

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**Université de Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire**  
**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de**  
**Master en Biologie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Option : Génie Biologique**

**THÈME**

**Effet du sulfate ferreux comme un supplément alimentaire  
sur quelques paramètres biologiques et sur l'histologie de  
tissu hépatique chez les souris**

**Réalisé par :**

**M<sup>elle</sup> Sayah Fayrouz**

**M<sup>elle</sup> Ouazene Djamila**

**Date de soutenance :**

**20 Septembre 2017**

**Devant le jury :**

- |   |              |            |                     |
|---|--------------|------------|---------------------|
| ➤ <b>Dr Oussadou L.</b>                   | <b>M.A.A</b> | <b>UB1</b> | <b>Président</b>    |
| ➤ <b>M<sup>me</sup> Abdul houssain A.</b> | <b>M.C.B</b> | <b>UB1</b> | <b>Examinatrice</b> |
| ➤ <b>M<sup>me</sup> Hamzi W.</b>          | <b>M.A.A</b> | <b>UB1</b> | <b>Promotrice</b>   |

**Promotion : 2016/2017**



## Remerciements

Ces quelques lignes vont nous permettre de remercier en premier lieu le bon Dieu de nous avoir donné la force et le courage d'affronter toutes les difficultés.

Nous tenons à exprimer à notre promotrice, Mme Hamzi Wahiba, toute notre gratitude et nos sincères remerciements, pour la confiance qu'elle nous a fait, d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour tous ses conseils et ses orientations.

Nous adressons également nos remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'examiner et de juger notre travail :

A Dr Oussadou, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir présider notre jury

A Mme Abdul houssain, de nous avoir accordé le temps et la patience pour évaluer et examiner notre travail.

Nous tenons à remercier aussi tous les membres du personnel du laboratoire toxicologique de Sidal, Filiale ANTIBIOTICAL de Médéa, en particulier Mr Ben Yahia M., pour leur aide dans la partie pratique.

A toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Et enfin nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude à notre département de biologie et spécialement les personnes qui nous ont enseigné et donné de leurs temps.

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère maman, que j'aime beaucoup.

A mon très cher papa, qui a toujours été là pour moi.

A mes chères sœurs Fatma /Z et Yasmina.

A mes chers frères Mohamed Amine et Abd El Madjid.

A toute ma famille.

A tous mes amis, particulièrement à Assia, Zahira, Amira, Sara, Amina, Nadja, Zineb et mon binôme Fairouz.

A tous ceux que j'aime.

**Djamila**



# Dédicaces

Je dédie modécetement, comme preuve d'amour et de reconnaissance ce travail :

A mes chers parents, symbole d'amour, défie et courage, que dieu me les garde et les protèges contre tout mal.

A mon frère Mohamed

A mes sœurs : Samia, Karima et son mari Djamel, Amel et son mari Khaled, pour l'amour, le bonheur et surtout pour le soutien morale dont j'ai bénéficié.

A mes nièces et neveux, surtout à l'adorable Hadoula.

A tous mes cousins et cousines.

A tous mes amies particulièrement Faiza, Imene, Bouchra, Hiba et Houda.

A mon binôme Djamila.

A toute la section génie biologique promotion 2016/2017.

A tous ceux qui m'ont couvert d'amour et de soutien et d'encouragement.

A toutes les personnes non citées et qui savent que je pense à eux.

**Fairouz**



# Résumé

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à évaluer les effets du sulfate ferreux (SF) comme un supplément alimentaire suite à l'administration de deux doses différentes (70 et 140 mg/kg) chez le souris Swiss. Les effets ont été observés sur l'évolution pondérale, le comportement des souris, la variation des paramètres hématologiques et biochimiques, le poids absolu et l'histopathologie du foie.

Aucune perturbation dans l'évolution pondérale n'a été remarquée chez les souris traitées par le sulfate ferreux. Aussi, ce dernier n'a pas influencé le poids absolu et relatif du foie des animaux mais le comportement des souris des deux groupes traitées révèle des signes anormaux tout au long de l'expérience.

Aucune différence significative n'a été révélée par le dosage de la plupart des paramètres hématologiques, à l'exception des GR, d'Hb et Ht dans lequel on décrit une augmentation significative de ces derniers paramètres entre le groupe témoins et les deux groupes traités.

Le cholestérol et la glycémie ne semble pas être trop perturbés suite au traitement par le sulfate de fer. Le SF a provoqué une augmentation de la créatinine et des triglycérides chez les souris traitées par ce produit.

L'examen histopathologique du foie a révélé chez les souris traitées par les deux doses de sulfate ferreux une surcharge en fer dépendante des doses prescrite, ainsi que la présence des signes d'hépatite chez les souris traités par la forte dose.

**Mots clés :** Souris, Sulfate ferreux, Hémoglobine, Foie, Histopathologique.

# Abstract

In this study we were interested in evaluating the effects of ferrous sulfate as a dietary supplement following the administration of two different doses (70 and 140 mg /kg) in Swiss mice. The effects were observed on the weight evolution, the behavior of mice, variation in haematological and biochemical parameters, total liver weight and histopathology of the liver. The administration of ferrous sulfate has not affected the body weight and the absolute liver weight but the behavior of the mice of the two treated groups revealed abnormal signs throughout the experiment.

No significant differences were revealed by the dosage of most haematological parameters, with the exception of RBC and Hb and Ht in which a significant increase in these latter parameters was described between the control group and the two treated groups.

Cholesterol and blood glucose do not appear to be overly disturbed following treatment with iron sulphate. But it caused an increase in creatinine and triglycerides in mice treated.

Histopathological examination of the liver revealed a prescribed dose-dependent iron overload in mice treated with the two doses of ferrous sulphate, as well as the presence of signs of hepatitis in mice treated with the high dose.

**Key words:** Mouse, Iron sulphate, Hemoglobin, Liver, Histopathological.

## ملخص

هذه الدراسة تهدف لتقييم آثار كبريتات الحديد كمكمل غذائي عقب إعطاء جرعتين مختلفتين (70 و 140 ملغ / كغ) في الفئران البيضاء. لوحظ هذا التأثير على تغيرات الوزن ، سلوك الفئران ، القياسات و البيو كيميائية، الوزن المطلق للكبد و التشريح المرضي للكبد.

العلاج بواسطة كبريتات الحديد الثنائية لم يؤثر على تغيرات الوزن و لا على وزن الكبد ، الا انه لوحظ تغيير في سلوكيات الفئران المعالجة طوال مدة التجربة.

لم نلاحظ تغيرات في بعض المقاييس باستثناء الكريات الحمراء و الهيموغلوبين و فحص الهيماتوكريت حيث لوحظ ارتفاع مقارنة مع المجموعة الشاهدة .

لم يعرف كل من الكوليسترول و نسبة السكر في الدم اضطرابات بعد المعالجة بكبريتات الحديد الثنائية مع ارتفاع نسبة الدهون الثلاثية و الكرياتين لدى الفئران المعالجة .

اظهرت نتائج التشريح المرضي للنسيج الكبدي لدى الفئران المعالجة بالجرعتين المختلفتين لكبريتات الحديد وجود تراكم للحديد حسب الجرعات المقدمة و اظهر التحليل أيضا وجود علامات التهاب لدى الفئران المعالجة بالجرعة العالية لكبريتات الحديد.

**الكلمات المفتاحية :** الفئران، كبريتات الحديد، هيموغلوبين، الكبد، التشريح المرضي.

# Glossaire

**Métal de transition :** ou élément de transition, est, selon la définition de l'IUPAC, « un élément chimique dont les atomes ont une sous-couche électronique **d** incomplète, ou qui peuvent former des cations dont la sous-couche électronique **d** est incomplète ».

**Cognitive :** ce terme renvoie à l'ensemble des processus psychiques liées à l'esprit. Il englobe une multitude de fonctions orchestrées par le cerveau.

**Candidoses :** nom générique donné aux maladies infectieuses provoquées par des levures microscopiques du genre *Candida* (principalement *Candida albicans*).

**Furoncle :** est une inflammation et infection de la peau, caractérisée en général par la formation de pus et la destruction du follicule pilo-sébacé.

**Folliculite :** c'est l'inflammation des follicules pilo-sébacés. On l'appelle aussi sycosis en particulier au niveau de la barbe.

# Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribo-Nucléique

**AF** : Anémie Ferriprive

**CCMH** : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

**Co**: Cobalt

**Cr**: Chrome

**DMT1**: Divalent Metal Transporter 1

**EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique

**EPSP** : Établissement Public de Santé de Proximité

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique

**FPN** : Ferroportine

**GB** : Globule blanc

**GK** : Glycérol kinase

**GPO** : Glycérophosphate déshydrogénase

**GR** : Globule Rouge

**Hb** : Hémoglobine

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'Hydrogène

**Ht** : Hématocrite

**IRE**: Iron Responsive Elements

**IRP**: Iron Regulatory Proteins

**LPL** : Lipoprotéïnlipase

**Mn** : Manganèse

**Ni** : Nickel

**OMS** : Organisation Mondiale de la santé

**ONAB** : Office Nationale des Aliments de Bétail

**SF** : Sulfate Ferreux

**TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

**VGM**: Volume Globulaire Moyen

**WHO**: World Health Organization

## Liste des figures

| Figure  | Page |
|---|------|
| <b>Figure 01</b> : Schéma d'hémoglobine   | 4    |
| <b>Figure 02</b> : Absorption intestinale du fer  | 7    |
| <b>Figure 03</b> : Schéma représentative des facteurs qui inhibent l'absorption de fer  | 8    |
| <b>Figure 04</b> : Perte de masse (ATG) de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sous $\text{N}_2$ à vitesse de chauffe de $10\text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ | 15   |
| <b>Figure 05</b> : Schéma de production de $\text{TiO}_2$ et de $\text{FeSO}_4$ à partir de l'ilménite  | 16   |
| <b>Figure 06</b> : Organisation structurale du lobule hépatique   | 21   |
| <b>Figure 07</b> : Evolution du poids corporel moyen (g) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.  | 33   |
| <b>Figure 08</b> : Variations de poids absolu (g) et relatif (g%) de foie des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.                                 | 34   |
| <b>Figure 09</b> : Variations de nombre des globules blancs ( $10^9$ /L) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.                                  | 36   |
| <b>Figure 10</b> : Variations de nombre des globules rouges ( $10^{12}$ /L) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.                               | 37   |
| <b>Figure 11</b> : Variations de la teneur en hémoglobine (g/dL) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.  | 38   |
| <b>Figure 12</b> : Variations de pourcentage d'hématocrite des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.  | 39   |
| <b>Figure 13</b> : Variations de volume globulaire moyenne des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.  | 40   |
| <b>Figure 14</b> : Variations de CCMH des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.   | 41   |
| <b>Figure 15</b> : Variations de TCMH des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.   | 42   |
| <b>Figure 16</b> : Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur la créatinémie des souris pendant 31 jours.  | 43   |
| <b>Figure 17</b> : Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur la cholestérolémie des souris pendant 31 jours.  | 44   |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 18</b> : Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur le taux de triglycéride des souris pendant 31 jours.   | 45 |
| <b>Figure 19</b> : Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur le taux de glucose des souris pendant 31 jours.  | 46 |
| <b>Figure 20</b> : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles témoins.<br>(a et b) : Coloration HE; Grossissement: x10 (a), x50 (b)<br>(c et d) : Coloration de Perls ; Grossissement: x10 (c), x50 (d).                                     | 48 |
| <b>Figure 21</b> : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 70 mg/kg de SF.<br>(a et b) : Coloration HE : Grossissements : x10 (a), x50 (b).<br>(c et d) : Coloration de Perls : Grossissements : x50 (c), x50 avec zoom (d). | 49 |
| <b>Figure 22</b> : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 140 mg/kg de SF.<br>(a et b) : Coloration HE : Grossissements : x10 (a), x50 (b).<br>(c et d) : Coloration de Perls : Grossissements : x50.                       | 50 |

# Liste des tableaux

| Tableau  | Page |
|--|------|
| <b>Tableau 01:</b> Différents compartiments du fer dans l'organisme  | 5    |
| <b>Tableau 02:</b> Valeurs quotidiennes recommandées en fer  | 9    |
| <b>Tableau 03:</b> Caractéristique des différentes préparations de fer par voie orale  | 18   |
| <b>Tableau 04 :</b> Valeurs pondérales moyennes des souris des groupes témoin et traités par 70 mg/kg et 140 mg/kg de sulfate ferreux le long de l'expérience                        | 32   |
| <b>Tableau 05 :</b> Valeurs moyennes de poids absolu et relatif de foie des souris des groupes témoin et traité par 70 mg/kg et 140 mg/kg de sulfate ferreux le long de l'expérience | 34   |
| <b>Tableau 06 :</b> Valeurs moyennes des GB chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF  | 35   |
| <b>Tableau 07 :</b> Valeurs moyennes des GR chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF  | 36   |
| <b>Tableau 08 :</b> Valeurs moyennes d'Hb chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF  | 37   |
| <b>Tableau 09 :</b> Valeurs moyennes d'Ht chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF  | 38   |
| <b>Tableau 10 :</b> Valeurs moyennes de VGM chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF  | 39   |
| <b>Tableau 11 :</b> Valeurs moyennes de CCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF   | 40   |
| <b>Tableau 12 :</b> Valeurs moyennes de TCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF   | 41   |
| <b>Tableau 13 :</b> Valeurs moyennes de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF   | 43   |
| <b>Tableau 14 :</b> Valeurs moyennes de cholestérolémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF  | 44   |
| <b>Tableau 15 :</b> Valeurs moyennes de taux de TG chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF   | 45   |

|   |          |
|---|----------|
| <b>Tableau 16</b> : Valeurs moyennes de taux de glucose chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF | 46       |
| <b>Tableau I</b> : Composition des granulés de régime alimentaire des souris selon « ONAB »                                 | Annexe 1 |
| <b>Tableau II</b> : Table de Student  | Annexe 3 |
| <b>Tableau III.1</b> : Poids corporel des souris mâles témoins  | Annexe 4 |
| <b>Tableau III.2</b> : Poids corporel des souris traitées par 70 mg/kg de SF  | Annexe 4 |
| <b>Tableau III.3</b> : Poids corporel des souris traitées par 140 mg/kg de SF   | Annexe 4 |
| <b>Tableau IV.1</b> : Valeurs du poids absolu et relatif de foie chez les souris mâles témoins                              | Annexe 4 |
| <b>Tableau IV.2</b> : Valeurs du poids absolu et relatif de foie chez les souris mâles traitées par 70 mg/kg de SF          | Annexe 4 |
| <b>Tableau IV.3</b> : Valeurs du poids absolu et relatif de foie chez les souris mâles traitées par 140 mg/kg de SF         | Annexe 4 |
| <b>Tableau V</b> : Paramètres biologiques de référence chez les souris mâles de la souche SWISS selon « JANVIER LABS »      | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.1</b> : Valeurs des GB chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                    | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.2</b> : Valeurs des GR chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                    | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.3</b> : Valeurs d'Hb chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                      | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.4</b> : Valeurs d' Ht chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                     | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.5</b> : Valeurs de VGM chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                    | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.6</b> : Valeurs de CCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                   | Annexe 4 |
| <b>Tableau VI.7</b> : Valeurs de TCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF                   | Annexe 4 |
| <b>Tableau VII.1</b> : Valeurs de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF        | Annexe 4 |

|   |          |
|---|----------|
| <b>Tableau VII.2</b> : Valeurs de cholestérolémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF | Annexe 4 |
| <b>Tableau VII.3</b> : Valeurs de taux de TG chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF      | Annexe 4 |
| <b>Tableau VII.4</b> : Valeurs du taux de glucose chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF | Annexe 4 |

# Table des matières

|  |           |
|--|-----------|
| Introduction.....  | 1         |
| <b>Etude bibliographique</b>                               |           |
| <b>Généralités sur le fer.....</b>                         | <b>3</b>  |
| 1. Définition du fer.....                                  | 3         |
| 2. Formes du fer.....                                      | 3         |
| 3. Répartition du fer dans l'organisme.....                | 3         |
| 4. Fonctions du fer.....                                   | 6         |
| 5. Métabolisme du fer.....                                 | 6         |
| 5.1. L'absorption intestinale du fer .....                 | 6         |
| 5.2. Les facteurs influençant sur l'absorption du fer..... | 7         |
| 6. Régulation du métabolisme de fer.....                   | 8         |
| 7. Besoins en fer de l'organisme.....                      | 9         |
| 8. Pertes physiologiques du fer.....                       | 10        |
| <br>   |           |
| <b>Carence en fer et anémie.....</b>                       | <b>11</b> |
| 1. Définition de la carence en fer.....                    | 11        |
| 2. Stades de la survenue de l'anémie ferriprive .....      | 11        |
| 3. Epidémiologie de la carence en fer .....                | 11        |
| 4. Étiologies de la carence en fer .....                   | 12        |
| 5. Signes de la carence.....                               | 12        |
| 6. Bilan biologique .....                                  | 13        |
| 7. Méthodes pour prévenir l'anémie .....                   | 14        |
| <br>   |           |
| <b>Le sulfate ferreux (FeSO<sub>4</sub>).....</b>          | <b>15</b> |
| 1. Définition du sulfate ferreux .....                     | 15        |
| 2. Propriétés physico-chimiques .....                      | 15        |
| 3. Origine du sulfate ferreux .....                        | 16        |
| 4. Utilisation du sulfate ferreux .....                    | 17        |
| 4.1. Dans l'enrichissement des aliments.....               | 17        |
| 4.2. En pharmacie dans le traitement de l'anémie.....      | 18        |
| 5. Effets indésirables du sulfate ferreux .....            | 19        |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Etudes toxicologiques</b> .....                                    | <b>20</b> |
| 1. Organes cibles des xénobiotiques .....                             | 20        |
| 2. Foie .....   | 20        |
| 2.1. Rappel anatomique et histologique du foie.....                   | 20        |
| 2.1.1. Anatomie du foie.....  | 20        |
| 2.1.2. Histologie du foie .....                                       | 21        |
| 2.2. Fonctions du foie .....  | 22        |
| 2.3. Différents types d'hépatotoxicité .....                          | 22        |
| <br>  |           |
| <b>Etude expérimentale</b>  |           |
| <b>Matériel et méthodes</b> .....                                     | <b>23</b> |
| <b>1. Matériel</b> .....  | <b>23</b> |
| 1.1. Matériel biologique .....  | 23        |
| 1.2. Matériel non biologique .....                                    | 24        |
| <b>2. Méthodes</b> .....  | <b>24</b> |
| 2.1. Poids corporel .....   | 24        |
| 2.2. Conception de l'étude .....                                      | 24        |
| 2.3. Observation du comportement générale des souris .....            | 24        |
| 2.4. Prélèvement des échantillons sanguins .....                      | 25        |
| 2.5. Analyse du sang .....  | 25        |
| 2.5.1. Méthode de dosage des paramètres hématologiques .....          | 25        |
| 2.5.2. Méthodes du dosage des paramètres biochimiques .....           | 25        |
| 2.6. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes .....           | 29        |
| 2.7. Réalisation des coupes histologiques .....                       | 29        |
| 2.8. Analyse statistique.....   | 31        |
| <br>  |           |
| <b>Résultats et discussion</b> .....                                  | <b>32</b> |
| 1. Résultats .....  | 32        |
| 1.1. Effet de sulfate ferreux sur le poids .....                      | 32        |
| ○ Le poids corporel .....   | 32        |
| ○ Le poids de foie .....  | 33        |
| 1.2. Observation du comportement générale des souris .....            | 35        |
| 1.3. Effet de sulfate ferreux sur les paramètres hématologiques ..... | 35        |

|   |    |
|---|----|
| 1.4. Effet de sulfate ferreux sur les paramètres biochimiques .....       | 42 |
| 1.5. Effet de sulfate ferreux sur la structure histologique du foie ..... | 47 |
| 2. Discussion.....  | 51 |
| Conclusion.....   | 54 |
| Références bibliographiques.....  | 55 |
| Annexes   |    |

# Introduction

Le fer est un oligo-élément très important au maintien de la vie. Il joue un rôle indispensable dans l'organisme humain. L'importance biologique du fer est largement attribuable à ses propriétés chimiques, exactement à sa capacité de subir des réactions d'oxydation-réduction entre ses états ferrique et ferreux (**Binet, 2009**).

Par ailleurs, le fer est un constituant essentiel des hémoprotéines telles que l'hémoglobine, la myoglobine et le système du cytochrome, participant ainsi au transport de l'oxygène et l'érythropoïèse, à la production de l'énergie oxydative, à la respiration mitochondriale et à l'inactivation des radicaux libres toxiques (**Walter et al, 2010**).

Dans les conditions physiologiques, la concentration martiale est hautement conservée et contrôlée par des mécanismes régulateurs faisant intervenir des protéines spécifiques pour l'absorption, le transport et la réserve. En effet, le surplus en fer est stocké sous forme de réserves utilisées ultérieurement en cas de carence (**Atakouma ,1986**).

Selon l'**Organisation Mondiale de la Santé**, l'anémie par carence en fer est la principale forme d'anémie nutritionnelle dans le monde entier, touchant plus d'un milliard de personnes. L'importance de corriger cette situation, à travers la fortification des aliments par le fer dans les régions où l'anémie est endémique ou par la thérapie de fer par voie orale, est essentielle. La thérapie par voie orale est l'option la plus utilisés afin de remplacer la carence en fer mais elle peut produire une certains toxicités gastro-intestinale et elle peut atteindre aussi le foie car il est le principal site de stockage de fer.

