats sont en accord avec d'autres études (El-Demerdash, 2001, Reus *et al.*, 2003, Sharma *et al.*, 2002).

-PAL

Les résultats de l'étude de Uzunhisarcikli *et al.* (2015) ;Cagalayan *et al.* (2019)ont montré que le traitement par HgCl₂ a entraîné une augmentation de l'activité des PAL dans le sérum des rats. Ce pourrait être dû à une éventuelle libération de ces enzymes du cytoplasme, dans la circulation sanguine suite à une altération de la perméabilité de la membrane des cellules hépatiques ce qui conduit à un dysfonctionnement hépatique. Ceci est cohérent avec les altérations histopathologiques du tissu hépatique des rats traités par HgCl₂. D'autre part, selon Haouem *et al.* (2013), la diminution de l'activité de PAL peut être due à des perturbations dans l'équilibre entre la synthèse et la dégradation des enzymes, tandis que Wadaan, (2009), montre que la diminution du taux de PAL sérique indique qu'il n'y a pas de congestion ou de cholestase, ces résultats sont en accord avec d'autres études El-Demerdash, 2001 ; Reus *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2002), peuvent être utilisés ce paramètre comme potentiels biomarqueurs enzymatiques pour l'hépatotoxicose induite par le mercure qui affecte finalement la santé générale en altérant l'intégrité fonctionnelle et structurelle du foie.

Sastry et Sharma (1980) ont rapporté que l'activité de l'ALP diminuait en cas d'exposition aiguë à HgCl, et augmentait dans l'exposition chronique à HgCl.

LDH

LDH est un indice des dommages cellulaires, y compris l'hépatotoxicité et la perturbation endothéliale dans les vaisseaux sanguins. Dans la plupart des études, l'activité de LDH a été augmentée chez les rats exposés au Hg.

Ce résultat suggère le début de la cytolyse, qui est une indication possible de lésions de membrane, y compris les membranes endothéliales dans les vaisseaux sanguins. Cette perturbation de la membrane endothéliale, directement ou indirectement, induit la génération d'espèces d'oxygène réactives dans les cellules endothéliales (Dardouri *et al.*,2016). On a vu d'autres résultats de Uzunhisarcikli *et al.* (2015). ont montré que le traitement par HgCl₂ a entraîné une augmentation de l'activité de LDH dans le sérum des rats. L'augmentation de l'activité enzymatique peut être due à la fuite de ces enzymes du cytosol du foie dans la circulation sanguine et/ou à une dysfonction hépatique et à une perturbation de la biosynthèse de ces enzymes avec une altération de la perméabilité de la membrane des cellules hépatiques. Ceci est cohérent avec les altérations histopathologiques du tissu hépatique des rats traités par HgCl₂.

Bilirubine

Le taux de la bilirubine (Bil) sérique a été augmenté chez les rats intoxiqués au mercure en comparaison avec les témoins (Wadaan,2009) , La bilirubine est le produit de la dégradation de l'hème, elle est conjuguée par les cellules du parenchyme hépatique, et puis excrétée dans la bile. En cas de toxicité hépatique. L'augmentation de la concentration sérique totale de bilirubine peut être attribuée à un échec de l'absorption, de la conjugaison et de l'excrétion normale en raison d'une lésion de parenchyme hépatique.(Singh *et al.*,2007).

Albumine

L'albumine, qui est la protéine du plasma sanguin la plus abondante, est synthétisée par le foie. La majorité des drogues ou des produits chimiques sont transportés ou liés par l'albumine. Selon l'étude menée par Uzunhisarcikli *et al.* (2015), les rats traités par HgCl₂ ont observé une baisse de l'albumine. Selon cette étude, l'exposition au HgCl₂ peut avoir un impact sur la production et/ou le métabolisme des protéines dans le foie. En outre, Mohamed *et al.* (2010) ont rapporté que la diminution du niveau d'albumine pourrait être une conséquence de l'impact du Hg sur la molécule d'albumine, puisque l'albumine possède un

groupe sulfhydrylique libre sur un résidu cysteinyl terminal auquel les ions de mercure peuvent se lier.

Cholestérol/TG

Les triglycérides sont des graisses qui fournissent à la cellule son énergie. Tout comme le cholestérol, ils sont transportés vers les cellules de l'organisme par les lipoprotéines du sang. Un régime fort en graisses saturés ou en carbohydrates peut élever les niveaux de triglycérides. Leur augmentation est relativement neutre. Diverses maladies, telles que certaines dysfonctions hépatiques (cirrhose, hépatite, obstruction biliaire) ou diabète mellitus, peuvent être associées à des hausses de triglycérides (Kaplan *et al.*, 1984).

D'après les études, nous avons constaté une diminution du taux du cholestérol et des triglycérides chez les rats traités par HgCl₂ avec la présence de lésion hépatique, comme mentionné précédemment par Wadaan, (2009) ; Uzunhisarcikli *et al.* (2016). Le taux de cholestérol est un déterminant majeur qui affecte la fluidité des membranes. De plus, l'alimentation en cholestérol peut modifier le statut antioxydant. Ainsi, la formation d'une stéatose des lipides gras après une administration aiguë de mercure est principalement due à l'accumulation des triglycérides.

4.2. Evaluation de l'effet du Hg sur les stress oxydant

Les paramètres du stress oxydant ont été mesurés pour observer les changements de l'activité des antioxydants de la cellule hépatique. Parmi les paramètres évalués sont la GPx, CAT, SOD, GSH et MDA.

4.2.1. Evaluation de l'activité enzymatique du glutathion peroxidase (GPx), de la catalase (CAT) et du superoxyde dismutase (SOD) :

La GPx, la CAT et la SOD ont été déterminées comme deux enzymes antioxydants endogènes importantes dans le foie.

D'après les résultats (tableau 12, 13 et 14), le Hg semble avoir un effet sur l'activité GPx, de la CAT et de la SOD. On note une diminution de la concentration de ses enzymes chez les groupes traités par HgCl₂ par rapport au groupe témoin dans tous les travaux mentionnés dans le tableau.