Le sulfate ferreux est le supplément le plus prescrit pour l'anémie car il montre une absorption acceptable, mais des résultats récents ont révélé que ce supplément peut présenter des changements défavorables dans les bactéries du côlon et augmenter la possibilité des infections systémiques et les signaux inflammatoires de l'épithélium (**Carrier et al., 2002; Werner et al., 2011**).

D'autre part, l'excès de fer cellulaire peut être toxique en raison de la production d'espèces réactives d'oxygène telles que  $O_2$  et HO qui endommagent les protéines, les lipides et l'ADN (**Houglum et al., 1990; Toyokuni, 2002**).

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'effet de sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4$ ) sur :

- L'évolution pondérale,
- La variation de quelques paramètres hématologiques et biochimiques.
- L'histopathologie de tissu hépatique chez des souris mâles adultes pendant 31 jours.

## Généralités sur le fer

### 1. Définition de fer :

Le fer est le sixième élément le plus abondant dans l'univers (**Lamy et al., 2012**) de symbole Fe et de numéro atomique 26, il est voisin de Ni et Co, Mn et Cr (**Touri, 2012**). C'est un métal de transition impliqué dans de nombreuses fonctions vitales pour le corps humain. Il est fondamental et indispensable pour la biologie des cellules eucaryotes (**Lamy et al., 2012**).

### 2. Formes de fer :

Dans l'organisme le fer existe sous deux formes (**Prasad, 1978**) :

- **Le fer ferreux « héminique » :**

C'est la forme réduite de fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (**Segalen, 1964**). Le fer hémique bivalent d'origine animale (viande, poisson, volaille) (**Demarmels Biasiutti, 2009**) se caractérise par une assimilation avoisine 25% (**Fedala, 2010**). Ce type de fer est combiné à des molécules dérivant de la protoporphyrine qui renferme de l'hème, et c'est sous cette forme que le fer joue son rôle de transporteur d' $\text{O}_2$  (**Annaix e Corbel, 2009**).

- **Le fer ferrique « non héminique » :**

C'est la forme oxydée de fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) (**Segalen, 1964**). Le fer non hémique trivalent d'origine végétal (**Franziska, 2009**) est absorbé à seulement 5% (**Fedala, 2010**). Ce type de fer est lié à des molécules organiques et représente la majeure partie du fer alimentaire (**Annaix et Corbel, 2009**).

### 3. Répartition du fer dans l'organisme :

Le fer se répartit entre plusieurs compartiments (fonctionnel, de transport et de réserve) (**Broglio, 2010**) (Tableau 01).

- **Le fer héminique :** il est retrouvé dans le compartiment fonctionnel. C'est le plus important, il représente 65% du fer de l'organisme et entre dans la composition de plusieurs protéines :
- **L'hémoglobine (Hb) :** molécule à 04 chaînes protéiques (02 alpha et 02 bêta) liées chacune à une molécule d'hème, renfermant un atome de fer. Il y a en tout environ 3 g de fer dans l'hémoglobine totale d'un homme d'environ 70 kg (**Fedala, 2010**) (**Figure 01**).

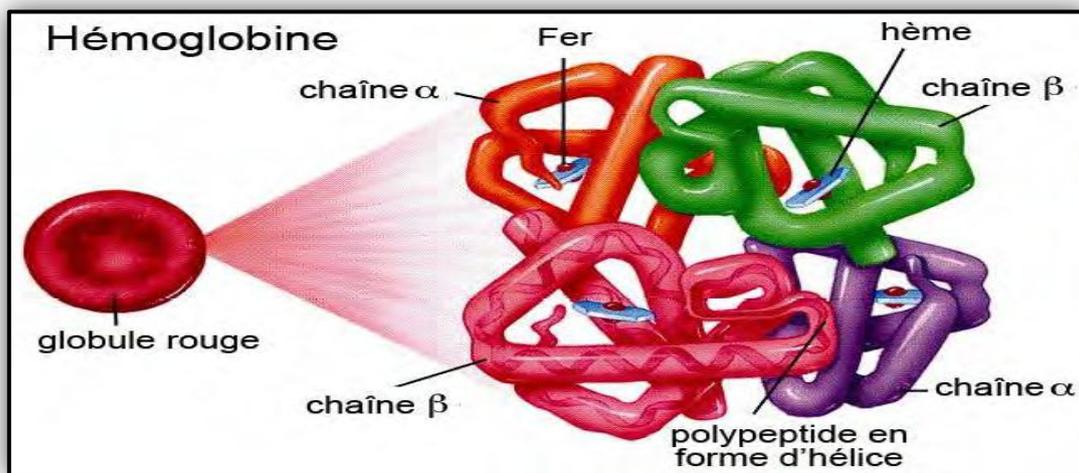


Figure 01 : Schéma d'hémoglobine (Faure et al., 2013)

- **La myoglobine** : protéine musculaire qui s'associe à une molécule d'hème. Elle sert au transport de l'oxygène et à sa mise en réserve dans les muscles et le restituer aux mitochondries. Il y a en tout environ 0,3 g de fer porté par la myoglobine (Lepporrier, 1999).
- **De nombreuses enzymes cellulaires** : qui interviennent dans le métabolisme oxydatif (catalase, cytochromes, peroxydases, NOSynthases, tryptophane-pyrrolase) (Hennen, 1996). Toutes ces enzymes représentent approximativement 0.3 g de fer (Fedala, 2010).
- **Le fer non héminique** : il existe sous forme de réserve et de transport :

**Formes de réserves** : elles représentent 25% du fer total soit environ 1 g (Lederer, 1988). Le fer est localisé dans le système réticulo-endothélial, c'est-à-dire dans le foie, la rate, la moelle osseuse et les muscles squelettiques (Fedala, 2010).

- **La ferritine ou apoferritine** : protéine fixant le fer, rapidement mobilisable, soluble, c'est une des principales réserves en fer de l'organisme. Sa synthèse augmente quand la quantité de fer dans le compartiment circulant augmente (Mehta et Hoffbrand, 2003).
- **Hémosidérine** : est une autre forme de stockage du fer. Il s'agit d'un composé insoluble avec un contenu plus élevé en fer que la ferritine. Il semble représenter une forme dégradée de la ferritine elle-même (Hennen, 1996).

**Formes de transport :**

- **La transferrine :** est la protéine de transport du fer dans le plasma. C'est une glycoprotéine synthétisée au niveau du foie et possède deux sites de liaison de  $Fe^{3+}$ . La synthèse de la transferrine est augmentée en cas de carence en fer et diminuée lorsque les réserves en fer sont saturées. Le fer lié à la transferrine est transféré au niveau des cellules nucléées précurseurs de globules rouges et des réticulocytes par l'intermédiaire d'une liaison spécifique à des très nombreux récepteurs de membrane qui ont une avidité plus grande pour la transferrine lorsqu'elle est saturée en fer (**Hennen, 1996**).
- **La ferritine plasmatique:** forme modifiée de la ferritine tissulaire. Elle est dosée au laboratoire pour avoir une idée des réserves (**Fedala, 2010**).

La quantité de fer dans l'organisme est de 40 mg à 50 mg de fer par kilogramme, ce qui représente 3 à 4 g chez un adulte (**Dreyfus, 1992**) (**Tableau 1**).

**Tableau 01 :** Différents compartiments du fer dans l'organisme (**Broglia, 2010**).

| Type de fer |                      | Concentration en mg de fer par kg |       |
|-------------|----------------------|-----------------------------------|-------|
|             |                      | Homme                             | Femme |
| Fonctionnel | Hémoglobine          | 31                                | 28    |
|             | Myoglobine           | 5                                 | 4     |
|             | Enzymes hémiques     | 1                                 | 1     |
|             | Enzymes non hémiques | 1                                 | 1     |
| Transport   | Transferrine         | 0.2                               | 0.2   |
| Réserve     | Ferritine            | 8                                 | 4     |
|             | Hémosidérine         | 4                                 | 2     |
| Total       |                      | 50                                | 40    |

#### **4. Fonctions du fer:**

Bien que la présence du fer dans le corps se limite à de petites quantités, il joue un rôle très important dans la physiologie de l'organisme (**Yip, 2000**). Il est essentiel à la vie principalement en raison de sa présence à l'intérieur de la molécule d'hème, une molécule cruciale pour la transformation de l'énergie et pour sa participation dans les réactions d'oxydoréduction (**Linder, 1985; Hunt et Groff, 1990; Mahan et Escott-Stump, 1996**). Ce microminéral situé dans le centre de la molécule d'hème de l'hémoglobine permet le transport de l'oxygène des poumons aux tissus, appelée fonction oxalovinique du sang (**Hercberg et Galan, 1989**).

Le fer hémique contenu dans les cytochromes facilite le transfert des électrons dans la chaîne respiratoire. Le fer joue aussi un rôle important dans de nombreuses réactions enzymatiques, ainsi la production d'ATP dans la mitochondrie implique la participation de plusieurs enzymes contenant du fer hémique et non-hémique. De plus, le fer joue un rôle important dans le fonctionnement du cerveau, dans la synthèse et le fonctionnement des neurotransmetteurs, et serait impliqué dans la performance cognitive (**Hunt et Groff, 1990; Mahan et Escott-Stump, 1996**). Il participe aussi dans la synthèse de l'ADN, le métabolisme des lipides et la détoxification (**Loréal et al., 2012**).

#### **5. Métabolisme du fer :**

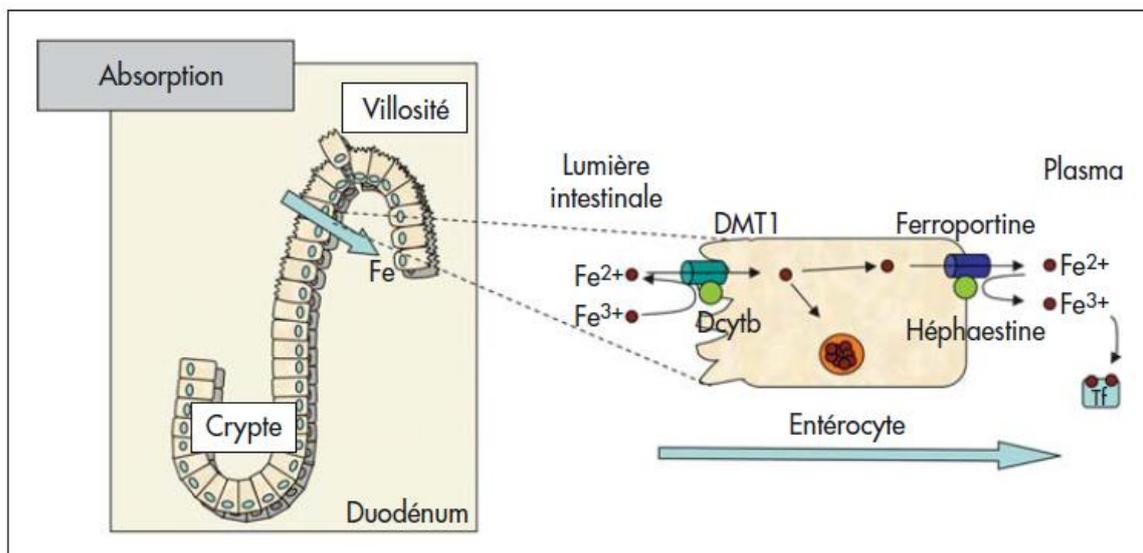
##### **5.1. L'absorption intestinale du fer :**

Le fer se distingue des autres minéraux parce que son équilibre dans le corps humain est régulé seulement par son absorption parce qu'il n'y a pas de mécanisme physiologique d'excrétion. L'absorption du fer alimentaire nécessite que le fer traverse la membrane apicale et basolatérale des cellules épithéliales du duodénum (**Anderson et Frazer, 2005**). Avant son absorption, le fer  $Fe^{3+}$  est réduit en  $Fe^{2+}$  par une réductase localisée à la surface externe de la membrane apicale appelée duodénal cytochrome B (**Dcyt B**) réductase. Le  $Fe^{2+}$  est ensuite transporté à travers la membrane grâce au Co-transporteur apical divalent metal transporter 1 (**DMT1**) capable de transporter le fer  $Fe^{2+}$  couplé à un proton. Une fois dans la cellule, le fer est, soit stocké sous une forme non réactive, grâce à la ferritine, soit il est livré à la circulation grâce à la ferroportine (FPN) localisée dans la membrane basolatérale. La FPN est une protéine transmembranaire exprimée aussi dans les macrophages où elle joue également un rôle primordial dans l'export du fer (**El Azami, 2013**).

L'inactivation conditionnelle du gène codant pour la FPN induit une anémie ferriprive due à une retenue du fer dans les macrophages et dans les entérocytes duodénaux. Le  $\text{Fe}^{2+}$  transporté par la FPN est ensuite oxydé en  $\text{Fe}^{3+}$  par une ferroxidase membranaire indispensable (**Héphaestine** ou **cybrd1**), avant d'être transféré et capté par la Tf plasmatisque pour distribution aux cellules de l'organisme (**Donovan et al., 2005**) (**Figure 02**).

Le fer peut également être absorbé sous forme hémique et métabolisé grâce à une enzyme appelée l'hème oxygénase dont l'isoforme majeure est hème oxygénase-1 (**HO-1**), libérant ainsi l'atome de fer.

L'absorption de l'hème est plus efficace que l'absorption du fer inorganique mais le mécanisme est encore mal connu (**El Azami, 2013**).



**Figure 02 : Absorption intestinale du fer (Viatte et Vaulont, 2005)**

### 5.2. Les facteurs influençant sur l'absorption du fer :

Les taux d'absorption du fer alimentaire varient de 1 à 3% pour les céréales, de 2 à 5% pour les légumineuses et de 10 à 20% pour les viandes et le poisson, ce qui signifie que l'absorption intestinale est influencée par la composition de l'aliment en fer et par d'autres facteurs (**Atakouma, 1986**). L'absorption est augmentée par la vitamine C (acide ascorbique) qui facilite la réduction de fer ferrique en fer ferreux. Les aliments riches en tannates, en phytates et les antisécrotoires doivent être évités car ils compromettent l'absorption du fer (**Figure 03**). Les complexes multivitaminiques associés aux oligoéléments sont à éviter du fait de leur faible teneur en fer (**Serraj et al., 2013**). Au total, un apport de 10 à 20 mg de fer permet d'assurer les besoins quotidiens de 1 à 2 mg/j selon le sexe (**Wémeau et al., 2014**).

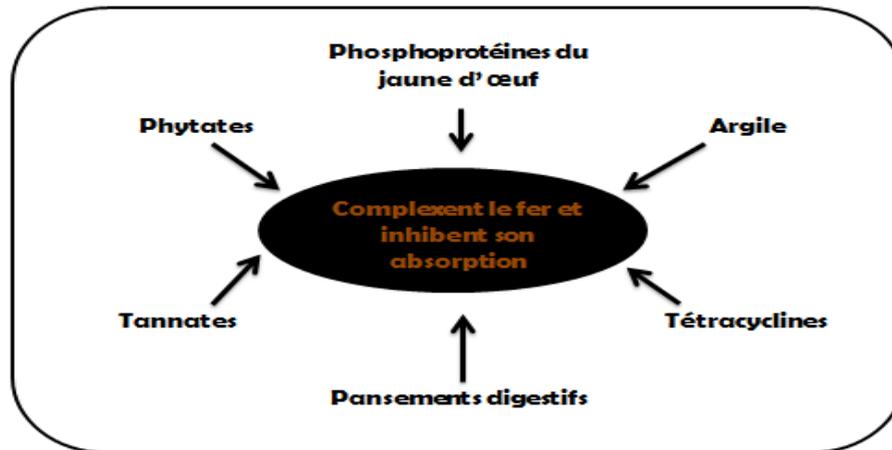


Figure 03 : Schéma représentative des facteurs qui inhibent l'absorption de fer (Binet, 2009)

## 6. Régulation du métabolisme de fer :

La régulation de l'absorption du fer se fait essentiellement par modification du taux d'absorption intestinale en fonction du degré de l'hémoglobino-synthèse et des réserves (Atakouma, 1986).

Cependant, un mécanisme majeur permettant de protéger la cellule a été mis en évidence. Il s'agit du système **IRE/IRP** (« Iron responsive element / Iron regulatory protein »). L'IRE est une séquence nucléotidique qui possède une structure en tige-boucle localisée en région 5' ou 3' non traduite sur certains ARN messagers (ARNm). Les IRP (1 et 2) sont des protéines qui peuvent interagir avec les structures IRE. Les ARN de la ferritine et du récepteur de la transferrine 1 possèdent tous deux ce type de structure : l'ARN de la ferritine possède un IRE en région 5' alors que celui du récepteur de la transferrine 1 possède plusieurs en région 3' (Loréal et al., 2012).

En situation de carence en fer dans la cellule, les IRP s'interagissent avec les boucles IRE ce qui :

- a) pour l'ARNm de la ferritine empêche la fixation du complexe permettant la traduction et limite donc la synthèse de ferritine et,
- b) pour le récepteur 1 de la transferrine limite la dégradation de l'ARNm du récepteur de la transferrine et favorise la synthèse du récepteur.

L'entrée du fer est donc facilitée dans la cellule pour permettre les activités biologiques, alors que la synthèse de ferritine est limitée puisqu'il n'y a aucune nécessité d'orienter le fer vers le compartiment de stockage du fer cellulaire.

En situation d'excès de fer dans la cellule, l'interaction des IRPs avec les IRE ne se produit plus, ce qui a pour conséquence :

- a) pour l'ARNm de la ferritine de favoriser la fixation du complexe permettant la traduction de l'ARNm et donc la synthèse de ferritine et,
- b) pour le récepteur 1 de la transferrine de favoriser la dégradation de l'ARNm du récepteur de la transferrine et ainsi de limiter la synthèse du récepteur.

L'entrée du fer dans la cellule est donc limitée pour éviter toute majoration du fer cellulaire, alors que la synthèse de ferritine permet d'orienter le fer vers le compartiment de stockage. Le pool labile, dont l'augmentation est toxique pour la cellule, est donc contrôlé (**Loréal et al., 2012**).

Cette régulation est maintenue aussi par des molécules régulatrices tels que :

L'hepcidine : est un petit peptide dont la forme mature comprend 25 acides aminés. Synthétisée essentiellement par l'hépatocyte, elle est sécrétée dans le plasma et interagit à distance avec la ferroportine membranaire (**Loréal et al., 2012**) ce qui entraîne une inhibition de la sortie de fer de l'entérocyte (**Demarmels Biasiutti, 2009**); et elle a aussi des propriétés antimicrobiennes.

Toute augmentation de l'hepcidine – à l'occasion d'une inflammation, d'une infection ou d'une surcharge en fer – se traduit donc par une diminution de l'absorption du fer (**Wémeau et al., 2014**).

## **7. Besoins en fer de l'organisme :**

Les besoins en fer sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 02 : Valeurs quotidiennes recommandées en fer (Dupont, 2004)**

|                                      | <b>Quantité de fer<br/>recommandé<br/>(mg /J)</b> |
|--------------------------------------|---|
| <b>Nourrisson</b>                    | 9   |
| <b>Enfant</b>                        | 10  |
| <b>Après 10 ans</b>                  | 15  |
| <b>Adulte</b>                        | 10  |
| <b>Femme (à cause des règles)</b>    | 22  |
| <b>Femme enceinte ou qui allaite</b> | 22  |
| <b>Senior</b>                        | 10  |

## **8. Pertes physiologiques du fer :**

Le fer est recyclé dans l'organisme et les besoins doivent juste compenser les pertes :

- Pertes régulières (**Valdiguie, 2000**) : Elles sont le fait de la desquamation cellulaires, digestives et cutanées, des pertes urinaires, d'une excrétion biliaire, et de la sudation (**Goncalves et Beaumont, 2005**). Ceci représente environ  $1 \text{ mg.j}^{-1}$  pour un adulte (**Fillet, 2009**).
- Pertes épisodiques (**Valdiguie, 2000**) : liées aux hémorragies, aux pertes menstruelles ( $4 \text{ mg/j}$ ), à la grossesse et à l'allaitement (**Fillet, 2009**).

## **Carence en fer et anémie**

### **1. Définition de la carence en fer :**

La déficience en fer peut être définie comme le moment où les réserves de fer corporel deviennent épuisées résultant en un apport restreint en fer dans les différents tissus corporels (**Beard, 1994**). Aux stades les plus avancés, elle conduit à l'anémie (**Lindsay et al., 2011**).

L'anémie ferriprive (AF) est caractérisée par une diminution de l'hémoglobine et du volume des globules rouges. Le frottis sanguin révèle donc une hypochromie avec microcytose (**Longpré, 1983**).

### **2. Stades de la survenue de l'anémie ferriprive :**

L'évolution vers l'anémie ferriprive ne se fait qu'après plusieurs mois de déséquilibre selon les étapes suivantes (**Mouline, 2007**) :

- ❖ **Diminution des réserves en fer** : le premier stade du développement de l'anémie ferriprive est la diminution des réserves en fer de l'organisme (**Ciangura et al., 2011**). A ce stade, le patient ne présente pas encore les signes caractéristiques de l'anémie ferriprive en termes de manifestations cliniques et d'analyses de laboratoire (**Lefrere, 2009**).
- ❖ **Déficience en fer dans l'érythropoïèse (production de GR)** : ce stade se caractérise par la production limitée de GR (**Andres, 2012**).
- ❖ **L'anémie ferriprive** : ce stade indique un bilan ferrique négatif prolongé (les besoins et/ou les pertes en fer dépassent l'apport) et aboutit à la production de cellules à faible taux d'Hb (morphologie érythrocytaire hypochrome - microcytaire) (**Mauvieux, 2006**).