Tableau 12. Effet du HgCl₂ sur l'activité de la GPx chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité | Dose | Références |
|-------------------|----------------------|----------------------|-------------|-------------------|
| | | | | |

| | | par HgCl ₂ | Durée | |
|------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|--|
| GPx | 0.187±0.01 (μmoles/mg /min) | 0.104±0.01 (μmoles/mg /min) | 2mg/kg 30jours | (Jagadaseean <i>et al.</i>, 2007) |
| | 0.38±0.05 U/mg | 0.26±0.01 U/mg | 5mg/kg 15jours | (Pal et Gosh, 2012) |
| | 6.935±0.32mol / min/mg | 2.615±3.608 mol / min/mg | 1,23mg/kg 7jours | (Baharati <i>et al.</i>, 2014) |
| | 0.95±0.04 (U/mg) | 0.66±0.06 (U/mg) | 0,4mg/kg 7jours | (Othman <i>et al.</i>, 2014) |
| | 1100U/mg | 850U/mg 700U/mg 500U/mg | 0.6mg/kg 1.2mg/kg 2.4mg/kg | (Liu <i>et al.</i>, 2016) |

Tableau 13. Effet du HgCl₂ sur l'activité de la CAT chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité par HgCl ₂ | Dose Durée | Références |
|------------|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------|--|
| CAT | 76.491±0.64 (μmoles/mg /min) | 41.398±0.47 (μmoles/mg /min) | 2mg/kg 30jours | (Jagadaseean <i>et al.</i>, 2007) |
| | 1.41±0.25 U/mg | 0.98±0.11 U/mg | 5mg/kg 15jours | (Pal et Gosh, 2012) |
| | 49.20±2.29 | 27.89±1.89 | 1,23mg/kg | (Baharati <i>et al.</i>, 2014) |

| | | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|----------|-------------------------------|
| | (μ moles/mg/min) | (μ moles/mg/min) | 7jours | |
| | 0.082 \pm 0.01 | 0.071 \pm 0.003 | 0,4mg/kg | (Othman <i>et al.</i> , 2014) |
| | U/mg | U/mg | 7jours | |

Tableau 14 .Effet du HgCl₂ sur l'activité de la SOD chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité par HgCl ₂ | Dose Durée | Références |
|------------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| SOD | 10.14 \pm 0.84 U/mg | 5.40 \pm 0.93 U/mg | 5mg/kg 15jours | (Pal et Gosh, 2012) |
| | 2.061 \pm 0.35 U/mg/min | 1.379 \pm 0.41 U/mg/min | 1,23mg/kg 7jours | (Baharati <i>et al.</i> , 2014) |
| | 1237.9 \pm 52.6 U/mg | 1112.1 \pm 48.7 U/mg | 0,4mg/kg 7jours | (Othman <i>et al.</i> , 2014) |
| | 115 U/mg | 95 U/mg 80 U/mg 60 U/mg | 0.6mg/kg 1.2mg/kg 2.4mg/kg | (Liu <i>et al.</i> , 2016) |

4.2.2.Evaluation du taux du glutathion (GSH)

Les résultats obtenus dans le tableau (15) montrent que les études de Pal et Gosh, (2012) ; Baharati *et al.*, (2014) ; Othman *et al.*, (2014) ont enregistré une augmentation de l'activité de la GSH chez les groupes traités par HgCl₂ par rapport au groupe témoin.

Tableau 15.Effet du HgCl₂ sur le taux du GSH chez les groupes témoins et les traités chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité par HgCl ₂ | Dose Durée | Références |
|------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| GSH | 175.26 ± 3.34 µg/mg | 80.61 ± 5.0 µg/mg | 5mg/kg 15jrs | (Pal et Gosh, 2012) |
| | 63.29±12.7 µg/mg | 29.51±10.33 µg/mg | 1,23mg/kg 7jrs | (Baharathi <i>et al.</i> , 2014) |
| | 0.030±0.002 mmol/mg | 0.021±0.003 mmol/mg | 0,4mg/kg 7jrs | (Othman <i>et al.</i> , 2014) |

4.2.3.Evaluation de la valeur de LPO et MDA

L'administration de MeHgCl₂ (Pal et Gosh, 2012) et HgCl₂ a augmenté la peroxydation lipidique (LPO) significativement dans le foie par rapport à leur contrôle respectif (Jagadaseean *et al.*, 2007 ; Baharathi *et al.*, 2014 ; Othman *et al.*, 2014 ; Liu *et al.*, 2016).

Les teneurs en MDA ont été mesurées comme une production représentative de peroxydation lipidique dans le foie. Le niveau de MDA après l'exposition au HgCl₂ dans l'étude de Liu *et al.*, (2016) a augmenté de manière évidente comparativement au témoin.

Tableau 16. Effet du HgCl₂ sur LPO/ MDA les chez les rats.

| Paramètres | Groupe témoin | Groupe traité par HgCl ₂ | Dose Durée | Références |
|------------|---------------------------|-------------------------------------|--------------------|------------------------------------|
| LPO | 0.4±0.36nmoles/g | 2.25±0.36nmoles/g | 2mg/Kg /30jrs | (Jagadaseean <i>et al.</i> , 2007) |
| | 0.682±0.01 nmoles/0.1g | 3.688±0.02nmoles/0.1g | 1,23mg/kg /7jrs | (Baharathi <i>et al.</i> , 2014) |
| | 0.81±0.04 nmoles/mg | 1.43±0.15 nmoles/mg | 0,4mg/kg 7jrs | (Othman <i>et al.</i> , 2014) |

| | | | | |
|------------|-------------|----------|--|----------------------------|
| MDA | 3.33nmol/mg | 4nmol/mg | 0.6mg/kg 1.2mg/kg 2.4mg/kg 3jrs | (Liu <i>et al.</i> , 2016) |
|------------|-------------|----------|--|----------------------------|

4.2.4.Discussion

Le mercure entraîne une augmentation de la peroxydation lipidique, stress oxydatif et hépatotoxicité dus à un système antioxydant réduit (Jagadaseen *et al.*, 2007).