### **3. Epidémiologie de la carence en fer :**

La carence en fer est la fréquente des carences nutritionnelles et toucherait 1 milliard d'individus à travers le monde. Il concerne à la fois les pays en voie de développement et les pays industrialisés, qui pour certains ont mis en place des programmes de prévention (supplémentation des groupes à risque, enrichissement en fer de certains aliments) (**Vaubourdolle, 2013**).

La prévalence de la carence est variable selon l'âge (prématuré, période de croissance), le sexe (femme), l'état physiologique (grossesses, allaitement, règles), l'environnement (apports alimentaires) et le niveau socio-économique (carence plus fréquente en cas de niveau socio-économique bas) (**WHO, 2001**).

#### **4. Etiologies de la carence en fer :**

Le manque de fer peut provenir :

- D'une perte excessive du fer. C'est ce qui se passe dans le cas des hémorragies chroniques. Ce sont des pertes de sang régulières, à la différence des hémorragies aiguës où les pertes sont importantes mais ponctuelles et où le métabolisme du fer n'est pas altéré (**Ferreira et al., 2015**).
- D'une carence en fer provoquée par une alimentation déséquilibrée. Les végétariens sont la cible privilégiée de ce type d'anémies. Ils doivent compenser l'absence de viande par des apports en fer autres mais, la viande, en plus d'être la principale source de fer et le puissant stimulant de son absorption par l'organisme (**Ferreira et al., 2015**).
- D'une carence en fer provoquée par une mauvaise absorption du fer (**Mehta et Hoffbrand, 2003**).
- De besoins en fer accrus. C'est ce qui se passe lors de la grossesse, de l'allaitement, de la croissance et après des grossesses à répétition (**Ferreira et al., 2015**).
- Plusieurs pathologies peuvent affecter l'absorption du fer ou son transport ou conduire à des pertes de fer contribuant ainsi à la survenue de la carence en fer : infections parasitaires, hémoglobinopathies et maladies chroniques (**Lynch, 2007; Calis et al. 2008; Winichagoon, 2008**).

#### **5. Signes de carence :**

Selon **Dupont (2004)**, la carence en fer peut se manifester par :

- ✓ Fatigue, pâleur, essoufflement, palpitations, vertiges, éblouissements, baisse de tension, malaises; le tout lié à l'anémie.
- ✓ Ongles cassants, plats, parfois concaves et chute des cheveux.
- ✓ Fatigue psychique et dépression proportionnelle au degré de carence en fer.
- ✓ Douleurs gastriques et faiblesse musculaire.
- ✓ Chez la femme : règles plus abondantes.
- ✓ Accroissement des risques d'infections mycosiques ou bactériennes, de candidoses digestives et vaginale, de furoncles et de folliculite par le staphylocoque doré.
- ✓ Infections accompagnées de brûlures intestinales, de colites et de démangeaisons vaginales

## **6. Bilan biologique :**

### **6.1. Paramètres hématologiques :**

- Le défaut de synthèse en hémoglobine induit un avortement intramédullaire des érythroblastes. La numération des réticulocytes est alors inférieure à 120 g/L (caractère arégénératif).
- Une diminution de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) inférieure à 28 pg (hypochromie), et du volume globulaire moyen du globule rouge (VGM) inférieur à 80 mm (**Cook, 2005**).
- Une diminution de l'hémoglobine inférieure à un seuil limite qui varie en fonction de l'âge et du sexe. Ce seuil est fixé à 120 g/L pour les femmes non enceintes et 130 g/L pour les hommes.
- Plaquettes Augmentation modérée et inconstante (**WHO, 2001**).

### **6.2. Paramètres biochimiques :**

- Le test le plus sensible en routine est le dosage de la ferritinémie qui est, dans ce cas, inférieur à 30 mg/L (**Guyatt et al., 1990**).
- Le fer sérique subit des variations nyctémérales significatives avec un maximum vers 11 h du matin, son taux est inférieure à 11 mmol/L pour les femmes et 13 mmol/L pour les hommes (**Espanel et al., 2007**).
- Dans les carences martiales, le taux de transferrine est typiquement augmenté (>3g/L), avec un coefficient de saturation (CS) diminué (<16%), et une capacité totale de fixation (CTF) augmentée (>85mmol/L) (**Espanel et al., 2007**).

## **7. Méthodes pour prévenir l'anémie par carence en fer :**

Les stratégies applicables permettant d'accroître la prévention de la carence en fer sont nombreuses. Les solutions couramment proposées sont :

- ❖ La supplémentation en fer, c'est-à-dire l'administration du fer sous forme médicamenteuse orale à titre thérapeutique ou à titre préventif sous forme de fer élémentaire (**Fedala, 2011**). la meilleure forme est le sulfate de fer (SF) (200 mg / comprimé) (**Mehta et Hoffbrand, 2003**).
- ❖ L'enrichissement des aliments en fer est souvent considéré comme le moyen de lutte contre l'anémie le plus efficace, avec des effets à plus long terme pour réduire la prévalence de la carence en fer (**Hurrell, 1997**).
- ❖ Les transfusions sanguines sont indiquées lorsqu'il existe des signes de mauvaise tolérance de l'anémie (**Espanel et al., 2007**).

## Le sulfate ferreux (FeSO<sub>4</sub>)

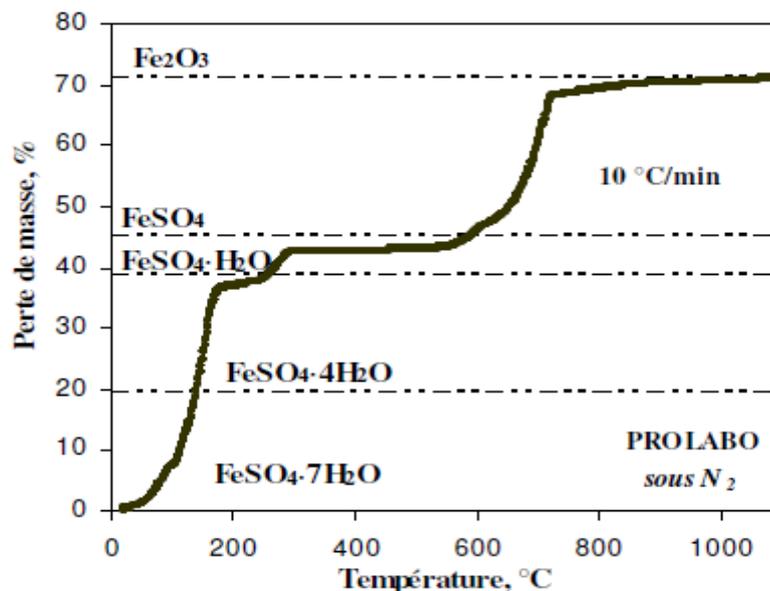
### 1. Définition du sulfate ferreux :

Le sulfate ferreux (ou sulfate de fer II), dont la formule est FeSO<sub>4</sub>, composés de fer se trouvent dans le commerce sous forme encapsulée (l'encapsulation vise principalement à séparer le fer des autres constituants des aliments pour éviter des modifications organoleptiques). Le fer est à l'état +2 (Fe<sup>2+</sup>; ion ferreux) c'est-à-dire qu'il a perdu deux électrons (Lindsay *et al.*, 2011).

### 2. Propriétés physico-chimiques :

Le sulfate ferreux se présente sous forme de petits cristaux verts à l'état hydraté, et d'une poudre blanchâtre à l'état anhydre. On l'appelait aussi, autrefois, "couperose verte" ou "vitriol vert". Le SF présent une solubilité dans l'eau avec une quantité de fer de 20% hydraté et 30% pour le SF anhydre.

Les réactions d'obtention de SF a partir de SF heptahydraté, qui a été soumis au traitement sous azote et exposée a des degrés évolutifs de température, sont :



**Figure 04 :** Perte de masse (ATG) de FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O sous N<sub>2</sub> à vitesse de chauffe de 10 °C.min<sup>-1</sup> (Ostrosi, 2007)

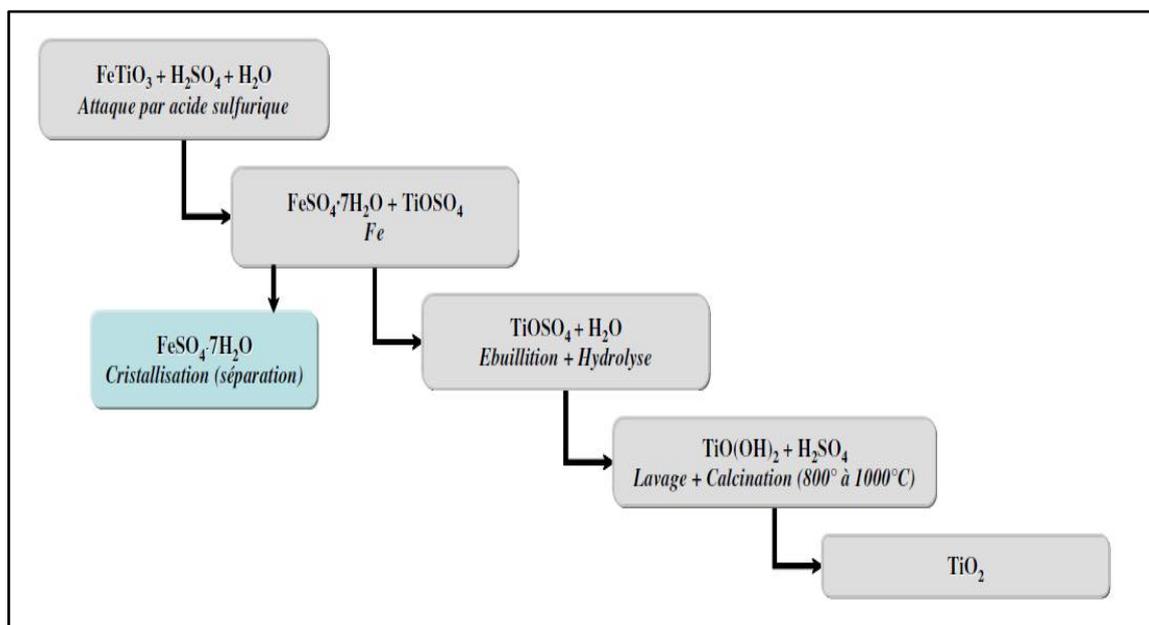
### 3. Origine du sulfate ferreux

Le sulfate de fer existe dans la nature sous forme heptahydraté, la mélantérite, un sel très connu depuis les temps anciens sous le nom de « vitriol vert » servant particulièrement comme médicament ou encore pour la synthèse de l'encre noire (Ostrosi, 2007).

#### 3.1. De l'industrie du titane suite au traitement d'ilménite par attaque à l'acide sulfurique :

Le dioxyde de titane est produit à partir des matières premières (ilménite, rutil, scories,... etc.) en utilisant les procédés dits « au sulfate » et « au chlore » (Perrin et Scharff, 1993; Harben, 1995).

La figure 05 illustre le schéma et les principales réactions qui ont lieu au cours de la production de  $\text{TiO}_2$  et de sulfate de fer à partir de l'ilménite.



**Figure 05 :** Schéma de production de  $\text{TiO}_2$  et de  $\text{FeSO}_4$  à partir de l'ilménite (Ostrosi, 2007)

Le solide titanifère est attaqué par l'acide sulfurique, produisant une solution de sulfate de titane et le sulfate de fer. La solution est traitée par du fer métallique pour réduire les ions ferriques, ce qui évite la précipitation ultérieure d'hydroxyde ferrique. Une cristallisation provoque alors la précipitation de sulfate heptahydraté  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  qui est séparé par essorage (Ostrosi, 2007).

### **3.2. De l'industrie sidérurgique :**

Le sulfate ferreux est issu du décapage acide (par  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) des tôles d'acier. L'acier doit subir un décapage acide sévère avant de recevoir divers traitements de protection (phosphatation, chromage, émaillage...). Dans la filière de production de l'acier, le décapage des tôles se situe entre le laminage à chaud et le laminage à froid. Lorsque ce décapage est réalisé en milieu sulfurique, l'oxyde ferreux de surface est dissout selon la réaction :

$\text{FeO} + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{FeSO}_4 + \text{H}_2\text{O}$  ; avec la précipitation de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  après évaporation du bain. Actuellement, cette technique est supplantée par le découpage chlorhydrique qui permet un meilleur rendement. Selon les estimations, la quantité du sulfate ferreux d'origine sidérurgique en Europe ne dépasse pas 200 000 tonnes par an (**Carlé, 1998**).

## **4. Utilisations du sulfate ferreux :**

### **4.1. Dans l'enrichissement des aliments :**

Le sulfate ferreux est utilisé pour l'enrichissement des aliments destinés aux nourrissons, les pâtes et le pain. Il peut être ajouté à la farine de blé stockée pour des courtes périodes (le stockage prolongé provoque l'oxydation des lipides et la disparition d'arômes spécifiques). Le sulfate ferreux et les autres composés du fer solubles dans l'eau sont responsables de changements de couleur dans les produits à base de cacao, dans les produits céréaliers telles que les céréales destinées aux enfants et les tortillas. De même, ils peuvent provoquer des précipitations de fer dans les sauces à base de soja, de poisson et les infusions de thé (**Hercberg & Galan, 1989**).

Selon **Lynch (2002)**, La difficulté rencontrée lors de l'enrichissement des aliments en fer sera de sélectionner un composé du fer :

- qui possédera une grande biodisponibilité,
- qui ne sera pas modifié lors de l'élaboration de l'aliment,
- qui n'altérera pas les qualités organoleptiques de l'aliment fini.

**4.2. En pharmacie dans le traitement de l'anémie :**

Le SF est parmi les principales formes de supplémentation martiale orale, il reste le traitement standard et établi de la carence en fer étant donné sa tolérabilité acceptable, son efficacité élevée et son faible coût. Les préparations de sulfate ferreux présentent habituellement une bonne biodisponibilité (entre 10 et 15%) (Nagpal et Choudhury, 2004).

**Tableau 03 :** Caractéristique des différentes préparations de fer par voie orale (Demers et Lapierre, 2013).

| Sel ferreux   | Forme pharmaceutique               | Teneur en fer élémentaire   | Particularités  |
|---|------------------------------------|---|---|
| <b>Sulfate ferreux.7H<sub>2</sub>O</b><br><b>(Fer-In-Sol)</b> | Comprimé                           | <b>20%</b><br>- 1 comprimé de 300 mg fournit 60 mg de fer élémentaire | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Préparation de choix, car bonne tolérabilité, bonne efficacité et faible coût.</li> <li>- Prise possible en une seule dose (jusqu'à 900 mg) au coucher.</li> </ul> |
|   | Solution par voie orale (30 mg/ml) | - 1 ml fournit 6 mg de fer élémentaire                                |   |
|   | Gouttes par voie orale (75 mg/ml)  | - 1 mg fournit 15 mg de fer élémentaire                               |   |
| <b>Sulfate ferreux anhydre</b><br><b>(Slow-Fe)</b>            | Comprimé                           | <b>30%</b><br>- 1 comprimé de 160 mg fournit 50 mg de fer élémentaire | <ul style="list-style-type: none"> <li>- L'enrobage pourrait réduire l'absorption.</li> <li>- Mêmes particularités que le sulfate ferreux ordinaire.</li> </ul>   |

## **5. Effets indésirables du sulfate ferreux:**

Un surdosage en fer est également nocif pour la santé. En effet, rarement rencontré, il existe néanmoins dans les situations suivantes :

- Absorption excessive de fer à partir des aliments : hémochromatose héréditaire (une quantité trop importante de fer peut se déposer sur différents organes et conduire alors à l'hémochromatose). Il s'agit d'une des maladies génétiques les plus fréquentes, qui concerne, dans certaines régions du Nord de l'Europe, 1 personne sur 350 (**Halliday, 1998**).
- L'apport accru en fer par intoxication, transfusion, ... etc. augmenterait le risque d'hépatite et de cancer (**Schumann, 2001**).

Le surdosage peut se manifester par des troubles digestifs (irritation ou nécrose gastro-intestinale, vomissements et diarrhées), un dépôt de fer important surtout au niveau du foie et du pancréas pouvant entraîner une cirrhose du foie et un diabète insulino-dépendant, une pigmentation cutanée, des troubles hormonaux, des cardiopathies, des anomalies des ongles, des douleurs articulaires diffuses et une ostéoporose, ou encore un syndrome dépressif (choc) (**Edwards et al., 1988 ; Sempos & Looker, 1999**).

C'est pourquoi l'enrichissement des aliments doit se faire en fonction des besoins de la population cible, tout en veillant à ce que le reste de la population ne soit pas « surdosé ».

D'après l'Institut de Médecine de Canada, le seuil de toxicité en fer est de 100 mg/jour. Dans la majorité des cas, les teneurs maximales autorisées dans des aliments écartent pratiquement tout risque de surdosages (**Trumbo et al., 2001**).

## **Etudes toxicologiques**

Les études toxicologiques ont pour but de déterminer la toxicité des molécules testées appelées xénobiotiques. Ces molécules peuvent être un médicament, un polluant, ou toute autre substance chimique (Naudot, 2013).

### **1. Organes cibles des xénobiotiques :**

La plupart des organes peuvent être la cible des xénobiotiques mais certains organes comme le foie peuvent être plus vulnérables aux substances toxiques. Deux facteurs majeurs prédisposent cet organe : sa position et sa fonction ; La vascularisation du foie et sa situation privilégiée de relation entre l'appareil digestif et l'appareil circulatoire permet de réguler la distribution de nombreux métabolites issus de la nutrition (nutriments et xénobiotiques) (Lacarelle et Viala, 2005 ; Timbrell, 2009).

### **2. Le foie :**

#### **2.1. Rappel anatomique et histologique du foie :**

##### **2.1.1. Anatomie du foie :**

- **Aspect macroscopique du foie :**

Le foie est un organe rougeâtre rempli de sang, et, est la plus grosse glande de l'organisme (Ferreira et al., 2015). Il est situé sous le diaphragme, du côté droit et est entouré par la capsule fibreuse du foie ou capsule de Glisson. La face supérieure est lisse ; la face inférieure concave présente le hile hépatique, par où passent les vaisseaux sanguins et les conduits biliaires (Lacour et Belon, 2016).

- **Vascularisation du foie :**

Elle est extrêmement importante, le foie étant un organe très richement vascularisé recevant 25 à 30% du débit cardiaque (Lacour et Belon, 2016). La vascularisation du foie est dite mixte ou double, il possède :

- **Une vascularisation nutritive :** l'apport sanguin amenant le sang oxygéné est réalisé par l'artère hépatique ;
- **Une vascularisation fonctionnelle :** la veine porte hépatique ramenant le sang du tube digestif riche en nutriments en période postprandiale.

Le sang de ces deux vaisseaux pénètre le foie par sa face inférieure et se mélange dans les sinusoides hépatiques qui cheminent entre les travées d'hépatocytes. Le retour veineux du foie

s'effectue par les veines sus-hépatiques, qui se réunissent en une seule veine sus-hépatique, qui se jette dans la veine cave inférieure (Ferreira et al., 2015).

### 2.1.2. Histologie du foie :

#### ▪ Organisation en unités fonctionnelles :

Le parenchyme hépatique est constitué d'unités fonctionnelles microscopiques, les lobules hépatiques, qui sont entourés d'espaces portes où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires (Wallace et Meyer, 2010).

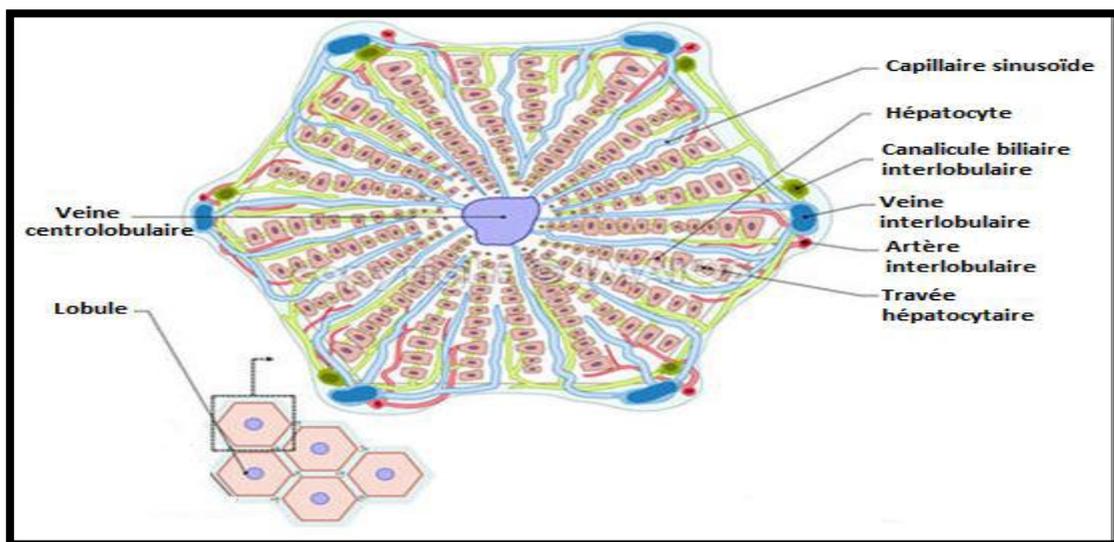


Figure 06 : Organisation structurale du lobule hépatique (Wallace et Meyer, 2010).