Les principaux effets toxiques du mercure et de ses composés concernent leur interaction avec de nombreux processus cellulaires, pouvant entraîner un stress oxydatif (Baharati *et al.*, 2014). D'après les études expérimentales sélectionnées, les niveaux des propriétés antioxydants sont réduits dans le foie des rats intoxiqués au mercure.

GSH

Selon Baharathi *et al.* (2014) qui été démontré que le GSH, principal agent de conjugaison intracellulaire (jagadaseen, 2004 ; Oda *et al.*,2012), agit comme la principale ligne de défense cellulaire contre les composés du mercure (Necib *et al.*, 2013).

Selon Liu *et al.*(2016) une fois présents dans la cellule hépatique, le mercure et ses composés forment des liaisons covalentes avec le glutathion (GSH) (Jagadaseen et Sankarsamipillai, 2007). Cette interaction diminue le niveau de GSH (Balla tori et Clarkson, 1982) ce qui implique la diminution du potentiel antioxydant cellulaire. Des études ont également observé des résultats similaires dans le tissu hépatique des rats lorsqu'ils ont été administrés avec une dose médiane létale de chlorure mercurique. Sur ce, la diminution du contenu en GSH peut entrainer une altération du foie, le rendant hypothétiquement très sensible au stress oxydatif induits par le Hg (Baharathi *et al.*, 2014).

GPx

La glutathione peroxydase est bien connue pour se défendre contre le stress oxydatif, qui à son tour a besoin du glutathion comme cofacteurs. GPx catalyse l'oxydation du GSH en GSSG, cette réaction d'oxydation se produit aux dépens de H₂O₂ (Jagadaseean *et al.*, 2007). Dans une étude antérieure de (Farina *et al.*, 2011), il a été démontré que le Hg se lie plus activement à GPx avec ses groupes –SeH que les autres protéines contenant des thiols et

diminuent ainsi l'activité GPx (Liu *et al.*, 2016). Selon Jagadaseean *et al.* (2007), l'épuisement du contenu en GSH est lié à l'inhibition de l'activité de la GPx.

SOD

La SOD joue toujours dans le maintien de l'équilibre entre les systèmes d'oxydation et d'antioxydation en convertissant l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en hydrogène la présente étude a indiqué que le HgCl₂ inhibait de manière dose-dépendante l'activité de la SOD Ces déficiences pourrait aggraver le stress oxydatif dans le foie, entraînant une augmentation du taux de ROS, ce qui provoque l'oxydation des lipides et peut perturber le métabolisme énergétique et altérer les activité des enzymes antioxydatif (Liu *et al.*, 2016).

CAT

Parmi les principaux systèmes de détoxification des peroxydes est la catalase. La catalase est un enzyme antioxydant qui détruit H₂O₂. Qui peut former un radical hautement réactif en présence de fer comme catalyseur (Gutteridge,1995). (Jagadaseean *et al.*, 2007)

Selon Xia *et al.* (2003) la diminution significatif de CAT dues à l'administration de hg étaient évidentes une telle altération du marqueur de stress oxydatif suggère une défaillance excessive de système de défense antioxydant et aussi indique la production de ROS en inactivant l'enzyme catalase par la blocage de leur site fonctionnels catalytique , ce qui a également été rapporté par une étude antérieur de (Yee et Chooi,1996) (Pal et Gosh, 2012)

MDA

La peroxydation lipidique est un mécanisme chimique capable de perturber la structure et la fonction des membranes biologiques, cela se produit à la suite d'une attaque des radicaux libres sur les lipides (Jagadaseean *et al.*, 2007). Le produit final de cette peroxydation des lipides est le malondialdéhyde (Pal et Gosh, 2012). Le Hg est un composant qui peut perturber la structure membranaire. Les résultats obtenus dans les études analysés, ont démontré que la quantité de MDA était très élevée chez les rats traités au Hg. Il est reconnu que la toxicité provoquée par le Hg conduit à une génération accrue de ROS et favorise par conséquent la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire (Pal et Gosh, 2012). Les niveaux de MDA après l'exposition au HgCl₂ dans la présente étude ont augmenté de manière évidente et dépendante de la dose, indiquant une peroxydation lipidique sévère dans le foie en raison de Le stress oxydatif induit par les ROS.

4.3. Etude histologique

Les études histopathologiques du foie sont présentées dans le tableau 17. Le foie des rats témoin avait une structure histologique régulière avec un motif caractéristique de lobules hexagonaux et ne présente aucun signe de changement structurel ni de lésion tissulaire.

D'après les études histopathologiques menées par Sheikh *et al.*, (2011), tous les groupes traités ont montré des modifications graisseuses (vacuolisation) dans les hépatocytes, une dilatation des sinus, une nécrose avec congestion et une hémorragie.

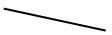
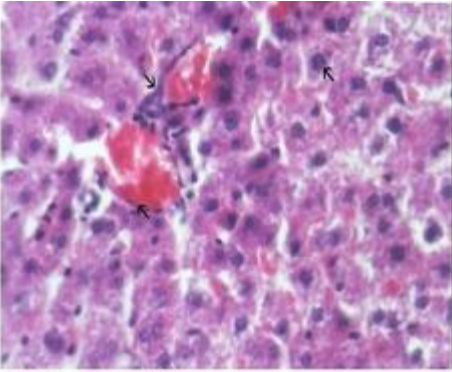
Les résultats histologiques de l'étude de Necib *et al.* (2013), ont montrés diverses altérations pathologiques dans le foie des rats caractérisée par une nécrose Centro-lobulaire, la dégranulation, la destruction de la membrane des cellules, la vacuolisation cytoplasmique.

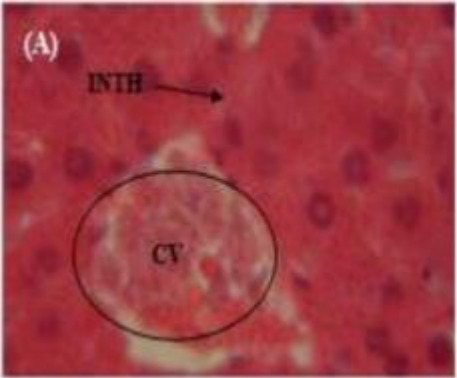
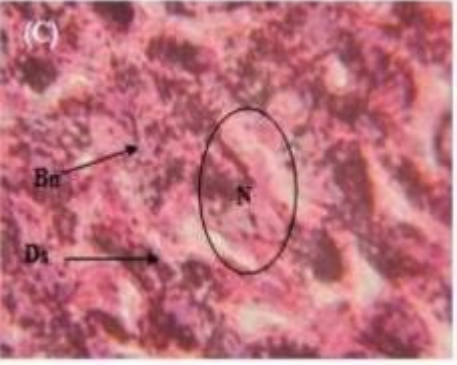
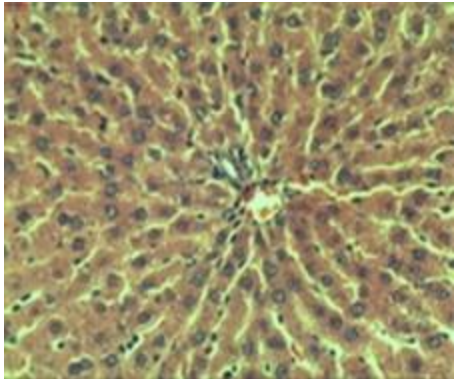
Les résultats de Trebucobich *et al.* (2014), montre que les lésions histologiques du foie tel que des altérations du modèle radial des hépatocytes et de nombreuses zones de fibrose dispersées.

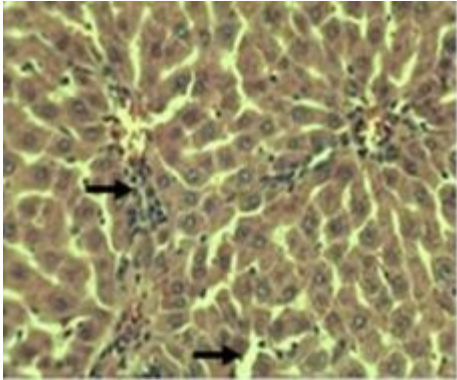
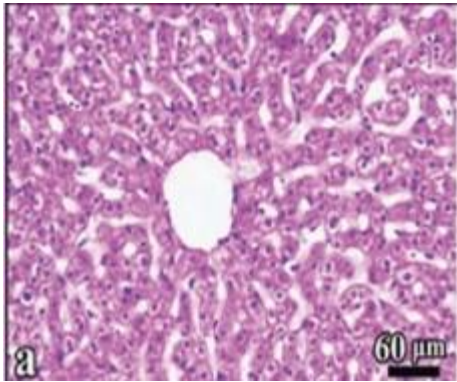
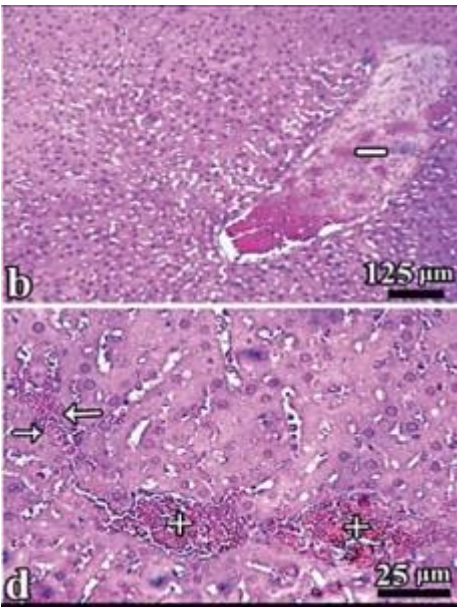
Le changement histologique du foie est caractérisé par des vaisseaux sanguins élargis et des sinusoides dilatées avec une augmentation du tissu conjonctif périvasculaire d'après l'étude de Yahyazedeh *et al.* (2017).

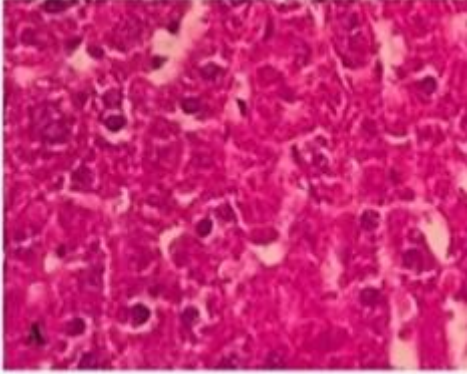
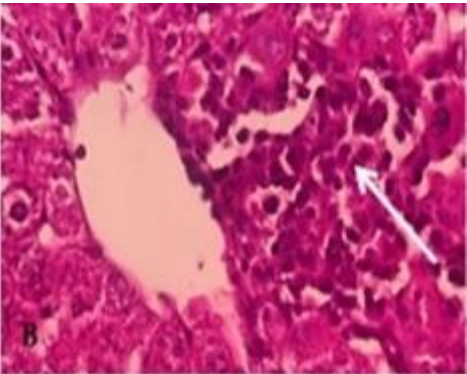
Et enfin, les études histopathologiques de Hosseini *et al.*, (2018), confirme que foie a montré une infiltration inflammatoire autour de la veine centrale tubulaire.