#### ▪ Cellules du foie :

Le foie est constitué d'hépatocytes, de sinusoides, des cellules endothéliales, des cellules de kupffer et des cellules des canaux biliaires (Tortora et Grabowski, 2002).

##### ✓ Les hépatocytes :

Ce sont des cellules épithéliales polyédriques disposées en travées (travées de Remak) séparées les unes des autres par les capillaires sinusoides (Poirier, 2003), et caractérisées par leur noyau central et parfois binucléé. Contiennent d'abondants grains de glycogène. Cette richesse en organites cytoplasmiques témoigne d'une grande activité métabolique (Lacombe, 2006).

##### ✓ Les sinusoides :

Sont formées par des cellules fenêtrées (0.2µm). cela permet aux grosses molécules (250000 daltons) d'entrer au contact direct des hépatocytes dans l'espace de Disse qui est situé entre

les capillaires et les lames d'hépatocytes. la composition des liquides remplissant l'espace de Disse est identique à celle du plasma sanguin (**Dadoun et al., 2000**).

✓ **Les cellules endothéliales :**

Les cellules endothéliales limite la sinusoïde et empêche le sang de s'immiscer dans l'espace de Disse tous en autorisant, par son système de pores, les échanges entre le plasma et les hépatocytes (**Wheater et al., 2001**).

✓ **Les cellules de kupffer :**

Elles sont situées à la surface liminale des cellules endothéliales et ont des fonctions des macrophages. Elles sont en particulier impliquées dans la phagocytose des hématies âgées et dans la dégradation de l'hémoglobine (**Tortora et Grabowski, 2002**).

✓ **Les cellules des canaux biliaires :**

La bile est produite par les hépatocytes et sécrétée dans les canalicules biliaires dont les parois avec microvillosités par la membrane plasmique hépatocytaire (**Poirier, 2003**).

## **2.2. Fonctions du foie :**

Selon **Ferreira et al., (2015)**, le foie possède un grand nombre de fonctions physiologiques :

- ✓ fonctions hématologiques, réservoir de sang, et lieu de synthèse de la plupart des protéines plasmatiques,
- ✓ fonctions métaboliques dans les métabolismes glucidique, lipidique et protéique,
- ✓ fonction de détoxification des xénobiotiques, des hormones stéroïdiennes, de la bilirubine, du cholestérol et de l'ammoniac,
- ✓ fonction digestive avec la sécrétion biliaire,
- ✓ fonction de stockage du fer et de certaines vitamines,
- ✓ fonction de défense avec les cellules de Kupffer

## **2.3. Différents types d'hépatotoxicité :**

L'ensemble des atteintes toxiques généralement figurés au niveau hépatique sont regroupés sous le mot l'hépatotoxicité. Ces atteints dépend fréquemment de la nature du toxique, la sévérité de l'intoxication, et ainsi du type d'exposition (aiguë ou chronique) : Stéatose, les Hépatites aigus (Nécrose, Fibrose, Cytolyse, Choléstase), les Hépatites chroniques (Cirrhose), ainsi que les dommages vasculaires, biliaires et tumorales (**Wallace et Meyer, 2010**).

Ce travail a pour objectif de mettre en évidence l'effet de fer donné sous forme de sulfate ferreux sur quelques paramètres biochimique et hématologique et sur l'histologie de tissu hépatique chez des souris.

L'expérimentation a été réalisée au niveau de l'animalerie de l'unité ANTIBIOTICAL de groupe Saidal, située à Médéa. La durée de l'étude est de Mars à Mai 2017.

Les analyses de sang des différents échantillons ont été réalisées au niveau du service de laboratoire de l'EPSP d'Ouled Yaïch. Tandis que l'étude histopathologique du tissu hépatique a été effectuée au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Parnet Hussein dey.

## **1. Matériel :**

### **1.1. Matériel biologique :**

- **Animaux étudiés :**

L'expérimentation a été réalisée sur dix-huit (18) souris blanches mâles (*Mus musculus*) de la souche Swiss âgées de 5 à 6 semaines avec un poids corporel qui varie entre 20 et 28 g, fournis par l'animalerie du groupe Saidal ANTIBIOTICAL.

Les souris sont élevées dans des cages en plastique dur, avec couvercle en inox, tapissées d'une litière constituées de copeaux de bois et munies d'une porte étiquette où est mentionnée le nom du lot, le produit d'intérêt et la date du début d'expérimentation. Les cages sont nettoyées et la litière est changée chaque jour jusqu'à la fin de l'expérimentation. L'eau de boisson est donnée « *ad-libitum* » dans des biberons adaptés aux cages.

Les locaux sont dotés d'une climatisation dynamique avec une température de  $22 \pm 2$  °C, un taux d'humidité de 65 %, un renouvellement d'air de 12 volumes /h et une photopériode alternée de 12 heures d'obscurité suivie de 12 heures de lumière.

- **Supplémentation de l'aliment :**

L'alimentation a été fournis par l'Office Nationale des Aliments de Bétail (ONAB); la composition des granulés de régime alimentaire des souris est présentée dans le **tableau I (Annexe 1)**.

Le sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4$ ) a été incorporé dans le régime standard qui a été broyé en poudre. Ensuite, l'alimentation est apportée aux animaux dans des boites de Petri.

## **1.2. Matériel non biologique**

Une gamme de matériel non biologique est utilisé afin de réaliser notre expérimentation. Le détail est cité dans l'**annexe 1**.

## **2. Méthodes**

### **2.1. Poids corporel :**

Le poids corporel moyen de chaque lot a été enregistré au début du traitement, et une fois par semaines par la suite à l'aide d'une balance. De plus, les souris ont été pesées le jour de l'autopsie programmée afin de déterminer leur rapport correct entre l'organe et le poids corporel.

Le poids relatif des organes (en gramme) est déterminé comme suite :

$$[\text{Poids absolu de l'organe (g) / Poids absolu (g)}] \times 100$$

### **2.2. Conception de l'étude :**

Les souris ont été maintenues sur un régime standard pendant une semaine avant le début de l'expérience durant laquelle elles ont été nourries avec un régime standard sous forme de poudre. A la date de début expérimentale, les animaux ont été répartis en trois groupes de six (06) souris chacun. Ensuite, elles ont été nourries avec les régimes expérimentaux contenant le sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4$ ) pendant 31 jours :

**Lot 1 :** souris témoins nourries avec un régime standard (**LT**).

**Lot 2 :** souris nourries avec un régime standard supplémenté avec 70 mg de sulfate ferreux /kg d'aliment (**L70**).

**Lot 3 :** souris nourries avec un régime standard supplémenté avec 140 mg de sulfate ferreux /kg d'aliment (**L140**).

### **2.3. Observation du comportement générale des souris :**

Les souris ont été observées quotidiennement et toutes les anomalies, les signes de mauvaise santé ou réactions au traitement ont été enregistrés afin de détecter les manifestations éventuelles de toxicité qui peuvent survenir à cause de l'accumulation du sulfate ferreux dans l'organisme.

## **2.4. Prélèvement des échantillons sanguins :**

Au 31<sup>ème</sup> jour d'expérimentation, les prélèvements sont réalisés, le matin à jeun, sous anesthésie à l'éther diéthylique. Nous avons prélevé pour chaque échantillon environ 1.5 ml. Le sang est recueilli dans des tubes en plastique à anticoagulants EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétique) et héparinés qui portent l'identification de chaque souris à l'aide d'un marqueur permanent:

- ✓ Les tubes à EDTA ont été utilisés pour le dosage des paramètres hématologiques.
- ✓ Les tubes héparinés ont été utilisés pour le dosage des paramètres biochimiques.

Pour le transfert vers le laboratoire d'analyses médicales, les échantillons sont mis dans une boîte d'isolation thermique (glacière).

## **2.5. Analyse du sang :**

### **2.5.1. Méthode de dosage des paramètres hématologiques :**

Les paramètres hématologiques sont déterminés en utilisant un analyseur d'hématologie ou "hémogramme".

- **Principe de la méthode :**

L'hémogramme est un examen biologique permettant de déterminer la nature des cellules présentes dans le sang, de les quantifier et d'évaluer certains paramètres sanguins ; y compris le nombre de globules blancs, le nombre de globules rouges, le Hb, l'hématocrite, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), le volume corpusculaire moyen (VGM) et la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (CCMH).

### **2.5.2. Méthodes du dosage des paramètres biochimiques :**

Les tubes destinés au dosage biochimique sont centrifugés à 3500 tours par minutes pendant dix (10) minutes (centrifugeuse Hettich EBA 3S).

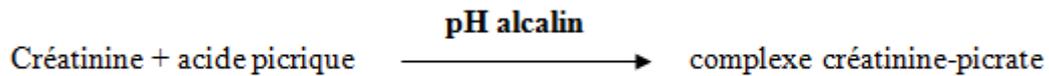
Par la suite, le plasma est récupéré pour le dosage des paramètres biochimiques qui sont analysés par la méthode basée sur le Spectrophotométrie (de type mindray BA-88A).

**a) Dosage de la créatinine (Méthode de Jaffé modifiée) :**

• **Principe :**

En milieu alcalin, la créatinine forme avec l'acide picrique un composé coloré, le picrate alcalin de créatinine, qui est déterminé photométriquement. La couleur produite dans la réaction est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon dans des conditions d'essai optimales.

La lecture de l'absorbance se fait à une longueur d'onde de 546 nm.



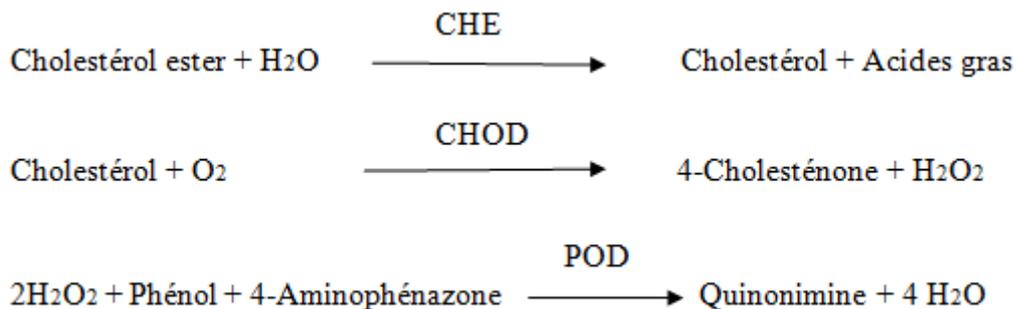
• **Réactifs :**

|                 |  |
|-----------------|--|
| <b>R1</b>       | Acide picrique .....55 mM                              |
| <b>R2</b>       | Carbonate de sodium .....50 mM                         |
| <b>R3</b>       | NaOH ..... 0.4M  |
| <b>Standard</b> | Solution aqueuses équivalente à 2mg/ dL (176.8 µmol/L) |

**b) Dosage de cholestérol (Méthode enzymatique colorimétrique "Kit SPINREACT") :**

• **Principe :**

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée, mesurée à 505nm, est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé.

• **Réactifs :**

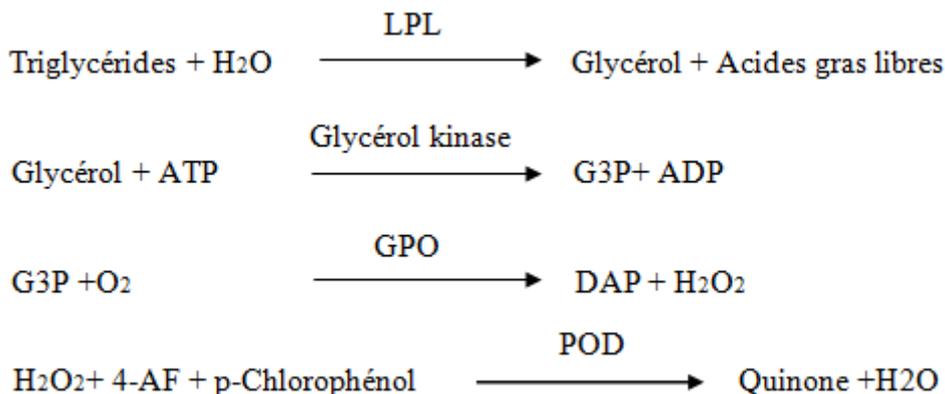
|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>R1</b><br>Tampon              | PIPES pH 6.9 .....90 mmol/ L                                |
|                                  | Phénol .....26 mmol/ L                                      |
| <b>R2</b><br>Enzymes             | Cholestérol estérase (CHE) .....300 U/ L                    |
|                                  | Cholestérol oxydase (CHOD) .....300 U/ L                    |
|                                  | Peroxydase (POD) .....1250 U/ L                             |
|                                  | 4-Aminophénazone (4-AF) .....0.4 mmol/ L                    |
| <b>Cholestérol</b><br><b>CAL</b> | Patron primaire de détection du cholestérol .....200 mg/ dL |

**c) Dosage des triglycérides (Méthode enzymatique colorimétrique "Kit SPINREACT") :**

• **Principe :**

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-diphosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le GPO.

Au final, le peroxyde d'hydrogène réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge.



L'intensité de la couleur formée, mesurée à 505nm, est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé.

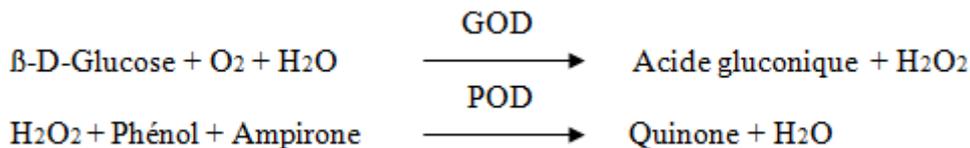
• **Réactifs :**

|               |   |
|---------------|---|
| <b>R1</b>     | Good pH 7.5 .....50 mmol/ L                                   |
| Tampon        | p-Chlorophénol .....2 mmol/ L                                 |
| <b>R2</b>     | Lipoprotéine lipase (LPL) .....150000 U/ L                    |
| Enzymes       | Glycérol kinase (GK) .....500 U/ L                            |
|               | Glycérol-3- oxydase (GPO) .....2500 U/ L                      |
|               | Peroxydase (POD) .....440 U/ L                                |
|               | 4- Aminophénézone (4-AF) .....0.1 mmol/ L                     |
|               | ATP .....0.1 mmol/ L  |
| <b>TG CAL</b> | Patron primaire de détection de triglycérides .....200 mg/ dL |

**d) Dosage du glucose "Kit SPINREACT" :**

• **Principe :**

Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) produit, se détache au moyen d'un accepteur chromo génique d'oxygène, de phénol-ampirone en présence de peroxydase (POD) :



L'intensité de la couleur formée, mesurée à 505nm, est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon testé.

• **Réactifs :**

|                    |   |
|--------------------|---|
| <b>R1</b>          | TRIS pH 7.4 .....92 mmol/ L                             |
| Tampon             | Phénol .....0.3 mmol/ L                                 |
| <b>R2</b>          | Glucose oxydase (GOD) .....15000 U/ L                   |
| Enzymes            | Peroxydase (POD) .....1000 U/ L                         |
|                    | 4-Aminophénazone (4-AF) .....2.6 mmol/ L                |
| <b>Glucose CAL</b> | Patron primaire de détection du glucose .....100 mg/ dL |

## **2.6. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes :**

Après l'achèvement des périodes de traitement, les animaux ont été privés de nourriture approximativement 16 heures avant l'autopsie.

Le jour de l'autopsie, les souris ont été pesées puis anesthésiées à l'éther diéthylique afin de faire la dissection.

Les souris ont été fixées sur le dos à l'aide d'épingles enfoncées obliquement dans les pattes. On fait une boutonnière dans la peau de l'abdomen en avant de l'orifice urinaire et on découpe la peau puis on la rabattre vers l'extérieur. On fait par la suite une boutonnière dans la paroi musculaire de l'abdomen et on découpe le plastron thoracique. Enfin, on prélève soigneusement le foie.

Le foie est rincé avec de l'eau physiologique (0.9% de NaCl) puis pesé. Cet organe est conservé dans le formol 10 % afin de figer le tissu dans l'état le plus proche de son état initial et de garder sa structure morphologique et son intégration chimique.

## **2.7. Réalisation des coupes histologiques :**

Afin de réaliser l'étude histopathologique sur le foie nous avons utilisé les étapes décrites par **Martoja et Martoja (1967)**.

Les fragments du foie de chaque souris sont retirés du formol 10 % pendant deux semaines et sont mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

### **✓ Déshydratation et éclaircissement :**

Le but de cette étape est d'éliminer l'eau à partir des tissus pour permettre ensuite l'imprégnation à la paraffine. La déshydratation est réalisée dans trois bains d'alcool éthylique à concentration croissante.

- Un bain d'alcool 70° (une heure).
- Un bain d'alcool 95° (une heure).
- Un bain d'alcool 100° (une heure).

L'éclaircissement permet d'éliminer l'alcool à partir des tissus. Il est effectué dans deux bains de xylène pendant 30 minutes chacun.

✓ **Inclusion :**

L'inclusion a pour but de permettre la réalisation des coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine.

La paraffine fondue est écoulé dans des moules métalliques puis les prélèvements sont orientés dans la paraffine, les cassettes sont placés au-dessus des moules, portent le numéro du lot après on rajoute la paraffine à travers les grilles des cassettes jusqu'au remplissage.

Les blocs sont mis sur une plaque métallique réfrigérée pour obtenir une solidification rapide.

✓ **Confection des blocs :**

Chaque bloc histologique, inclus en paraffine, est découpé manuellement au microtome de type « leica ». On obtient un ruban de coupes tissulaires de 2  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, qui est déposé dans un bain-marie, afin d'étaler les coupes à la surface de l'eau, puis ils sont récupérés et collés à la surface des lames.

Les lames recouvertes de la coupe tissulaire sont ensuite séchées dans l'étuve pendant 24 heures.

✓ **Coloration :**

Le but de la coloration est de visualiser les différents composants tissulaires et cellulaires. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation .Celle-ci est effectué après déparaffinage des coupes (bain de xylène 30min) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (100°, 90°,70°) puis dans l'eau distillée 1min.

Dans notre étude, nous avons appliqués deux types de coloration :

- **Coloration d'Hématoxyline-Eosine :**

C'est une coloration bichromatique qui se compose d'un colorant nucléaire, l'hématoxyline (colore les noyaux en bleu/viole), et d'un colorant cytoplasmique, l'éosine (colore le cytoplasme en rose). La coloration HE est la coloration la plus couramment utilisée en histologie. C'est une coloration dite topographique qui permet une vue d'ensemble de la morphologie et de la structure cellulaire d'un tissu.

- **Coloration de Perls « Ferrocyanide ferrique » :**

Elle étudie le métabolisme de fer et met en évidence les complexes insolubles contenant du fer (hémossidérine, mitochondries surchargées en fer). Elle est utile dans certaines hémopathologies ou les pathologies hépatiques. La coloration d'hémossidérine est bleu, le noyau et cytoplasme est rosé.

Les étapes des deux colorations sont présentées dans l'**annexe 2**.

✓ **Déshydratation et montage des coupes :**

Le montage des coupes entre lame et lamelle est effectué avec l'Eukit, il est nécessaire d'effectuer une déshydratation des coupes avant le montage dans des bains d'alcool de degré croissants (70°, 90°, 100°) et un éclaircissement au xylène.

✓ **Observation microscopique :**

Les coupes histologiques ont été observées à l'aide d'un microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

## **2.8. Analyse statistique :**

Les données obtenues, à savoir l'évolution corporelle et les valeurs des paramètres hématologiques et biochimiques dosés, ont été analysées statistiquement par le test de Student via le logiciel Excel 2010 en comparant le lot témoin à chacun des lots traités, avec une limite de significativité fixée à 5% (**Annexe 3**). Les résultats obtenus ont été représentés graphiquement.

La différence est jugée statistiquement comme :

- Non significative lorsque  $p > 0,05$ .
- Significative (\*) lorsque  $0,05 > p > 0,02$ .
- Très significative (\*\*) lorsque  $0,02 > p > 0,01$ .
- Hautement significative (\*\*\*) lorsque  $p < 0,01$ .

## 1. Résultats :

La recherche de l'effet de SF à raison de 70 et 140 mg/kg pendant 31 jours chez les souris mâles a été basée sur l'étude :

- De l'évolution pondérale.
- Des variations de quelques paramètres hématologiques et biochimiques.
- De l'histopathologie du parenchyme hépatique.