Tableau 17. Tableau récapitulatif des différents coupes histologiques réalisés chez les rats.

| | Image microscopique | Dose | Abréviation | Référence |
|--------|---|--|-------------|--------------------------------|
| | | Durée | | |
| Témoin |  | | | Sheikh <i>et al.</i> , 2011 |
| Hg |  | 2mg/kg 4mg/kg 8mg/kg (4 semaines) | | |

| | | | | |
|--|---|--|---|--|
| <p>Témoin (X400)</p> |  | | <p>CV: veine centrale. INTH: Intact hypatocyte cells,(cellules hépatocytes intactes).</p> | <p>Necib <i>et al.</i>, 2013</p> |
| <p>Hg (X400)</p> |  | <p>0,25mg/kg (3 semaines)</p> | <p>Bn: Bright nuclei (noyaux lumineux). DS:destruction of membrane cells (destruction des cellules de membrane). N: nécrose.</p> | |
| <p>Témoin (X200)</p> |  | | | <p>Trebucobich <i>et al.</i>, 2014</p> |
| <p>Hg</p> | | <p>4mg/kg (18 heures)</p> | | |

| | | | | |
|----------------------|---|----------------------------------|--|---------------------------------------|
| |  | | | |
| <p>Témoin</p> |  | | | <p>Yahyazedeh <i>et al.</i>, 2017</p> |
| <p>Hg</p> |  | <p>1mg/m (45 jours)</p> | <p>– : tissu conjonctif périvasculaire augmenté. → : sinus dilaté. + : vaisseau sanguin élargi.</p> | |

| | | | | |
|--------------------------------|--|-------------------------|--|----------------------------------|
| Témoin (X100) |  | | | Hosseini <i>et al.</i> , 2018 |
| Hg (X100) |  | 5mg/kg (3 jours) | | |

4.3.1. Discussion

Les matières toxiques, telles que le Hg, sont dégradées ou éliminées par le foie, qui est un polluant fréquent dans l'environnement. Le mercure environnemental et industriel peut causer des dommages au tissu hépatique (Lee et al. 2014, Garcia-Niño and Pedraza-Chaverri 2014).

D'après les résultats des différents travaux analysés, nous avons observé des changements dégénératifs et nécro-biotiques parmi les hépatocytes qui est due à une toxicité hépatique causée par le chlorure de mercure.

De nombreux chercheurs ont également examiné l'histopathologie et ont constaté que le HgCl₂ entraînait en effet de nombreux symptômes d'altérations tels que la dégénérescence du cytoplasme, la perte de noyaux, les changements graisseux (vacuolisation), la dilatation des

espaces sinusoidaux, l'hypertrophie des hépatocytes, la nécrose, les hémorragies et l'hyperémie des tissus hépatiques.

Toutes ses modifications tissulaires causée après exposition au mercure engendrent une augmentation des produits de l'oxydation des lipides (Huang *et al.*, 1996), affecte la fonction des mitochondries (Belyaeva *et al.*, 2011), réduit l'activité des enzymes métaboliques, diminue la synthèse des facteurs de coagulation hépatique (Chang *et al.*, 1973), interfère avec les antioxydants (Pal et Ghosh, 2012) et cause des lésions vasculaires (Kanlun et Gottlieb, 1991). L'exposition à Hg augmente le stress oxydatif (Gutierrez *et al.*, 2006), ce qui peut contribuer à son histopathologie.

Conclusion

Conclusion

Dans ce travail, des rats ont été exposés au mercure afin de déterminer l'effet de ce dernier sur la fonction hépatique. Le choix du foie comme organe d'étude, reflète la fonction de détoxification et de filtration des toxines dans l'organisme. Le Hg semble provoquer des dégâts que ce soit au niveau sérique ou au niveau tissulaire.

Les résultats obtenus de cette étude peuvent être résumés dans les points suivants :

- Le profil biochimique a montré une augmentation des transaminases (TGP, TGO), PAL, LDH, bilirubine et l'albumine, dans le sang des rats intoxiqués au Hg.
- Le profil lipidique a montré une augmentation du cholestérol et des triglycérides dans les groupes traités par Hg.
- Le dosage des marqueurs du stress oxydatif a démontré une diminution de l'activité de la GPx, SOD, CAT et du taux du GSH ainsi qu'une augmentation du MDA.
- Modifications tissulaires causées après exposition au Hg engendrent une hypertrophie des hépatocytes, la nécrose, les hémorragies dans le tissu hépatique.

Bibliographie

Bibliographie

- Agarwal R., Goel SK., Chandra R., Behari JR. 2010. Role of vitamin E in preventing acute mercury toxicity in rat. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 29 (1): 70-8.
- Al Attar A M. 2011. Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi journal of biological sciences*, 18(4), 395-401.
- Al-Othman ZA., Inamuddin., Naushad Mu.2011. Determination of ionexchange kinetic parameters for the poly-o-methoxyaniline Zr(IV) molybdate composite cation-exchanger, *Chemical engineering journal*,166: 639- 645.
- Attiya N., Fattahi R., El-Haidani A., Lahrach N., Amarouch MY., Zegzouti YF.2020. Exposition au mercure et état de santé des médecins dentistes de deux régions du centre du Maroc: enquête transversale descriptive. *Epidemiology* Vol 36, p 13.
- Bashandy S A., Alhazza I. M., El-Desoky GE., Al-Othman Z A. 2011. Hepatoprotective and hypolipidemic effects of *Spirulina platensis* in rats administered mercuric chloride *Pharmacology* Vol. 5(2), pp. 175-182.
- Bensaad H., Bensaad D.,2016. Impact de l'exploitation du mercure sur l'environnement dans le district minier d'Azzaba (Skikda). Mémoire pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie Minier. Ecole Nationale Polytechnique. P 77.
- Bensefa-Colas, L., Andujar, P., & Descatha, A. (2011). Intoxication par le mercure. *La Revue de médecine interne*, 32(7), 416-424.
- Bharathi E., JagadeesanG .2014.Antioxidant potential of hesperidin and ellagic acid on renal toxicity induced by mercuric chloride in rats, *Biomedicine et Preventive Nutrition* 4 (2).131–136.
- Buccolo G., David H.1973. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clinical Chemistry*. 19 (5):476-482.
- Caglayan C., Kandemir F M., Darendelioğlu E., Yıldırım S., Kucukler S., Dortbudak MB. 2019.Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with

oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Journal of Trace Elements Medicine et Biologie* 56:60-68.

-Carriere J. 2007. Intoxication au mercure par injection intraveineuse volontaire. Thèse. de doctorat université de Montpellier I. U.F.R de médecine.

-Cherian MG., Hursh JB., Clarkson TW., Allen J.1978. Radioactive mercury distribution in biological fluids and excretion in human subjects after inhalation of mercury vapor. *Archive Environ Health* .33:109-14.

-Chouit Z. 2017. Evaluation et caractérisation des risques neurologiques, hépatiques et rénaux associés à l'exposition des métaux lourds. Diplôme de magister. Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel. P 63 .

-Clarkson T W. 200. The three modern faces of mercury. *Environmental health perspectives*, 110(suppl 1), 11-23

-Cobbina SJ., Chen Y., Zhou Z., Wu X., Zhao T., Zhang Z., Yang L. 2015. Toxicity assessment due to sub-chronic exposure to individual and mixtures of four toxic heavy metals. *Journal of Hazardous materials*, 294, 109-120.

-Cordier S. 2003. Retentissement néonatal d'une alimentation maternelle riche en mercure (poisson) pendant la grossesse. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 16.2003.234–239.

-Dardouri K., Haouem.S ., Gharbi.I., Badreddine S., Haouas.Z., El Hani.A., Hammami.M., 2016. Combined Effects of Cd and Hg on Liver and Kidney Histology and Function in Wistar Rats. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*.5, 159-169.

-De Bont B., Lauwerys R., Govaerts H., Moulin D. (1986). Yellow mercuric oxide ointment and mercury intoxication. *European journal of pediatrics*, 145, 217-218.

-Elaine NM., *Biologie humaine. Person*. 2éme édition. 2008. France.p : 547.

-El-Shenawy SMA., Hassan NS. 2008. Comparative evaluation of the protective effect of selenium and garlic against liver and kidney damage induced by mercury chloride in the rats. *Pharmacologie Reports*. 60:199-20.

- El-Demerdash F M.2001. Effects of selenium and mercury on the enzymatic activities and lipid peroxidation in brain, liver and blood of rats. *J Enviro Scie health Part-B*, 36(4): 489-499.
- Farina M, Aschner M and Rocha JB.2011. Oxidative stress in MeHg-induced neurotoxicity. *Toxicologie et Pharmacologie appliquée* .256: 405–417.
- Fortin J. 2002.Les Guides de la connaissance . Le Corp Humain . Comprendre notre organisme et son fonctionnement ; Québec Amérique. P :111 .
- Francis T., 2012. Mercure dans les poissons males er femelles du nord du Québec chez trois espèces de poissons. Université de Sherbrooke p :90.
- Garber C. 1981. Jendrassik–Grof analysis for total and direct bilirubin in serum with a centrifugal analyzer. *Clinique Chimique*. 27, 1410–1416.
- Gendler S.1984. Uric acid. Kaplan A et al. *Clinique Chemistry The C.V. Mosby CoSt Louis*. Toronto. Princeton .1268-1273.
- Gérard GT., Bryan D.2009. manuel d’anatomie et physiologie humains, science médicales.France.p:482-483.
- Grosman M., Jean Jacques Melet JJ. 2011. Toxicité du Mercure: Le mercure des amalgames dentaires: Quels risques pour la santé et l’environnement? Quels enjeux financier. 1ère partie.
- Hazelhoff MH., Torres AM. 2018. Gender differences in mercury-induced hepatotoxicity: potential mechanisms. *Chemosphere* 202: 330-338.
- Haouem S., Chargui I., Najjar MF., Sriha B., El Hani A . 2013. Liver Function and Structure in Rats Treated Simultaneously with Cadmium and Mercury. *Open Journal of Pathology* 3(1): 26-31.
- Hosseini A., Rajabian A., Fanoudi S., Farzadnia M., Boroushaki MT.2018.Protective effect of Rheum turkestanicum root against mercuric chloride-induced hepatorenal toxicity in rats. *Avicenna J Phytomed* 8(6): 488-497.
- Huang YL., Cheng SL., Lin TH.1996. Lipid peroxidation in rats administrated with mercuric chloride. *Biological Trace Element Research*.52: 193-206.

- Hursh JB., Clarkson T W., Miles E F., Goldsmith L A. (1989). Percutaneous absorption of mercury vapor by man. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 44(2), 120-127.
- ISBN. (2008). Ministère de la Santé. Le mercure et la santé humaine. Original: octobre 2004. Sa Majesté la reine du Chef du Canad.
- Jagadeesan G., Sankarsami Pillai S. 2007.Hepatoprotective effects of taurine against mercury induced toxicity in rats. *Journal of Environmental Biology*. 28(4): 753-756.
- Joshi D., Kumar MD., Kumar SA., Sangeeta S .2014.Reversal of Methylmercury-Induced Oxidative Stress, Lipid Peroxidation, and DNA Damage by the Treatment of N-Acetyl Cysteine: A Protective Approach. *Journal of Environmental Pathology ,Toxicology and Oncology*.33(2): 167-182.
- Kerper, L. E., Mokrzan, E. M., Clarkson, T. W., & Ballatori, N. (1996). Methylmercury efflux from brain capillary endothelial cells is modulated by intracellular glutathione but not ATP. *Toxicology and applied pharmacology*, 141(2), 526-531.
- Khan and Feiyue wang. Mohammad A.K., 2009. Mercury-selenium compounds and their toxicological significance: towards a molecular understanding of the mercury-selenium antagonism. *University of Manitoba* . (28). 8.1567–1577.
- Lauren. V. , 2013.L’adoption de la convention de Minamata, ou la longue marche vers un instrument international juridiquement contraignant sur le mercure. *Article juridique de l’environnement* . (38), 237-246.
- Lauwerys RR, Haufroid V, Hoet P, Lison D. Mercure. In: *Toxicologie industrielle et intoxication professionnelle*. Paris: Elsevier Masson; 2007. p. 309–63.
- Lin TH., Huang YL., Huang SF. 1996.Lipid peroxidation in liver of rats administered with methyl mercuric chloride. *Biology Trace Element Research*. 54. 33-41.
- Liu W., Xu Z., Li H., Guo M., Yang T., Feng S., Xu B., Yu Deng .2017. Protective effects of curcumin against mercury-induced hepatic injuries in rats, involvement of oxidative stress antagonism, and Nrf2-ARE pathway activation. *Human Experimental Toxicology* 36(9): 949.