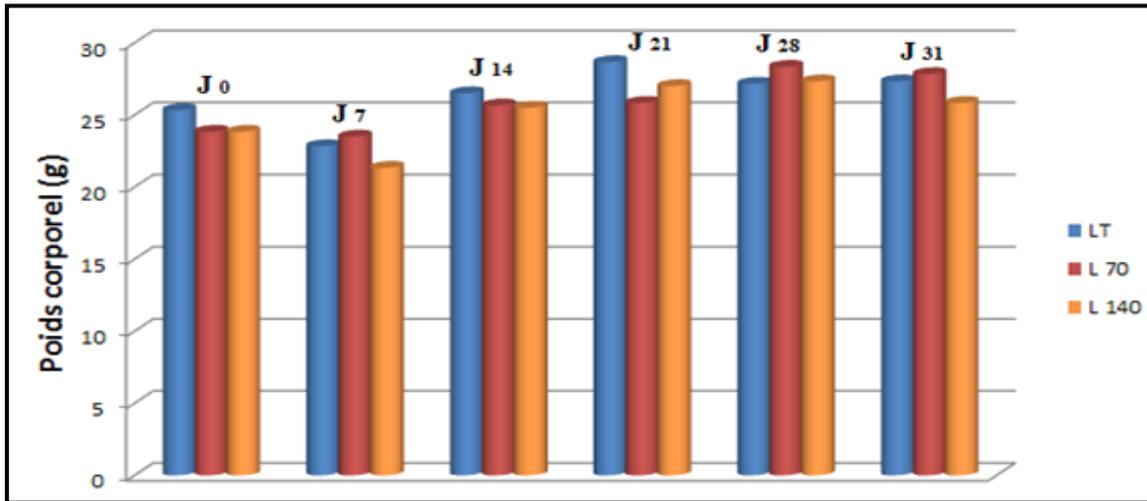
### 1.1. Effet de sulfate ferreux sur le poids :

#### ○ Le poids corporel :

Les résultats de la variation du poids corporel des souris mâles témoins et traités et leurs significations statistiques sont illustrés dans les tableaux III.1, III.2 et III.3 de l'annexe 04, le tableau 04 et la figure 07.

**Tableau 04 :** Valeurs pondérales moyennes des souris des groupes témoin et traités par 70 mg/kg et 140 mg/kg de sulfate ferreux le long de l'expérience.

| Souris                            | Poids moyen (g) |                 |                 |                 |                 |                 |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                   | J <sub>0</sub>  | J <sub>7</sub>  | J <sub>14</sub> | J <sub>21</sub> | J <sub>28</sub> | J <sub>31</sub> |
| <b>Témoins</b>                    | 25.33 ±<br>2.58 | 22.83 ±<br>2.04 | 26.50 ±<br>2.88 | 28.66 ±<br>3.07 | 27.16 ±<br>1.72 | 27.33 ±<br>2.25 |
| <b>Traitées par 70<br/>mg/kg</b>  | 23.83 ±<br>1.94 | 23.50 ±<br>1.87 | 25.66 ±<br>2.80 | 25.80 ±<br>1.83 | 28.33 ±<br>2.06 | 27.83 ±<br>2.31 |
| <b>Traitées par 140<br/>mg/kg</b> | 23.83 ±<br>1.47 | 21.33 ±<br>2.66 | 25.50 ±<br>1.87 | 27.00 ±<br>2.96 | 27.33 ±<br>2.50 | 25.80 ±<br>1.72 |



**Figure 07 :** Evolution du poids corporel moyen (g) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

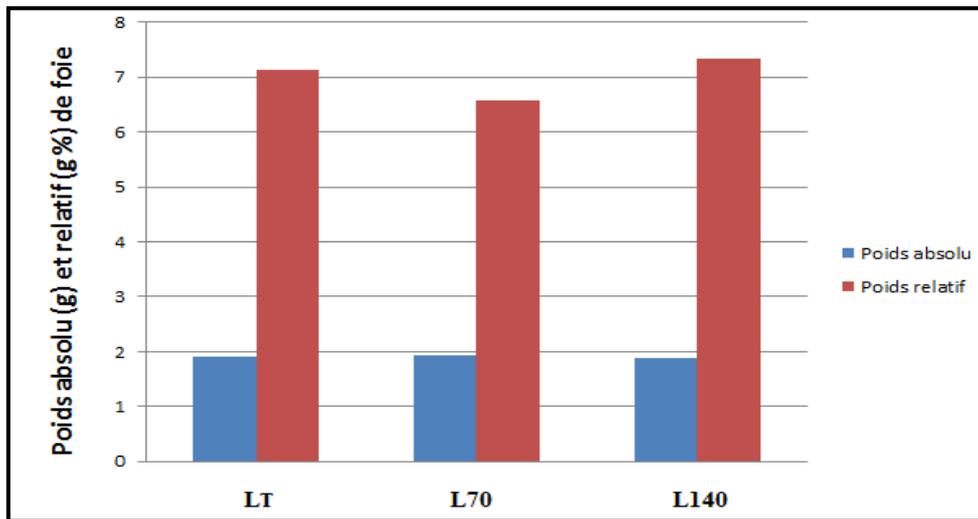
Selon les résultats obtenus, nous constatons une régression pondérale entre le début d'expérimentation et le septième jours chez la majorité des souris témoins ( $22.83 \text{ g} \pm 2.04$  vs  $25.33 \text{ g} \pm 2.58$ ) et traitées par 70 mg/kg de sulfate de fer ( $23.50 \text{ g} \pm 1.87$  vs  $23.83 \text{ g} \pm 1.94$ ) ainsi que les souris traitées par 140 mg/kg de SF ( $21.33 \text{ g} \pm 2.66$  vs  $23.83 \text{ g} \pm 1.47$ ). Après sept jours de traitement, nous remarquons une prise de poids chez les souris témoins, traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux dont le poids moyen de chaque lot était  $27.33 \text{ g} \pm 2.25$  /  $27.83 \text{ g} \pm 2.31$  /  $25.80 \text{ g} \pm 1.72$  respectivement ; Mais ces variations du poids corporel reste toujours non significative ( $P= 0,63798$  et  $P= 0,2848$  chez souris traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg du sulfate ferreux respectivement).

#### ○ Le poids de foie :

Les résultats rassemblés dans les tableaux IV.1, IV.2 et IV.3 de l'annexe 04, le tableau 05 et la figure 08 présentent les poids absolus et relatifs de foie et leurs significations statistiques chez les souris témoins et traités par le SF.

**Tableau 05 :** Valeurs moyennes de poids absolu et relatif de foie des souris des groupes témoin et traité par 70 mg/kg et 140 mg/kg de sulfate ferreux le long de l'expérience.

| Souris                 | Poids absolu (g) | Poids relatif (g) |
|------------------------|------------------|-------------------|
| Témoins                | 1.90 ± 0.17      | 7.13 ± 0.47       |
| Traitées par 70 mg/kg  | 1.93 ± 0.11      | 6.58 ± 0.37       |
| Traitées par 140 mg/kg | 1.87 ± 0.06      | 7.33 ± 0.35       |



**Figure 08 :** Variations de poids absolu (g) et relatif (g%) de foie des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

Après 31 jours de traitement et en comparaison à celui de lot témoins (1.90g ± 0.17), le poids absolu moyen semble augmenté d'une façon non significative chez les souris traités par 70 mg/kg de sulfate ferreux (1.93 g ± 0.11) avec P= 0,730 et diminué d'une façon non significative chez les souris traités par 140 mg/kg (1.87 g ± 0.06) avec P = 0,762.

A l'inverse, le poids relatif moyen semble diminué chez les souris traités par 70 mg/kg de sulfate ferreux (6.58 g ± 0.37) par rapport au témoins (7.13 g ± 0.47) et augmenté chez les souris traités par 140 mg/kg de SF (7.33 g ± 0.35).

## **1.2. Observation du comportement générale des souris :**

Dans nos conditions expérimentales, aucun taux de morbidité et de mortalité n'a été observé et nous avons constaté un changement de comportement chez quelques souris traitées par les deux doses de SF à savoir :

- Poils hérissés.
- Selles noires.
- Tendance de rester dans les coins des cages.

## **1.3. Effet de sulfate ferreux sur les paramètres hématologiques :**

Le dosage des paramètres hématologiques est réalisé chez cinq souris témoins et six traitées par le SF pour chaque lot.

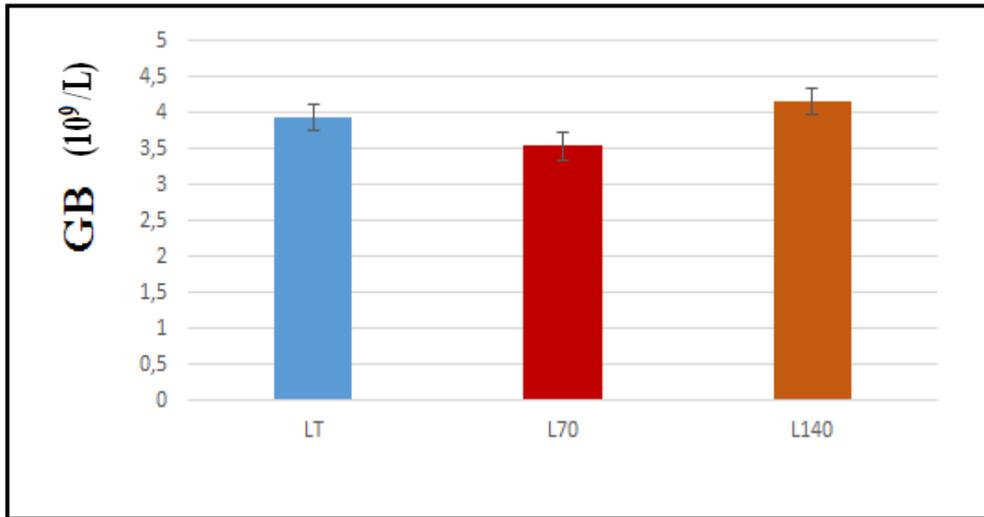
Les normes des paramètres hématologiques chez les souris mâles de la souche SWISS selon « JANVIER LABS » sont citées dans le tableau V de l'annexe 04.

### **❖ Nombre des globules blancs (GB) :**

Les résultats des variations de nombre des GB chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VI.1 de l'annexe 04, le tableau 06 et la figure 09.

**Tableau 06 :** Valeurs moyennes des GB chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>                 | <b>GB (<math>10^9</math> / L)</b> |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Témoins</b>                | 3.94 ± 1.70                       |
| <b>Traitées par 70 mg/kg</b>  | 3.53 ± 1.29                       |
| <b>Traitées par 140 mg/kg</b> | 4.16 ± 1.01                       |



**Figure 09 :** Variations de nombre des globules blancs ( $10^9$  /L) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

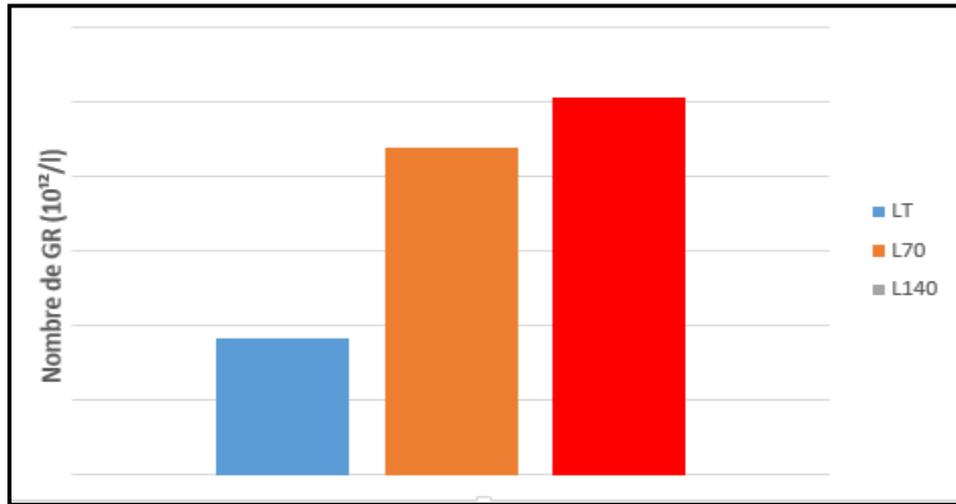
Le nombre des globules blancs chez les souris témoins est de ( $3.94 \pm 1.70$ ), et il est de ( $3.53 \pm 1.29$  et  $4.16 \pm 1.01$ ) avec un  $P= 0,598$  et  $P=0,747$  chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement. Les résultats obtenus montrent une diminution non significative du nombre des GB chez le souris traitées par 70 mg/kg par rapport au témoins et et une augmentation non significativative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF.

❖ **Nombre des globules rouges (GR) :**

Les résultats des variations de nombre de GR chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans les tableaux VI.2 de l'annexe 04, le tableau 07 et la figure 10.

**Tableau 07:** Valeurs moyennes des GR chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | GR ( $10^{12}$ / L) |
|------------------------|---------------------|
| Témoins                | $5.56 \pm 0.36$     |
| Traitées par 70 mg/kg  | $6.12 \pm 0.82$     |
| Traitées par 140 mg/kg | $6.21 \pm 0.41$     |



**Figure 10 :** Variations de nombre des globules rouges ( $10^{12}$  /L) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

Le nombre des globules rouges chez les souris témoins est de ( $5.56 \pm 0.36$ ), et il est de ( $6.12 \pm 0.82$  et  $6.21 \pm 0.41$ ) avec un  $P= 0,1473$  et  $P=0,0072$  chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

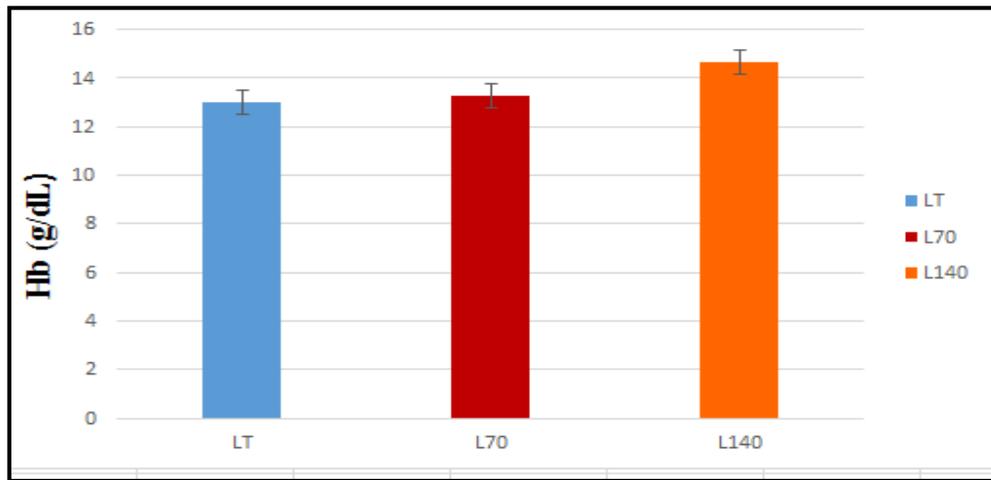
Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de nombre des GR chez les souris traitées par 70 mg/kg et une augmentation hautement significative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF comparé aux témoins.

#### ❖ Teneurs en hémoglobine (Hb) :

Les résultats des variations de la teneur en hémoglobine chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VI.3 de l'annexe 04, le tableau 08 et la figure 11.

**Tableau 08:** Valeurs moyennes d'Hb chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | Hb (g/dL)        |
|------------------------|------------------|
| Témoins                | $13.02 \pm 0.35$ |
| Traitées par 70 mg/kg  | $13.25 \pm 0.29$ |
| Traitées par 140 mg/kg | $14.64 \pm 0.42$ |



**Figure 11 :** Variations de la teneur en hémoglobine (g/dL) des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

La teneur en hémoglobine chez les souris témoins est de  $(13.02 \pm 0.35)$ , et il est de  $(13.25 \pm 0.29)$  et  $(14.64 \pm 0.42)$  avec un  $P=0,182$  et  $P=4,980.10^{-06}$  chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

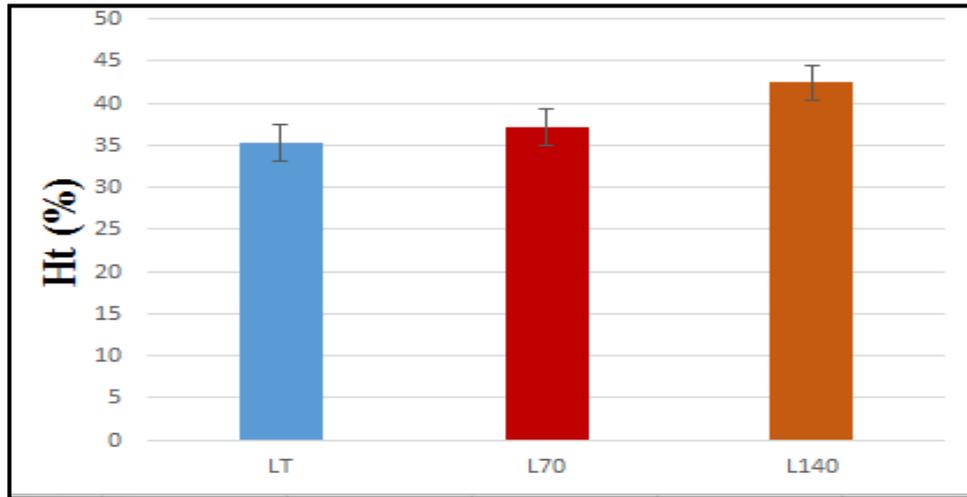
Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de la teneur en hémoglobine chez les souris traités par 70 mg/kg et une augmentation hautement significative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF comparé aux témoins.

❖ **Le pourcentage d'hématocrite (Ht) :**

Les résultats des variations de pourcentage d'hématocrite chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VI.4 de l'annexe 04, le tableau 09 et la figure 12.

**Tableau 09 :** Valeurs moyennes d'Ht chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | Ht (%)           |
|------------------------|------------------|
| Témoins                | $35.30 \pm 3.52$ |
| Traitées par 70 mg/kg  | $37.18 \pm 1.69$ |
| Traitées par 140 mg/kg | $42.43 \pm 1.13$ |



**Figure 12 :** Variations de pourcentage d’hématocrite des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

Le pourcentage d’hématocrite mesuré chez les souris témoins est de  $(35.30 \pm 3.52)$ , et il est de  $(37.18 \pm 1.69$  et  $42.43 \pm 1.13)$  avec  $P=0,1883$  et  $P=0,0001$  chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

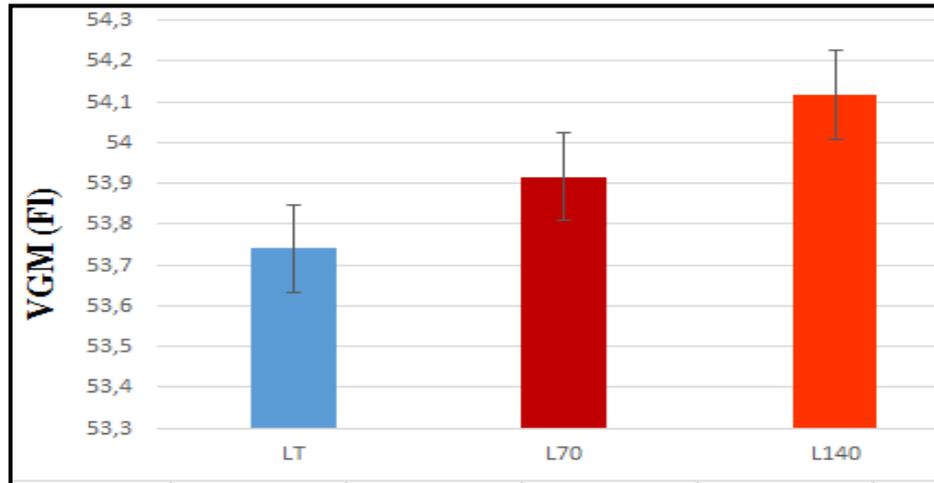
Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de pourcentage d’hématocrite chez les souris traités par 70 mg/kg et une augmentation hautement significative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF comparé aux témoins.

❖ **Volume globulaire moyen (VGM) :**

Les résultats des variations de volume globulaire moyen chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VI.5 de l’annexe 04, le tableau 10 et la figure 13.

**Tableau 10 :** Valeurs moyennes de VGM chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | VGM (fL)         |
|------------------------|------------------|
| Témoins                | $53.74 \pm 1.99$ |
| Traitées par 70 mg/kg  | $53.91 \pm 2.65$ |
| Traitées par 140 mg/kg | $54.11 \pm 2.01$ |



**Figure 13 :** Variations de volume globulaire moyenne des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

Le volume globulaire moyen chez les souris témoins est de  $(53.74 \pm 1.99)$ , et il est de  $(53.91 \pm 2.65$  et  $54.11 \pm 2.01)$  avec  $P=0,885$  et  $P=0,715$  chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

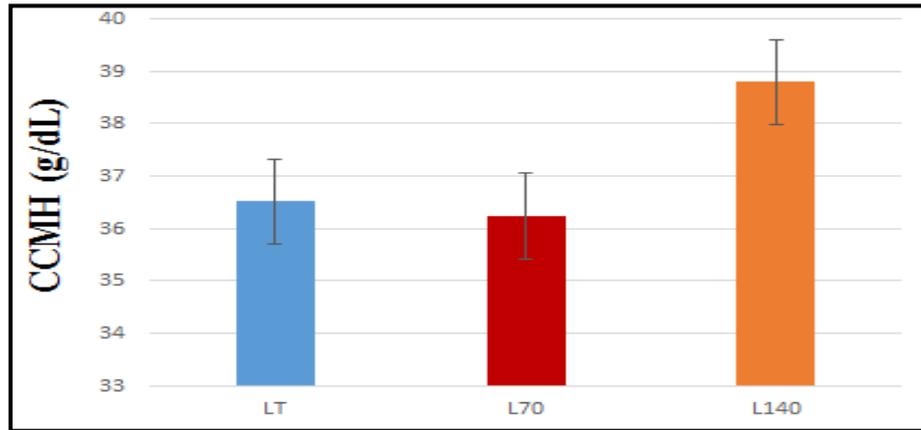
Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de volume globulaire moyen chez les souris traités par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF respectivement comparée aux témoins.

#### ❖ Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) :

Les résultats des variations de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VI.6 de l'annexe 04, le tableau 11 et la figure 14.

**Tableau 11 :** Valeurs moyennes de CCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | CCMH (g/dL)      |
|------------------------|------------------|
| Témoins                | $36.52 \pm 2.50$ |
| Traitées par 70 mg/kg  | $36.23 \pm 2.05$ |
| Traitées par 140 mg/kg | $38.80 \pm 3.89$ |



**Figure 14 :** Variations de CCMH des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine chez les souris témoins est de (36.52 ± 2.50), et elle est de (36.23 ± 2.05 et 38.80 ± 3.89) avec un P=0,806 et P=0,203 chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

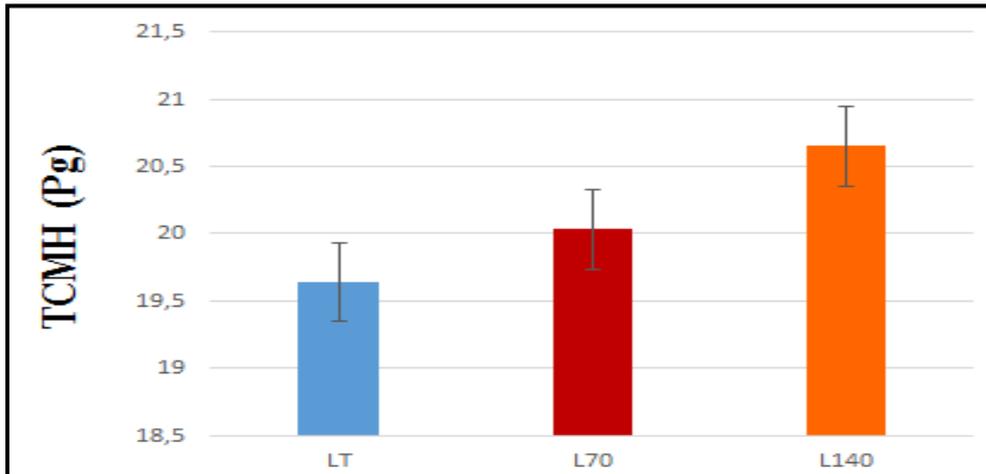
Les résultats obtenus montrent une diminution non significative du CCMH chez le souris traitées par 70 mg/kg et une augmentation non significative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF comparée aux témoins.

❖ **Taux corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH) :**

Les résultats des variations de taux corpusculaire moyen en hémoglobine chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VI.7 de l'annexe 04, le tableau 12 et la figure 15.

**Tableau 12 :** Valeurs moyennes de TCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | TCMH (Pg)    |
|------------------------|--------------|
| Témoins                | 19.64 ± 1.03 |
| Traitées par 70 mg/kg  | 20.03 ± 0.86 |
| Traitées par 140 mg/kg | 20.65 ± 1.60 |



**Figure 15 :** Variations de TCMH des souris mâles témoins et traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF.

Le taux corpusculaire moyen en hémoglobine chez les souris témoins est de  $(19.64 \pm 1.03)$ , et il est de  $(20.03 \pm 0.86$  et  $20.65 \pm 1.60)$  avec  $P=0,4297$  et  $P=0,1750$  chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de TCMH chez les souris traitées par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF respectivement comparée aux témoins.

#### **1.4. Effet de sulfate ferreux sur les paramètres biochimiques :**

Le dosage des paramètres biochimiques est réalisé chez cinq souris témoins et six traitées par le SF pour chaque lot.

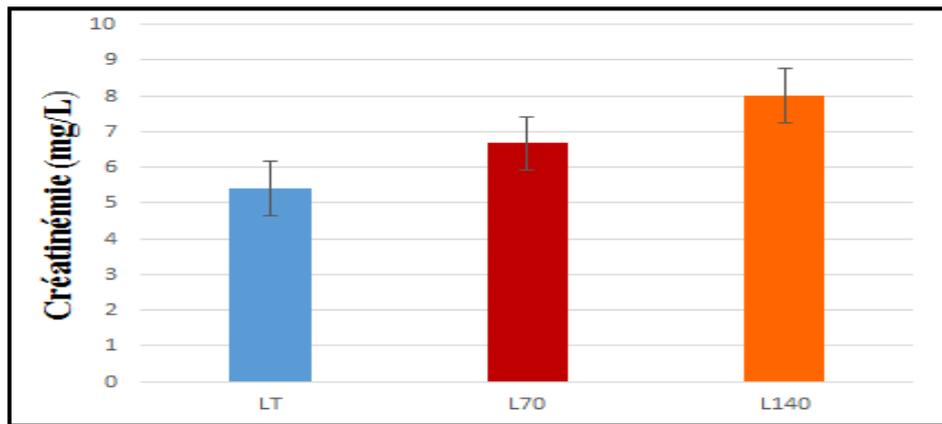
Les normes des paramètres biochimiques chez les souris mâles de la souche SWISS selon « JANVIER LABS » sont citées dans le tableau V de l'annexe 04.

##### **❖ Teneurs en créatinine :**

Les résultats des variations de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VII.1 de l'annexe 04, le tableau 13 et la figure 16.

**Tableau 13 :** Valeurs moyennes de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | Créatinine (mg/l) |
|------------------------|-------------------|
| Témoins                | 5.40 ± 0.55       |
| Traitées par 70 mg/kg  | 6.66 ± 1.03       |
| Traitées par 140 mg/kg | 8 ± 1.41          |



**Figure 16 :** Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur la créatinémie des souris pendant 31 jours.

La créatinémie chez les souris témoins est de (5.40 ± 0.55), et elle est de (6.66 ± 1.03 et 8 ± 1.41) avec P= 0,013 et P=0,0007 chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

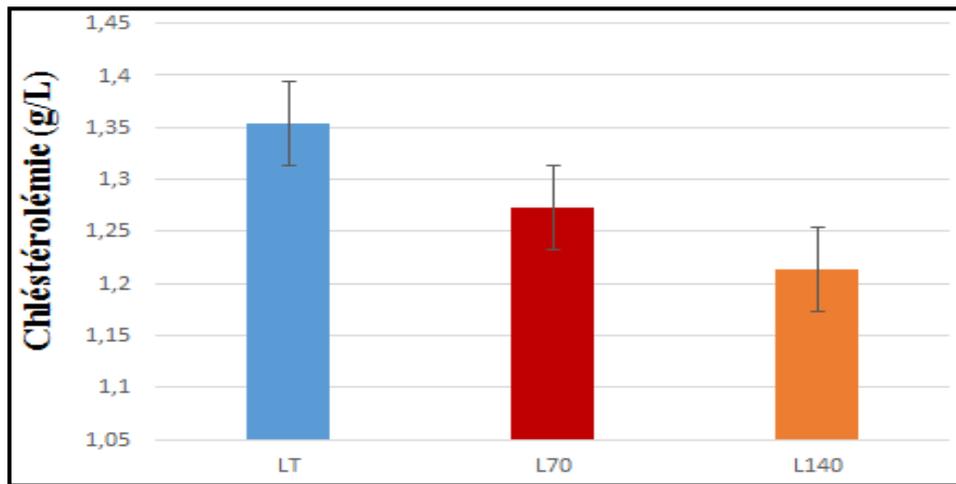
Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de créatinémie chez les souris traités par 70 mg/kg par rapport aux témoins et une augmentation hautement significative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF comparée aux témoins.

❖ **Cholestérolémie :**

Les résultats des variations de la cholestérolémie chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VII.2 de l'annexe 04, le tableau14 et la figure 17.

**Tableau 14 :** Valeurs moyennes de cholestérolémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | Cholestérol (g/l) |
|------------------------|-------------------|
| Témoins                | 1.35 ± 0.09       |
| Traitées par 70 mg/kg  | 1.26 ± 0.09       |
| Traitées par 140 mg/kg | 1.21 ± 0.15       |



**Figure 17 :** Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur la cholestérolémie des souris pendant 31 jours.

La cholestérolémie chez les souris témoins est de (1.35 ± 0.09), et elle est de (1.26 ± 0.09 et 1.21 ± 0.15) avec P=0,148 et P=0,0582 chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

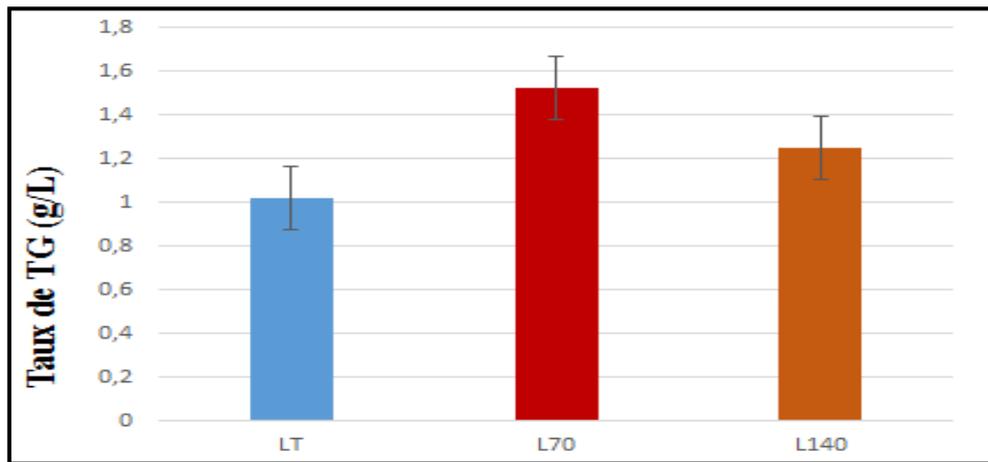
Les résultats obtenus montrent une diminution non significative de taux de cholestérol chez les souris traités par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF respectivement comparée aux témoins.

❖ **Taux de triglycéride :**

Les résultats des variations du taux de triglycéride chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VII.3 de l'annexe 04, le tableau 15 et la figure 18.

**Tableau 15 :** Valeurs moyennes de taux de TG chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | TG (g/l)    |
|------------------------|-------------|
| Témoins                | 1.02 ± 0.02 |
| Traitées par 70 mg/kg  | 1.52 ± 0.38 |
| Traitées par 140 mg/kg | 1.25 ± 0.17 |



**Figure 18 :** Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur le taux de triglycéride des souris pendant 31 jours.

Le taux de triglycéride chez les souris témoins est de (1.02 ± 0.02), et il est de (1.52 ± 0.38 et 1.25 ± 0.17) avec P=0,0047 et P=0,0039 chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

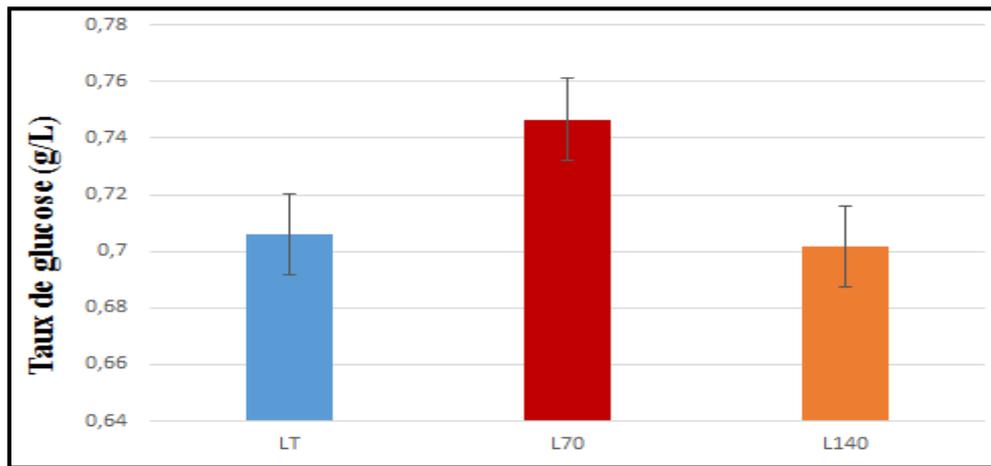
Les résultats obtenus montrent une augmentation hautement significative de taux de TG chez les souris traités par 70 mg/kg et 140 mg/kg de SF respectivement comparée aux témoins.

❖ **Taux de glucose :**

Les résultats des variations du taux de glucose chez les souris mâles témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans le tableau VII.4 de l'annexe 04, le tableau 16 et la figure 19.

**Tableau 16 :** Valeurs moyennes de taux de glucose chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| Souris                 | Glucose (g/l) |
|------------------------|---------------|
| Témoins                | 0.70 ± 0.17   |
| Traitées par 70 mg/kg  | 0.74 ± 0.11   |
| Traitées par 140 mg/kg | 0.70 ± 0.10   |



**Figure 19 :** Effet du traitement par le SF en comparaison avec le témoin sur le taux de glucose sanguin des souris pendant 31 jours.

Le taux de glucose chez les souris témoins est de (0.70 ± 0.17), et il est de (0.74 ± 0.11 et 0.70 ± 0.10) avec P=0,577 et P=0,94993 chez les souris traitées par 70 et 140 mg/kg de sulfate ferreux respectivement.

Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de taux de glucose chez les souris traités par 70 mg/kg par rapport aux témoins puis une diminution non significative chez les souris traitées par 140 mg/kg de SF.

## **1.5. Effet de sulfate ferreux sur la structure histologique du foie :**

Dans le but de vérifier l'action de sulfate ferreux sur l'architecture tissulaire de foie, nous avons réalisée des coupes histologiques chez les souris témoins et traitées au SF aux doses de 70 et 140 mg/kg. Les résultats sont représentés dans les figures 20, 21 et 22.

### **1.5.1. Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoins :**

La figure 27 présente le parenchyme hépatique d'aspect normal dont lequel on peut observer l'arrangement des hépatocytes. Ils forment des lames aplaties et entre lesquelles le sang circule lentement vers la veine centrolobulaire (VC). Les sinusoides sont bordés par une couche discontinue de cellules, qui ne reposent sur aucune membrane basale et qui sont séparées des hépatocytes par un petit espace (espace de Disse) ; celui-ci se draine dans les lymphatiques portaux. D'après la coloration de perls on note la présence de rares dépôts noirâtres ce qui explique la présence de traces de fer à l'état physiologique (**figure 20**).

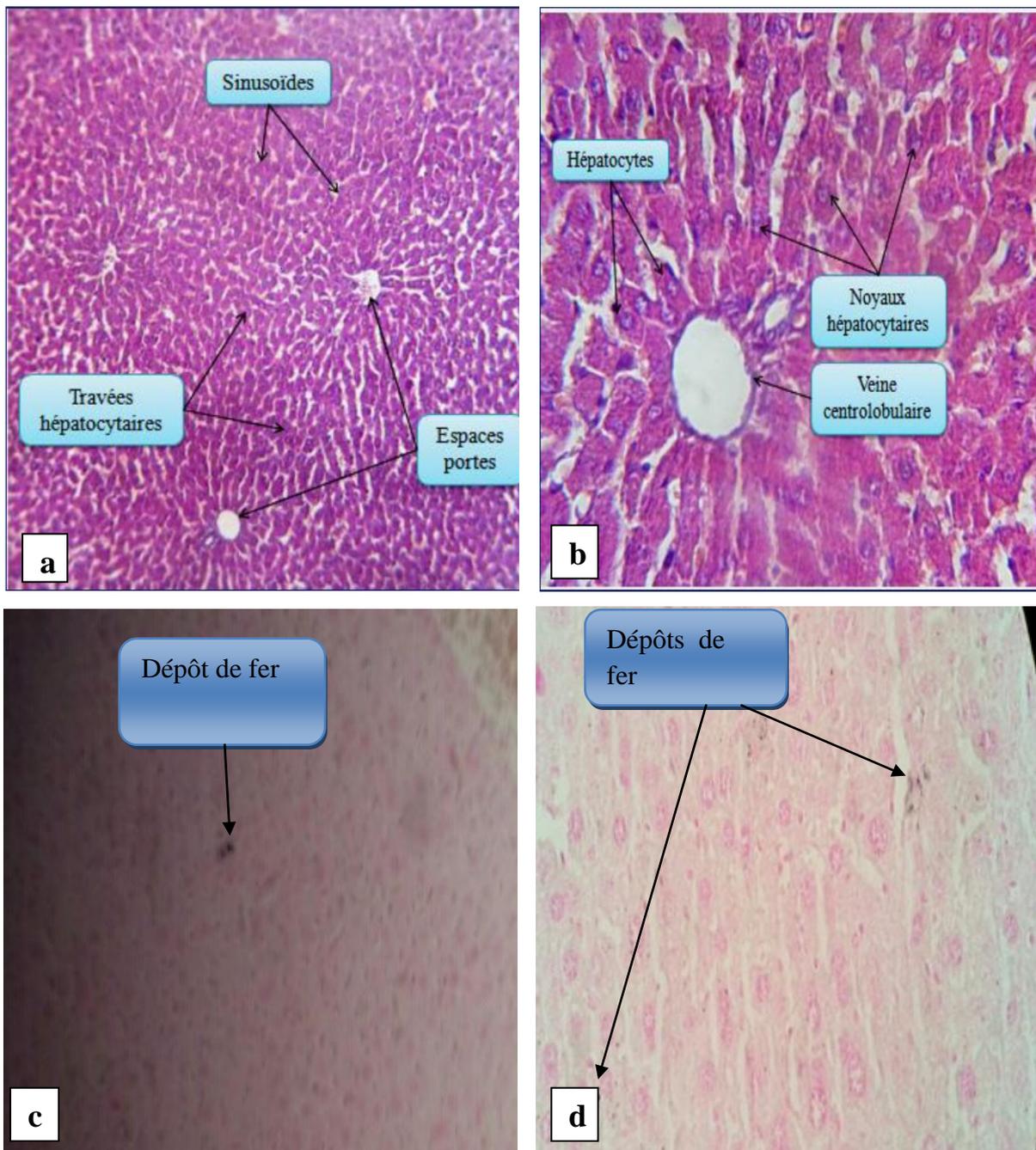
### **1.5.2. Structure du parenchyme hépatique chez les souris traitées par 70 mg/kg de sulfate ferreux :**

Les observations au microscope photonique ont révélées la présence d'une congestion sanguine et d'une dilatation sinusoidale mais l'absence de lésions hépatiques due au traitement.

D'après la coloration de Perls on observe la présence d'une surcharge (accumulation) légère des cellules hépatique en fer dans 50% des souris et la présence de rares dépôts de fer (état normale) dans le 50% des souris restant (**figure 21**).

### **1.5.3. Structure du parenchyme hépatique chez les souris traitées par 140 mg/kg de sulfate ferreux :**

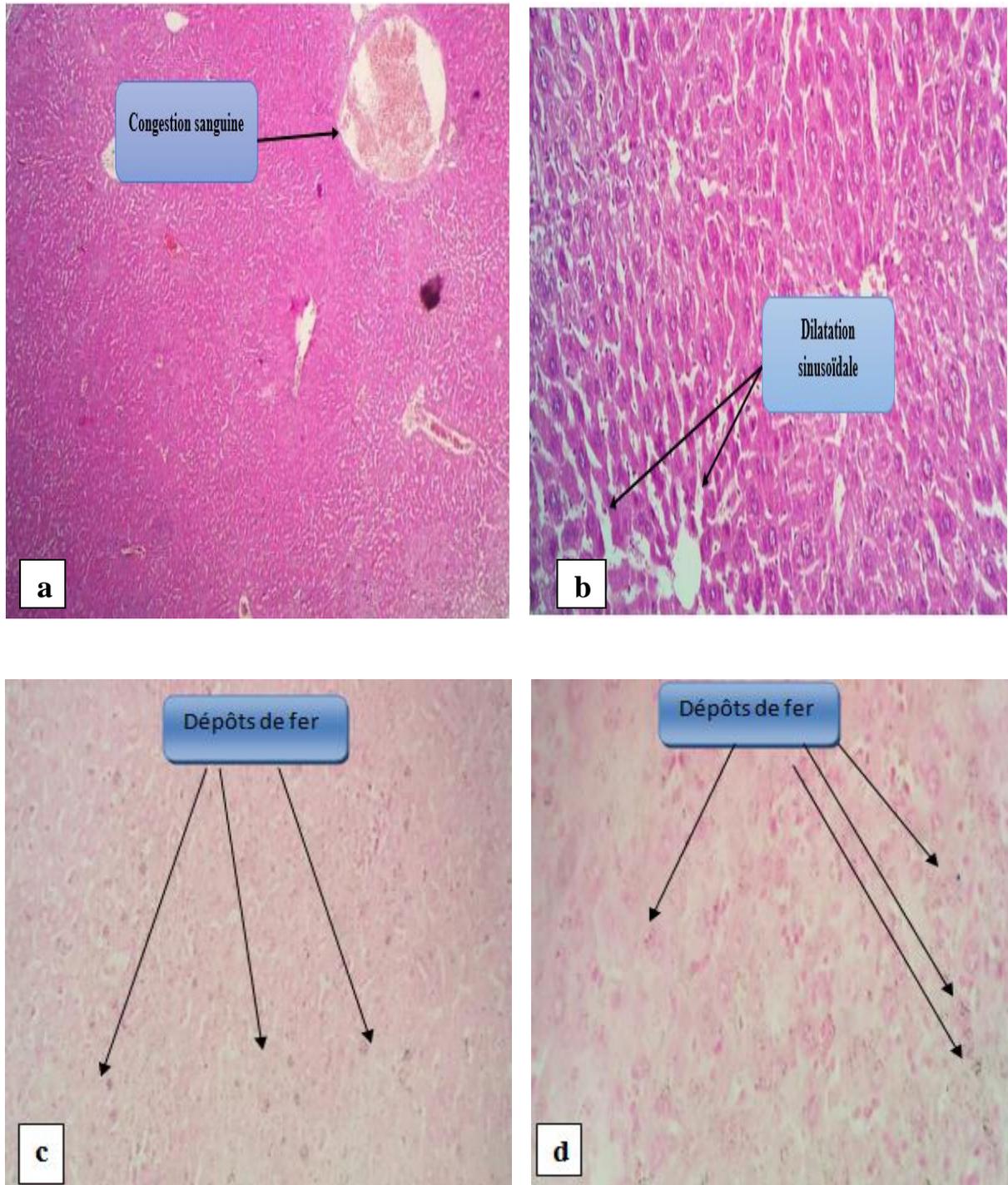
L'aspect du parenchyme montre que le cytoplasme des cellules est plus dense que celle des cellules à l'état normal et une architecture désorganisée des lobules hépatiques. Cette désorganisation est marquée par une importante dilatation des veines centrolobulaires et des espaces portes ainsi qu'une congestion des veines centrolobulaires avec la présence de signes d'hépatite: présence d'un infiltrat inflammatoire constitué de cellules lymphocytaire autours des espaces portes. Sur la coloration de Perls, les dépôts sont plus fréquentes et touchent des plages plus larges et plus étendues que les lots précédents (**figure 22**).