- Marc D. 2012. Evaluation retrospective d'un critère prédictif de mortalité après hépatectomie majeure en réanimation. Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine Université de Lorraine.
- Maruszczak.N.,2011. Etude du transfert du mercure et du méthylmercure dans les écosystèmes lacustres Alpains. Thèse de doctorat. Université de Grenoble. P 203 .
- Mumtaz S., Ali S., Khan R., Andleeb S., Ulhaq M., Khan MA., Shakir HA.2019.The protective role of ascorbic acid in the hepatotoxicity of cadmium and mercury in rabbits. *Environmental Science and Pollution Research*.26(14):14087-14096.
- Merzoug S, Toumi ML, Oumeddour AK, Boukhris N, Baudin B, Tahraoui AK, Bairi AM. (2009). Effect of inorganic mercury on biochemical parameters in Wistar rat. *Journal of Cell and Animal Biology*. 3(12): 222-30.
- Morin Y. 2006.Larousse médical. édition2003, Paris
- Mosbæk H., Tjell JC., Sevel T.1988. Plant uptake of airborne mercury in background areas. *Chemosphere* 17: 1227-1236.
- Mohamed ET., Mahran HA., Mahmoud MS .2010. Hepato ameliorative effect of *Azadirachta indica* leaves extract against mercuric chloride environmental pollution. *Journal of American Science* 6: 735-751.
- Moumen Y. (2017). Impact sur le métabolisme des minéraux, le système immunitaire et reproducteur (Doctoral dissertation, Université de Constantine 1).
- Nabi SA., Bushra R., Naushad Mu., Khan AM.2010.Synthesis characterization and analytical applications of a new composite cation exchange material poly-o-toluidine stannic molybdate for the separation of toxic metal ions,*Chemical* .165: 529-536.
- Nabi SA., Bushra R., Al-Othman ZA., Naushad Mu.2011.Synthesis, characterization and analytical applications of a new composite cation exchange material Acetonitrile stannic(IV) selenite: Adsorption behavior of toxic metal ions in nonionic surfactant medium, *Separation Science Technology*. 46(5), 847-857.
- Necib Y., Bahi A., Zerizer S .2013.Amelioration of mercuric chloride toxicity on rat liver with argan oil and sodium selenite supplements. *Int Journal of Pharmacology Biology Science* 4(2).839-849.

-
- Oda SS., El-Ashmawy IM.2012.Protective Effect of Silymarin on Mercury-Induced Acute Nephro-Hepatotoxicity in Rats. *Glob Vet* 9 (4).376-383.
- Othman MS., Safwat G., Aboulkhair M., Abdel Moneim AE.2014.The potential effect of berberine in mercury-induced hepatorenal toxicity in albino rats. *Food Chem Toxicol* 69.175-181.
- Pal M, Ghosh M .2012.Studies on comparative efficacy of α -linolenic acid and α -eleostearic acid on prevention of organic mercury-induced oxidative stress in kidney and liver of rat. *Food and Chemical Toxicology*. 50(3-4). 1066-1072.
- PNUE (Programme des nations unies pour l'environnement). 2005. Substances chimiques, évaluation mondiale du mercure. Suisse. Genève.Version française publiée en juin 2005.
- Picot.A ., Proust. N.,1998. Le mercure et ses composés. L'actualité chimique. P23.
- Reitman S., Frankel S.1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology* 28(1). 56-63.
- Richer JF., Amler SN.2005. Mercury exposure evaluation and intervention, the inappropriate use of chelating agents in diagnosis and treatment of putative mercury poisoning. *Neurotoxicology* 26.691-699.
- Ravichandra VD., Ramesha C., Sridhara KA.2013. Hepatoprotective potentials of aqueous extract of *Convolvulus pluricaulis* against thioacetamide induced liver damage in rats, 131-135.
- Sakamoto M., Man Chan H., Domingo JL., Kubota M., Murata K.2012.Changes in body burden of mercury, lead, arsenic, cadmium and selenium in infants during early lactation in comparison with placental transfer. *Ecotoxicology Environmental Safety* 84:179-184.
- Sheikh TJ., Patel BJ., Joshi DV.2011.Effect of mercuric chloride on oxidative stress and target organ pathology in wistar rat. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* .07.59-61.
- Sener G., Sehrli O., Tozan A., Velioglu-Ovunc A., Gerdic N., Omurtag GZ.2007.Ginkgo biloba extract protects against mercury (II) induced oxidative tissue damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 45. 543-550.