**Figure 20 :** Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles témoins.

(a et b) : Coloration HE; Grossissement: x10 (a), x50 (b)

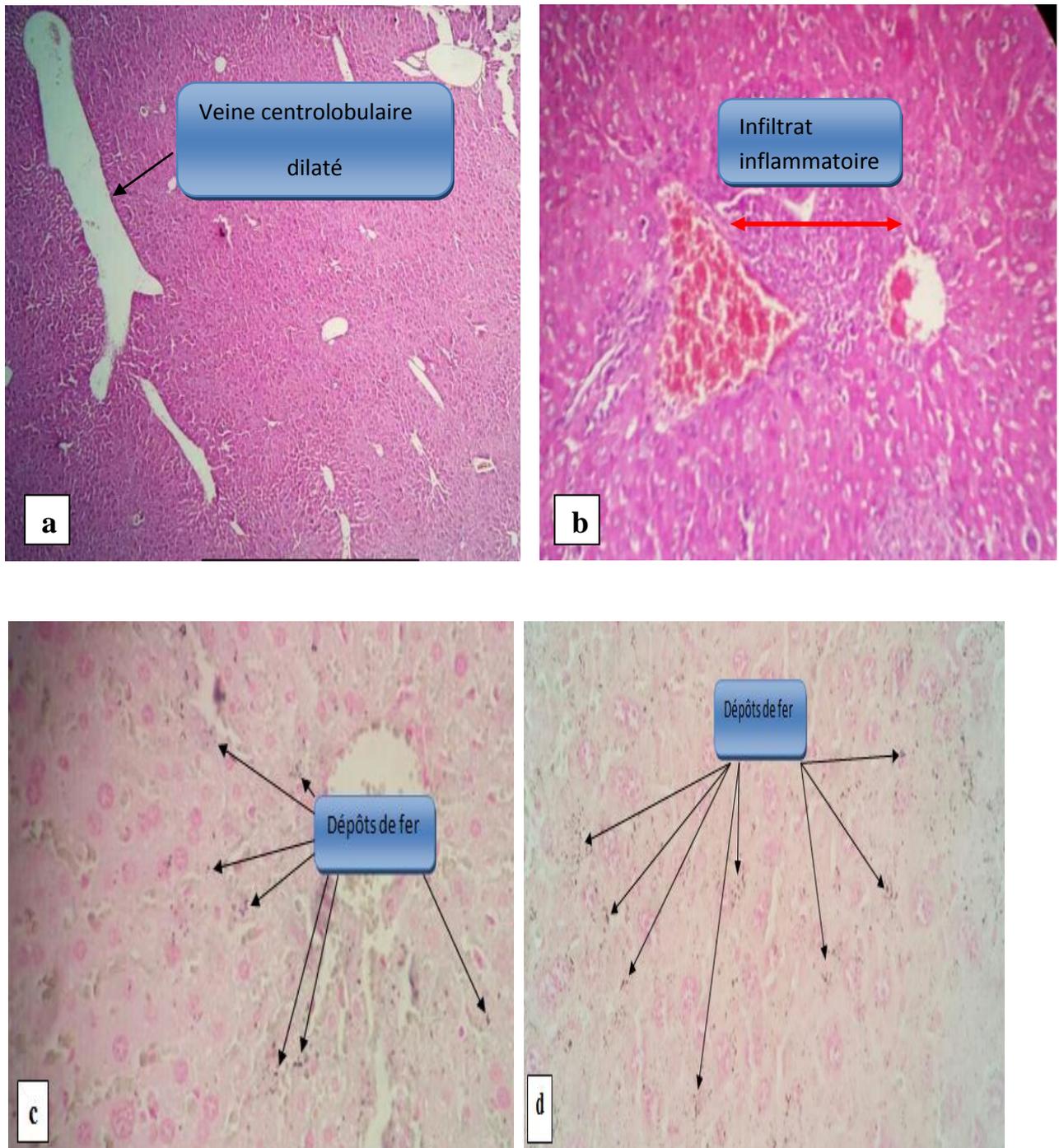
(c et d) : Coloration de Perls ; Grossissement: x10 (c), x50 (d)



**Figure 21** : Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 70 mg/kg de SF.

(a et b) : Coloration HE : Grossissements : x10 (a), x50 (b)

(c et d) : Coloration de Perls : Grossissements : x50 (c), x50 avec zoom (d)



**Figure 22 :** Structure du parenchyme hépatique chez les souris mâles traitées par 140 mg/kg de SF.

(a et b) : Coloration HE : Grossissements : x10 (a), x50 (b)

(c et d) : Coloration de Perls : Grossissements : x50

## **II.2. Discussion :**

L'augmentation du poids corporel ainsi que la variation de poids absolu et relatif de foie des souris témoins et traitées par le SF à différentes doses ne présente pas une différence statistiquement significative tout le long de l'expérience. Ces résultats sont en concordance avec ceux retrouvés par **Appel et al. (2000)** qui ont rapporté que la différence du poids corporel et de poids de foie des rats n'était pas significative après 31 jours de traitements par le SF à raison de 70 et 140 mg/kg.

Le même résultat a été observé par les travaux de **Whittaker et al. en 2002** où l'administration par gavage du SF à plusieurs doses (4.5, 5, 5.5 et 6 g/kg) à des rats Sprague-Dawley induit une augmentation (dose-dépendante) non significative du poids corporel et du poids de foie.

**Aslam et al (2014)** ont également montré qu'il n'y a pas une différence significative dans le poids corporel des souris traitées par 20mg/ kg d'aliment supplémenté avec du SF pendant une semaine. Ce qui suggère que l'administration de SF n'a pas d'effet sur le développement pondéral des souris.

Les deux groupes des souris traitées par le sulfate ferreux présentent des sels noirs et des poils hérissés avec tendance de rester dans les coins des cages. une observation en commune, qui est une peau à poils clairsemés, a été remarquée chez des rats mâles traités par 70 mg/kg et 140 mg/kg de sulfate de fer (**Appel et al., 2000**).

Parmi les autres préparations ferreuses, le carbonyl de fer (CIP) avait au moins la même biodisponibilité que le sulfate ferreux (**Whittaker et al., 2002**). Dans un travail qui porte sur l'étude des effets à long terme de l'administration orale par gavage de CIP à des doses de 100 mg / kg et 200 mg / kg, il n'y a pas eu de décès parmi les rats pendant la période d'observation de 90 jours, et les rats semblaient être en bonne santé et normaux (**Qiaosha et al., 2016**).

En revanche, **Whittaker et al. (2002)** ont trouvés des résultats différents où les rats traités par le sulfate de fer ont connus des décès de manière dose-dépendante allant jusqu'à 7 décès parmi les huit animaux exposés à la haute dose (6 g/kg SF).

Les analyses du sang de notre étude ne montre aucune modification statistiquement significative du nombre des GB, VGM, CCMH et TCMH chez les souris traitées par le SF. Ces résultats rassemblent à ceux édités par **Qiaosha et ses collaborateurs (2016)**, dont

aucune perturbation, des paramètres hématologiques cités précédemment, n'a été rapportée chez les rats traités pendant 90 jours par le carbonyle de fer.

En revanche, les résultats obtenus par **appel et al. (2000)**, après administration de sulfate de fer montrent une augmentation significative de la TCMH chez le groupe traité par 140 mg/kg d'aliment.

Une augmentation non significative de nombre de globules rouges et d'hémoglobine est constaté chez les souris du groupe à 70 mg/kg d'aliment. De meme, Une augmentation significative du nombre des GR et d'Hb a été enregistrée chez les souris traitées par la hausse dose (140 mg/kg). Cette élévation du nombre des globules rouges peut être un signe de polyglobulie qui a lieu lors d'une déshydratation extracellulaire (**Balcells, 1998**).

Un tel résultat a été signalé aussi par **Shafie et ses collaborateurs (2016)**, qu'ils ont étudiés les effets des nanoparticules contenant du sulfate ferreux sur le sang chez des rats anémiques pendant 10 jours, ils ont trouvés qu'une dose de 0.8 mg/kg a entraîné une augmentation significative de ces deux paramètres. Ces résultats reflètent bien la relation, assez bien synchronisées, entre les GR et l'Hb.

Nos résultats sont comparables à ceux de **Aslam et al.(2014)** qui observent une augmentation du taux d'hémoglobine chez les souris dont le régime est complétée par le SF. Au contraire, aucune différence significative du nombre des GR et d'Hb n'a été trouvée dans l'étude entreprise par **Qiaosha et al. (2016)**.

Selon nos résultats, l'hématocrite a connu une augmentation significative chez les souris traitées par la forte dose ; une hématocrite élevée est un signe d'hémoconcentration (**Balcells, 1998**). Ces données ne concordent pas avec ceux obtenus par **Qiaosha et al. (2016)** et par **Toblli et al. (2008)** qui n'ont pas trouvés une différence statistiquement significative dans le pourcentage d'Ht des rats traités.

Dans la présente étude, la créatinine augmente significativement chez les souris traitées par le SF. Ce changement mène à suggérer que le sulfate de fer a influencé directement la filtration glomérulaire. Contrairement, les résultats obtenus par **Qiaosha et al. (2016)**, par **Toblli et al. (2008)** et par **Appel et al.** ne montre aucune modification significative du taux de créatinine suite à l'administration du des sels du fer.

Le taux des TG augmente aussi significativement chez les souris traitées. Inversement, il n'y avait pas de différence statistiquement significative de taux des TG après 31 jours du traitement par le SF (**Appel et al., 2000**).

Les variations de la glycémie peuvent être induites par plusieurs composés étrangers et peuvent impliquer différents mécanismes. Certaines substances toxiques induisent en premier lieu une hyperglycémie due à la mobilisation du glycogène hépatique puis une hypoglycémie due à l'épuisement des réserves de glycogène et à l'inhibition de la néoglucogenèse (**Timbrell, 2009**).

Selon les résultats obtenus par **Qiaosha et al. (2016)** et **Appel et al. (2000)**, aucune modification significative dans la concentration du Glucose et du Cholestérol n'a été constatée. Ces deux paramètres donnent des informations sur l'état du métabolisme hépatique glucidique et lipidique (**Li et al., 2010**). Ces données corroborent nos résultats.

Nos résultats des atteintes hépatiques sont différents des résultats retrouvés par **Appel et al. (2000)** et **Aslam et al. (2014)**

En revanche, **Toblli et al., (2008)** ont rapportés que les animaux traités par le SF présentent une infiltration de cellules inflammatoires à la sous-muqueuse dans l'estomac.

## Conclusion

Dans le présent travail, nous avons évalué l'effet de sulfate ferreux sur certains paramètres biologiques et sur la structure histologique du foie chez la souris Swiss.

A la lumière de tous les résultats obtenus, il s'avère que le sulfate ferreux n'a pas influencé le poids corporel des animaux traités ainsi que le poids du foie de ces derniers ; mais il provoque un changement de comportement des souris (poils hérissés et selles noires).

L'étude hématologique montre que le sulfate de fer provoque une augmentation significative du taux des globules rouges, de l'hémoglobine et de l'hématocrite chez les souris traitées par 140 mg de sulfate ferreux, ce qui signifie que le SF joue un rôle dans la correction de la carence en fer.

Le dosage des paramètres biochimiques révèle une augmentation de taux des triglycérides et de créatinine. Ces résultats traduisent une perturbation de métabolisme lipidique et une altération de la fonction rénale.

Une altération de la fonction hépatique a été signalée aussi par la présence des signes d'hépatites chez les souris traitées par la dose élevée. Ces signes peuvent correspondre à une hépatotoxicité.

Dans le cadre des perspectives il serait souhaitable de :

- Choisir d'autres doses et augmenter la durée d'exposition à ce produit.
- Comparer les résultats sur différents organes et systèmes de l'organisme.
- Fabriquer des aliments enrichis destinés aux personnes atteintes d'une anémie ferriprive.
- Tester d'autres molécules impliquées dans le traitement de l'anémie tel que le fumarate ferreux,  $\text{Na}_2\text{FeEDTA}$  et le carbonyle de fer.
- Explorer le dosage d'autres paramètres biologiques.

1. **ANDERSON, G.J.; FRAZER, D.M. (2005).** Recent advances in intestinal iron transport. *Curr Gastroenterol Rep.* 7: 365-372.
2. **ANDRES, E. (2012).** Anémie ferriprive : Etiologie et prise en charge, quoi de neuf en 2012. *revue Hegel.* 2(4): 16-26.
3. **ANNAIX, V.; CORBEL, E.B. (2009).** Marqueurs actuelles et perspective In : *Biochimie métabolique.* Lenevière DURANT, Jeane Loius BEAUDEUX. Lavoisier. 1Ed. France. 227-240.
4. **APPEL, M.J. ; KUPER, C.F. ; WOUTERSEN, R.A. (2001).** Disposition, accumulation and toxicity of iron (II) sulfate or as sodium iron EDTA in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 39: 261-269.
5. **ASLAM, M.F.; FRAZER, D.M.; FARIA, N.; BRUGGRABER, S.F.; WILKINS, S.J.; MIRCIOV, C.; POWELL, J.J.; ANDERSON, G.J.; PEREIRA, D.I. (2014).** Ferroportin mediates the intestinal absorption of iron from a nanoparticulate ferritin core mimetic in mice. *The FASEB Journal.* 28 (8): 3671-8.
6. **ATAKOUMA, DY. (1986).** Etude des rétentions des carences martiales et foliques de la femme enceinte sur nouveau-né considération cliniques et biologiques. Thèse de doctorat en médecine. Université du Benin faculté des sciences médicales et biologiques. Benin. 176p.
7. **BALCELLS, A. (1998).** Examens de laboratoire pour le praticien. Edition Masson. Paris. 612p
8. **BEARD, J.L. (1994).** Iron Deficiency: Assessment during pregnancy and its importance in pregnant adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 502-510.
9. **BINET, C. (2009).** Métabolisme du Fer : apports, absorption, transport, réserves, méthodes d'exploration. *Hématologie.* Faculté de Médecine de Tours. France.
10. **BROGLIO, A. (2010).** Anémie ferriprive pendant la grossesse : Comment la diagnostiquer correctement et éviter une supplémentation inappropriée ? Université Henri Poincaré, Nancy I.
11. **CALIS, J.C.; PHIRI, K.S.; FARAGHER, E.B.; BRABIN, B.J.; BATES, L.; CUEVAS, L.E.; DE HAAN, R.J.; PHIRI, A.I.; MALANGE, P.; KHOKA, M.; HULSHOF, P.J.; VAN LIESHOUT, L.; BELD, M.G.; TEO, Y.Y.; ROCKETT, K.A.; RICHARDSON, A.; KWIATKOWSKI, D.P.; MOLYNEUX, M.E.; VAN HENS BROEK, M.B. (2008).** Severe anemia in Malawian children. *N Engl J Med.* 358: 888-899.
12. **CARLE, A. (1998).** Valorisation du sulfate ferreux dans la synthèse de ferrates (VI) alcalins et leurs applications dans le traitement des eaux, Thèse de Doctorat, Université de Nancy I. 208p.
13. **CIANGURA, C; DAVID, D.J; LE-ROBIN, S.H; BENE, M-C.; THORAVAL, F.R.; CECCHIN, M.; LASCOLOS, S.; DEVAUD, C.; PAGES, F.; MEBARKI, S.;**

- BANKOUSSOU, S. (2011).** Rapport d'évaluation : choix des examens du métabolisme du fer en cas de suspicion de carence en fer. HAS (Haute Autorité de Santé).france. 82p.
- 14. COOK, J.D. (2005).** Diagnosis and management of iron-deficiency anemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 18:319–32.
- 15. DADOUNE, J.P.; HADJUSKY, P.; SIFFROI, J.P.; VENDRELY, E. (2000).** Histologie, Flammarion médecine Science, 2<sup>ème</sup> Ed. Paris. pp.135-230.
- 16. DEMARMELS BIASIUTTI, F. (2009).** Régulation du métabolisme de fer. *Forum Med Suisse.* 9(36): 630-632.
- 17. DEMERS, H.; LAPIERRE, M. (2013).** L'anémie ferriprive comment « fer » pour bien la traiter ?. *Le Médecin du Québec.* 48(11): 79-82.
- 18. DONOVAN, A.; LIMA, C.A.; PINKUS, J.L.; PINKUS, G.S.; ZON, L.I.; ROBINE, S. et al. (2005).** The iron exporter ferroportin/slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab.* 1: 191–200.
- 19. DREYFUS, B. (1992).** Hématologie. Paris, Flammarion-Médecine Sciences.
- 20. DUPONT, P. (2004).** Utilisation pratique des compléments alimentaires: Vitamines et Oligoéléments. Le Tremblay, France : Diffusion rosicrucienne. 216p.
- 21. EDWARDS, C.Q.; GRIFFEN, L.M.; GOLDFAR, D.; DRUMMOND, C.; SKOLNICK, M.H. & KUSHNER, J.P. (1988).** Prevalence of hemochromatosis among presumably healthy blood donors. *New England Journal of Medicine.* 318: 1355-1362.
- 22. EL AZAMI K. (2013).** Le fer : Aspects métaboliques, problèmes de carence et situation actuelle au Maroc. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE MOHAMMED V SOUISSI, RABAT. 120p
- 23. ESPANEL, C.; KAFANDO, E.; HERAULT, B.; PETIT, A.; HERAULT, O.; BINET, C. (2007).** Anémies ferriprives : signes d'appel, diagnostic et prise en charge. *Transfusion Clinique et Biologique.* 14(1): 21-24.
- 24. FAURE, A.; GUERRIER, A.; BELLOQ, M.** La drépanocytose au phénotype moléculaire [Internet]. (2013). Available from: [http://tpe-adam-antoine-max.over-blog.com/pages/III La drepanocytose au phenotype moleculaire-6320567.html](http://tpe-adam-antoine-max.over-blog.com/pages/III_La_drepanocytose_au_phenotype_moleculaire-6320567.html)
- 25. FEDALA, N. (2010).** Contribution à l'étude de la fréquence de la malnutrition protéino-énergétique, l'anémie et l'anémie ferriprive chez de jeunes enfants âgés de moins de deux ans. Thèse de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger. 60p.
- 26. FERREIRA, A.; PETRETTI, C.; VANISA, B. (2015).** Biologie de l'Alimentation Humaine : Tome 2, Anatomie, physiologie, physiopathologie. France : Studyrama, 690 p.
- 27. FILLET, G. (2009).** Anémies ferriprives - Métabolisme du fer : Traitement martial. *Hématologie.* 7: 55-61.

28. GONCALVES, A.; BEAUMONT, C. (2005) - La ferroportine, une nouvelle molécule pour la régulation du métabolisme du fer. *Hématologie*. 10(6): 453-63.
29. GUYATT, G.H.; PATTERSON, C.; ALI, M.; SINGER, J.; LEVINE, M.; TURPIE, I. et al. (1990). Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia in the elderly. *Am J Med*. 88:205-9.
30. HALLIDAY, J.W. (1998). Hemochromatosis and iron needs. *Nutrition Reviews*. 56: 30-37.
31. HARBEN, P. (1995). The industrial minerals handy book: a guide to markets, specifications, & prices, 2nd edition, Published by Industrial Minerals Division, Metal Bulletin PLC, London. pp. 187-189.
32. HENNEN, G. (1996). BIOCHIMIE HUMAINE. Introduction biochimique à la médecine interne. Belgique: DE BOECK. 784p.
33. HERCBERG, S.; GALAN, P. (1989). Biochemical effects of iron deprivation. *Acta Paediatrica Scandinavica Supplement*. 361: 63-70.
34. HODGSON, E.; CUNNY, H. (2010) Toxicity Testing. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. *John Wiley & Sons. Inc* (Hoboken, New Jersey). pp. 409-456.
35. HUNT, S. M.; GROFF, J. L. (1990). Advanced Nutrition and Human Nutrition. St. Paul: West Pub. Co. 517p.
36. HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1997; 51: 4-8.
37. LACARELLE, B.; VIALA, A. (2005). Mécanismes et manifestations de l'action des toxiques au niveau rénal. In: Toxicologie. Edited by Viala A et Botta A, 2ème édition, Lavoisier, Paris. pp. 173-177.
38. LACOMBE, M. (2006). Abrégé d'anatomie et de physiologie humaine. 6<sup>ème</sup> Éd. Rueil-Malmaison : Lamarre. 221 p.
39. LACOUR, B.; BELON, J-P. Physiologie humaine. Paris : Elsevier-Masson. (2016) ; 497p.
40. LAMY, P.J.; DURIGOVA, A.; JACOT, W.; POUDEROUX, S.; ROQUES, S.; MONTELS, F. (2012). Métabolisme du fer et cancer du sein : connaissances et perspectives. *Anale de Biologie Clinique*. 70(4): 387-396.
41. LEBLANC, G.A. (2010). Acute toxicity. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey). 125-236.
42. LEDERER, J. (1988). Le fer aux confins de la vie, Maloine.
43. LEFRERE, J-JC. (2009). Anémie ferriprive. Université de Picardie .Faculté de médecine d'Amiens. Pôle s@nté.
44. LEPPORRIER, M. (1999). Hématologie, Paris Doin.