-
- Sinha KA.1972. Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*. 47. 389-394 .
- Sharma MK., Kumar M., KumarA., 2002. Ocimum sanctum aqueous leaf extract provides protection against mercury induced toxicity in swiss albino mice. *Journal in Biology*. 40.1079–1082.
- Sundberg J., Ersson B., Lönnerdal B., Oskarsson A. (1999). Protein binding of mercury in milk and plasma from mice and mana comparison between methylmercury and inorganic mercury. *Toxicology*, 137(3), 169-184.
- Trebucovich MS., Hazelhoff MH., Chevalier AA. 2014Protein expression of kidney and liver bilitranslocase in rats exposed to mercuric chloride a potential tissular biomarker of toxicity. *Toxicology Letters* .225 (2). 305–310.
- Uzunhisarcikli M., Aslanturk A., Kalender S., Apaydin FG., Bas H .2016.Mercuric chloride induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: the protective effects of sodium selenite and vitamin E. *Toxicol Ind Health* 32 (9). 1651-1662.
- Vincent C., Thalia R., Wolfgang S., Denis H., Anne T.2023. Intoxication volontaire massive au mercure élémentaire. *Louvain Médical*. 2023 ; 142 (09-10) : 439.
- Wadaan MAM.2009.Effects of mercury exposure on blood chemistry and liver histopathology of male rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*.4.126-131.
- WHO (1991) *Inorganic Mercury, Environmental Health Criteria*, vol. 118. World Health Organization, Geneva, Switzerland
- Wilhelm S. 2001. An estimate of mercury emissions from petroleum. *press Environ Science Technologique*.
- Wilhelm S., Bloom N. 2000. Mercury in petroleum, *Fuel Processing Technology*.63(1).8.
- Xia L., Nordman T., Olsson J M.,Damdimopoulos A., Bjorkhembergman L., Nalvarte T., Eriksson LC., Armer ESJ., Spyron G., Bjornstedt M.2003.The mammalian selenoenzymethioredoxinreductase reduces ubiquinone. A novel mechanism for defense against oxidative stress. *Journal of Biology and Chemistry*.278: 2141-2146.

-Yahyazedeh A., Altunkaynak BZ., Akgül N., Akgül HM.. 2017.A histopathological and stereological study of liver damage in female rats caused by mercury vapor. *Biotechnic et Histochemistry*, 92(5), 338-346.

-Yang L., Zhang Y., Wang F., Luo Z., Guo S., Strähle U. 2019. Toxicity of Mercury: Molecular Evidence. *Journal Chemosphere*, 245, 125586.

-Yee S., Choi BH. 1996. Oxidative stress in neurotoxic effects of methylmercury poisoning. *Neurotoxicology* 17.17–26.

-Zhang H., Tan X., Yang D., Lu J., Liu B., Baiyun R., Zhang Z.2017.Dietary luteolin attenuates chronic liver injury induced by mercuric chloride via the Nrf2/Nf-κB/ P53 signaling pathway in rats. *Oncotarget* 8 (25). 40982-40993.

.

ملخص

الزئبق هو معدن ثقيل شديد السمية, يشكل مخاطر جسيمة على صحة الإنسان. يمتص الجسم البشري الزئبق عبر عدة طرق, حيث ينقل أولاً في الدم قبل ان يتراكم في الكبد. تظهر الدراسات ان الزئبق يسبب اضراراً للكبد عن طريق زيادة بيروكسيد الدهون, و إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية و التأثير على تخليق البروتينات, و الارتباط بالمجموعات الثيولية. تظهر التجارب ان التعرض للزئبق يؤدي أيضاً إلى اضطراب في مستوى المعايير البيوكيميائية في الدم (البيليروبين, الالبومين, الكوليستيرول... الخ) و معايير الإجهاد التاكسدي في كبد الفئران. على الصعيد النسيجي يسبب الزئبق العديد من أعراض التغيرات مثل تنكس السيتوبلازم, فقدان النوى, النخر, و النزيف في الانسجة الكبدية.

علم الانسجة, المعايير البيوكيميائية, الكبد, الزئبق: الكلمات المفتاحية

Résumé

Le mercure (Hg) est un métal lourd omniprésent dans l'environnement, se trouvant sous forme liquide à température ambiante. Très toxique, il pose de graves risques pour la santé humaine. En raison de ses propriétés physicochimiques, le mercure circule facilement dans l'air, l'eau, le sol et les sédiments.

L'organisme humain absorbe le mercure par plusieurs voies, le transportant d'abord dans le sang avant qu'il ne s'accumule dans le foie. Ses effets sur la santé sont nombreux surtout les dommages hépatiques. Les études montrent que le mercure provoque des dommages biochimiques aux tissus en augmentant LPO, en créant des ROS, en altérant la synthèse des protéines et en se fixant aux groupes thiols.

Les expériences menées démontrent que l'exposition au mercure entraîne aussi une perturbation de taux de l'activité sérique de ASAT, ALAT, PAL, Albumine et bilirubine, du cholestérol, des triglycérides et des marqueurs de stress oxydatif (GPx, SOD, GSH et CAT) dans le foie des rats. Le Hg cause ainsi un effet de nombreux symptômes d'altérations tels que la dégénérescence du cytoplasme, la perte de noyaux, les changements graisseux (vacuolisation), la nécrose, les hémorragies et l'hyperémie des tissus hépatiques.

Abstract

Mercury (Hg) is a heavy metal present in the environment, existing in a liquid state at room temperature. It is highly toxic and poses severe health risks to humans. Due to its physical and chemical properties, mercury easily circulates in the air, water, soil, and sediments.

The human body absorbs mercury through several pathways, transporting it first into the bloodstream before it accumulates in the liver. Its health effects are numerous, particularly the damage it causes to the liver. Studies show that mercury induces biochemical damage to tissues by increasing lipid peroxidation (LPO), generating reactive oxygen species (ROS), altering protein synthesis, and binding to thiol groups.

Experiments indicate that exposure to mercury leads to an increase in liver enzymes, cholesterol, triglycerides, and oxidative stress markers in the livers of rats. Mercury causes an increase in lipid peroxidation, oxidative stress, and hepatotoxicity due to a weakened antioxidant system.

Additionally, experiments demonstrate that mercury exposure disrupts serum activity levels of ASAT, ALAT, PAL, albumin, and bilirubin, cholesterol, triglycerides, and oxidative stress markers (GPx, SOD, GSH, and CAT) in the livers of rats. Mercury causes various symptoms and alterations such as cytoplasmic degeneration, loss of nuclei, fatty changes (vacuolation), necrosis, hemorrhage, and congestion of liver tissues.