- 45. LI, X.; LUO, Y.; WANG, L.; LI, Y.; SHI, Y.; CUI, Y. ; XUE, M. (2010).** Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 131(1): 110-115.
- 46. LINDER, M.C. (1985).** *Nutritional Biochemistry and Metabolism: With Clinical Applications*. New York: Elsevier. 436p.
- 47. LONGPRE, B. (1983).** *Anémies, notions fondamentales*. Paris: Elsevier- Masson. 214p
- 48. LOREAL, O.; BARDOU-JACQUET, É.; ISLAND, M.L.; FATIH, N.; DOYARDA, M.; DETIVAUDA, L.; BRISSOT, P. (2012).** Métabolisme du fer. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 47(3): 117-124
- 49. LOREAL, O.; ROPERT, M.; DOYARDA, M.; ISLAND, M.L.; FATIH, N.; DETIVAUDA, L.; BARDOU-JACQUET, É.; BRISSOT, P. (2012).** Métabolisme du fer en 2012. *Francophone des Laboratoires*. (442): 31-37.
- 50. LYNCH, S.R. (2002).** Food iron absorption and its importance for the design of food fortification strategies. *Nutrition Reviews*. 60: 3-15.
- 51. LYNCH, S. (2007).** Influence of infection/inflammation, thalassemia and nutritional status on iron absorption. *Int J Vitam Nutr Res*. 77:217-23.
- 52. MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. (1996).** *Krause's Food. Nutrition. & Diet Therapy*, 9th Edition. W .B. Saunders Company.
- 53. MARTOJA, R. et MARTOJA- PIERSON, M. (1967).** *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. Edition Masson et CIE, Paris.
- 54. MAUVIEUX, L. (2006).** Anémie par carence martiale. Université Louis Pasteur – Faculté de Médecine .DCEM3 - Module 17. Maladies du Sang et Transfusion. 18-22.
- 55. MEHTA, A.B.; HOFFBRAND, A.V. (2003).** *Hématologie*. 1<sup>ère</sup> éd. Bruxelles : De Boeck Supérieur. 208p.
- 56. MOULINE, P. (2007).** Anémie par carence martiale et autres anémies nutritionnelles. Université Lyon1. France.
- 57. NAGPAL, J. et CHOUDHURY, P. (2004).** “Iron formulations in pediatric practice”. *Indian Pediatrics*. 41(8): 807–815.
- 58. NAUDOT, M. (2013).** Caractérisation par imagerie en temps réel de cultures cellulaires hépatiques en biopuces microfluidiques. Thèse de Doctorat, Université de Technologie de COMPIÈGNE, France. 175p
- 59. NEVEUX, N. (1993).** Voie de synthèse originale de ferrates (VI) alcalins stabilisés et leurs applications potentielles dans le traitement des eaux. Thèse de Doctorat, Université de Nancy I, Nancy.

- 60. Organisation Mondiale de la Santé, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (2011).** Directives sur l'enrichissement des aliments en micronutriments. 379p.
- 61. OSTROSI, E. (2007).** Synthèse des ferrates (VI) de métaux alcalins en utilisant le chlore comme oxydant. Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine., France. 198p.
- 62. PALACIOS, S. (2012).** Ferrous versus Ferric Oral Iron Formulations for the Treatment of Iron Deficiency: A Clinical Overview. *The Scientific World Journal*, 5p.
- 63. PERRIN, R. ET SCHARFF, J.P. (1993).** Chimie industrielle, Masson, Paris, Tome 1.
- 64. Professeur Jacques POIRIER. (2003).** Service d'Histologie – Embryologie. ([japoirie@ext.jussieu.fr](mailto:japoirie@ext.jussieu.fr))
- 65. PRASAD, A.S. (1978).** Trace elements and iron in human metabolism. In: *Iron*, pp. 77-157. Plenum Medical Book Company, New York.
- 66. SCHUMANN, K. (2001).** Safety aspects of iron in food. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2001; 45: 91-101.
- 67. SEGALEN, P. (1964).** Le fer dans les sols. 1<sup>éd.</sup> ORSTOM (office de la recherche scientifique et technique outre-mer). Paris. 156p.
- 68. SEMPOS, C.T.; LOOKER, A.C. (1999).** Iron status and the risk of coronary heart disease. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 9: 294-303.
- 69. SERRAJ, K.; ISMAILI, Z.; BOUHAFS, K.; LEHRAIKI, M.; MECILI, M.; ANDRES, E. (2013).** Anémies ferriprives: de la physiopathologie à la clinique?. *John Libbey Eurotext*. 19(1): 10-20.
- 70. SHAFIE, E.H.; KESHAVARZ, S.A.; KEFAYATI, M.E.; TAHERI, F.; SARBAKHS, P.; VAFA. M.R. (2016).** The Effects of Nanoparticles Containing Iron on Blood and Inflammatory Markers in Comparison to Ferrous Sulfate in Anemic Rats. *International Journal of Preventive Medicine*. 7:117 p.
- 71. TIMBRELL, J.A. (2009).** Principles of biochemical toxicology. Fourth edition, Informa Healthcare, USA. 453p.
- 72. TOBLLI, J.E.; CAO, G.; OLIVIERI, L.; ANGEROSA, M. (2008).** Comparative Study of Gastrointestinal Tract and Liver Toxicity of Ferrous Sulfate, Iron Amino Chelate and Iron Polymaltose Complex in Normal Rats. *Pharmacology*. 82 : 127–137
- 73. TORTORA, G.J.; GRABOWSKI, S.R. (2002).** Principes d'anatomie et de physiologie. 3<sup>ème</sup> Ed. De Boeck Université, Paris. pp. 398-1044
- 74. TOURI, F. (2012).** Synthèse de nouveaux matériaux moléculaires par phosphorylation des dérivés aminés et étude de leurs propriétés électrochimiques et complexantes. Thèse de Magister, Université Ferhat Abbas-Sétif. 95p

- 75. TRUMBO, P.; YATES, A.A.; SCHLICKER, S.; POOS, M. (2001).** Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Journal of the American Dietetic Association*. 101: 294-301.
- 76. VALDIGUIE, P. (2000).** - Biochimie clinique. France: 2<sup>ème</sup> édition. Ed. U.E. 355p.
- 77. VAUBOURDOLLE, M. (2013).** Biochimie Hématologie. 4<sup>ème</sup> éd. WOLTERS KLUWER, 1116 p.
- 78. VIATTE, L. et VAULONT, S. (2005).** L'hépcidine : un nouveau regard sur le métabolisme du fer. *Hépatogastro*. 12(3) : 199-209.
- 79. WALLACE, A.D. & MEYER, S.A. (2010).** Hepatotoxicity. In: *A Textbook of Modern Toxicology*. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey). 277-290.
- 80. WALTER, A.; TICHELLI, A.; TISSOT, J-D.; KORTE, W.; DEMARMELS-BIASIUTTI, F.; PUGIN, P.; GEODE, J. (2010).** Postère sur métabolisme du fer. *Vifor Pharma*. 1/1.
- 81. WEMEAU, J-L.; SCHLIENGER, J-L.; VIALETES, B. (2014).** Endocrinologie, Diabète, Métabolisme et Nutrition pour le Praticien. France : Elsevier-Masson. 552p.
- 82. WHEATER, P.R.; YOUNG, B.; HEATH, J.W. (2001).** Histologie fonctionnelle. 1<sup>Ed</sup>. Paris: De Boeck Université. pp. 144-335.
- 83. WHITTAKER, P.; ALI, S.F.; IMAM, S.Z.; DUNKEL, V.C. (2002).** Acute Toxicity of Carbonyl Iron and Sodium Iron EDTA Compared with Ferrous Sulfate in Young Rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 36(3): 280-286.
- 84. WINICHAGOON, P. (2008).** Coexistence of micronutrient malnutrition: implication for nutrition policy and programs in Asia. *Asia Pac J Clin Nutr*. 17: 346-8.
- 85. World Health Organization/United Nations University/UNICEF. (2001).** Iron deficiency anaemia, assessment, prevention and control: a guide for programme managers. Geneva: WHO.
- 86. YIP, R. (2000).** Significance of an abnormally low or high hemoglobin concentration during pregnancy: special consideration of iron nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72: 272-279.
- 87. ZHU, Q.; QIAN, Y.; YANG, Y.; WU, W.; XIE, J.; WEI, D. (2016).** Effects of carbonyl iron powder on iron deficiency anemia and its subchronic toxicity. *Journal of Food and Drug Analysis*. 24: 746-753.

## Annexe 1 :

### 1. Matériel biologique :

**Tableau I** : Composition des granulés de régime alimentaire des souris selon « ONAB ».

| Composition |      |     |           |      |                                      |
|-------------|------|-----|-----------|------|--------------------------------------|
| Orge        | Mais | Son | Remoulage | Soga | Complément minéral vitaminé<br>(CMV) |

### 2. Matériel non biologique :

#### 2.1. Appareillage :



Balance (GIBERTINI).



Balance de précision (sartorius)



Autoanalyseur pour FNS de type KT-6400



Spectrophotométrie à transmission moléculaire  
de type BA-88A



Centrifugeuse de type Hettich



Etuve



Bain-marie (Froilabo)



Automate (Myr)



(Stuart)



Platine refroidissante (Leica EG 1150C)



Microtome de type Leica



Bain d'eau thermo- statée

**2.2. Réactifs :**

- Le sulfate ferreux.
- L'eau distillée.
- L'héparine.
- Formol 10 %.
- Alcool.
- Xylène.
- Paraffine.
- Colorants.
- Liquide de montage (Eukit).
- L'eau physiologique.
- Ferrocyanure de potassium à 2%.
- Acide chlorhydrique à 2%.
- Rouge Nucléaire à 0.1%.

**2.3. Matériel de Dissection :**

- Cuvette à dissection
- Planche de fixation
- Aiguilles
- Pincés
- Sonde cannelée
- Paire de gros ciseaux
- Paire de ciseaux fins
- Scalpel

**2.4. Autre matériel :**

- Tubes à essais.
- Boites du pétri.
- Cassettes en plastique.
- Cages en plastiques.
- Biberons.
- Tubes EDTA.
- Tubes héparinés.
- Moules en métal.
- Lames.

- Lamelles.
- Porte-lames.

## Annexe 2 :

- **La coloration :**
  - **Etapas de la coloration Hématoxyline-Eosine :**
    - ✓ Immerger les lames 5 minutes dans un bain d'Hématoxyline de Groat qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux),
    - ✓ rinçage des lames 5 minutes à l'eau courante,
    - ✓ immerger 30 secondes dans un bain d'Eosine qui colore les structures acidophiles (cytoplasme),
    - ✓ rinçage rapide,
  - **Etapas de la coloration de Perls :**
    - ✓ Recouvrir les lames pendant 20min avec un mélange à parties égales de Ferrocyanure de Potassium à 5 % et d'acide chlorhydrique à 5 %,
    - ✓ rinçage des lames à l'eau courante,
    - ✓ coloration au rouge nucléaire pendant 2 min,
    - ✓ rinçage des lames à l'eau courante,

## Annexe 3 :

### ➤ Calculs statistiques :

#### Test de Student indépendant:

- Soit 1 et 2 deux groupes différents à comparer.
- Soit  $m_1$  et  $m_2$  la moyenne du groupe 1 et celui du groupe 2, respectivement.
- Soit  $n_1$  et  $n_2$  la taille du groupe 1 et celui du groupe 2, respectivement.

La valeur t de Student est donnée par la formule suivante :

$$t = \frac{|m_1 - m_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$S^2$  est la variance commune aux deux groupes. Elle est calculée par la formule suivante :

$$S^2 = \frac{n_1 \cdot \delta_1^2 + n_2 \cdot \delta_2^2}{n_1 + n_2 + 2}$$

Pour savoir si la différence est significative, il faut tout d'abord lire dans la table t, la valeur critique correspondant au risque  $\alpha = 5\%$  pour un degré de liberté :  $d.d.l = n_1 + n_2 - 2$

- ✓ Si la valeur absolue de t ( $|t|$ ) est supérieure à la valeur critique, alors la différence est significative. Dans le cas contraire, elle, ne l'est pas. Le degré de significativité ou p-value correspond au risque indiqué par la table de Student pour la valeur  $|t|$ .

**Tableau II** : Table de Student.

Avec  $\alpha$  est le pourcentage d'erreur et ddl est le degré de liberté.

| $\alpha$ | 0,90  | 0,50  | 0,30  | 0,20  | 0,10  | 0,05          | 0,02   | 0,01          | 0,001   |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------|--------|---------------|---------|
| ddl      |       |       |       |       |       |               |        |               |         |
| 1        | 0,158 | 1,000 | 1,963 | 3,078 | 6,314 | <b>12,706</b> | 31,821 | <b>63,656</b> | 636,578 |
| 2        | 0,142 | 0,816 | 1,386 | 1,886 | 2,920 | <b>4,303</b>  | 6,965  | <b>9,925</b>  | 31,600  |
| 3        | 0,137 | 0,765 | 1,250 | 1,638 | 2,353 | <b>3,182</b>  | 4,541  | <b>5,841</b>  | 12,924  |
| 4        | 0,134 | 0,741 | 1,190 | 1,533 | 2,132 | <b>2,776</b>  | 3,747  | <b>4,604</b>  | 8,610   |
| 5        | 0,132 | 0,727 | 1,156 | 1,476 | 2,015 | <b>2,571</b>  | 3,365  | <b>4,032</b>  | 6,869   |
| 6        | 0,131 | 0,718 | 1,134 | 1,440 | 1,943 | <b>2,447</b>  | 3,143  | <b>3,707</b>  | 5,959   |
| 7        | 0,130 | 0,711 | 1,119 | 1,415 | 1,895 | <b>2,365</b>  | 2,998  | <b>3,499</b>  | 5,408   |
| 8        | 0,130 | 0,706 | 1,108 | 1,397 | 1,860 | <b>2,306</b>  | 2,896  | <b>3,355</b>  | 5,041   |
| 9        | 0,129 | 0,703 | 1,100 | 1,383 | 1,833 | <b>2,262</b>  | 2,821  | <b>3,250</b>  | 4,781   |
| 10       | 0,129 | 0,700 | 1,093 | 1,372 | 1,812 | <b>2,228</b>  | 2,764  | <b>3,169</b>  | 4,587   |
| 11       | 0,129 | 0,697 | 1,088 | 1,363 | 1,796 | <b>2,201</b>  | 2,718  | <b>3,106</b>  | 4,437   |
| 12       | 0,128 | 0,695 | 1,083 | 1,356 | 1,782 | <b>2,179</b>  | 2,681  | <b>3,055</b>  | 4,318   |
| 13       | 0,128 | 0,694 | 1,079 | 1,350 | 1,771 | <b>2,160</b>  | 2,650  | <b>3,012</b>  | 4,221   |
| 14       | 0,128 | 0,692 | 1,076 | 1,345 | 1,761 | <b>2,145</b>  | 2,624  | <b>2,977</b>  | 4,140   |
| 15       | 0,128 | 0,691 | 1,074 | 1,341 | 1,753 | <b>2,131</b>  | 2,602  | <b>2,947</b>  | 4,073   |
| 16       | 0,128 | 0,690 | 1,071 | 1,337 | 1,746 | <b>2,120</b>  | 2,583  | <b>2,921</b>  | 4,015   |
| 17       | 0,128 | 0,689 | 1,069 | 1,333 | 1,740 | <b>2,110</b>  | 2,567  | <b>2,898</b>  | 3,965   |
| 18       | 0,127 | 0,688 | 1,067 | 1,330 | 1,734 | <b>2,101</b>  | 2,552  | <b>2,878</b>  | 3,922   |
| 19       | 0,127 | 0,688 | 1,066 | 1,328 | 1,729 | <b>2,093</b>  | 2,539  | <b>2,861</b>  | 3,883   |
| 20       | 0,127 | 0,687 | 1,064 | 1,325 | 1,725 | <b>2,086</b>  | 2,528  | <b>2,845</b>  | 3,850   |
| 21       | 0,127 | 0,686 | 1,063 | 1,323 | 1,721 | <b>2,080</b>  | 2,518  | <b>2,831</b>  | 3,819   |
| 22       | 0,127 | 0,686 | 1,061 | 1,321 | 1,717 | <b>2,074</b>  | 2,508  | <b>2,819</b>  | 3,792   |
| 23       | 0,127 | 0,685 | 1,060 | 1,319 | 1,714 | <b>2,069</b>  | 2,500  | <b>2,807</b>  | 3,768   |
| 24       | 0,127 | 0,685 | 1,059 | 1,318 | 1,711 | <b>2,064</b>  | 2,492  | <b>2,797</b>  | 3,745   |
| 25       | 0,127 | 0,684 | 1,058 | 1,316 | 1,708 | <b>2,060</b>  | 2,485  | <b>2,787</b>  | 3,725   |
| 26       | 0,127 | 0,684 | 1,058 | 1,315 | 1,706 | <b>2,056</b>  | 2,479  | <b>2,779</b>  | 3,707   |
| 27       | 0,127 | 0,684 | 1,057 | 1,314 | 1,703 | <b>2,052</b>  | 2,473  | <b>2,771</b>  | 3,689   |
| 28       | 0,127 | 0,683 | 1,056 | 1,313 | 1,701 | <b>2,048</b>  | 2,467  | <b>2,763</b>  | 3,674   |
| 29       | 0,127 | 0,683 | 1,055 | 1,311 | 1,699 | <b>2,045</b>  | 2,462  | <b>2,756</b>  | 3,660   |
| 30       | 0,127 | 0,683 | 1,055 | 1,310 | 1,697 | <b>2,042</b>  | 2,457  | <b>2,750</b>  | 3,646   |
| 40       | 0,126 | 0,681 | 1,050 | 1,303 | 1,684 | <b>2,021</b>  | 2,423  | <b>2,704</b>  | 3,551   |
| 80       | 0,126 | 0,678 | 1,043 | 1,292 | 1,664 | <b>1,990</b>  | 2,374  | <b>2,639</b>  | 3,416   |
| 120      | 0,126 | 0,677 | 1,041 | 1,289 | 1,658 | <b>1,980</b>  | 2,358  | <b>2,617</b>  | 3,373   |
| $\infty$ | 0,126 | 0,675 | 1,037 | 1,282 | 1,645 | <b>1,960</b>  | 2,327  | <b>2,577</b>  | 3,293   |

## Annexe 4 :

Tableau III.1 : Poids corporel des souris mâles témoins.

| Souris            | Poids corporel en g |                |                 |                 |                 |                 |
|-------------------|---------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                   | J <sub>0</sub>      | J <sub>7</sub> | J <sub>14</sub> | J <sub>21</sub> | J <sub>28</sub> | J <sub>31</sub> |
| 1                 | 24                  | 20             | 22              | 23              | 28              | 27              |
| 2                 | 25                  | 26             | 29              | 32              | 27              | 26              |
| 3                 | 27                  | 22             | 30              | 28              | 24              | 26              |
| 4                 | 28                  | 23             | 25              | 30              | 29              | 31              |
| 5                 | 21                  | 22             | 27              | 30              | 27              | 29              |
| 6                 | 27                  | 24             | 26              | 29              | 28              | 25              |
| <b>Moyenne</b>    | <b>25.33</b>        | <b>22.83</b>   | <b>26.50</b>    | <b>28.66</b>    | <b>27.16</b>    | <b>27.33</b>    |
| <b>Ecart type</b> | <b>2.58</b>         | <b>2.04</b>    | <b>2.88</b>     | <b>3.07</b>     | <b>1.72</b>     | <b>2.25</b>     |

Tableau III.2 : Poids corporel des souris traitées par 70 mg/kg de SF.

| Souris            | Poids corporel en g |                |                 |                 |                 |                 |
|-------------------|---------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                   | J <sub>0</sub>      | J <sub>7</sub> | J <sub>14</sub> | J <sub>21</sub> | J <sub>28</sub> | J <sub>31</sub> |
| 1                 | 25                  | 25             | 23              | 25              | 26              | 25              |
| 2                 | 21                  | 25             | 28              | 25              | 29              | 28              |
| 3                 | 25                  | 24             | 30              | 27              | 28              | 30              |
| 4                 | 24                  | 23             | 25              | 29              | 30              | 31              |
| 5                 | 26                  | 24             | 25              | 24              | 26              | 27              |
| 6                 | 22                  | 20             | 23              | 25              | 31              | 26              |
| <b>Moyenne</b>    | <b>23.83</b>        | <b>23.50</b>   | <b>25.66</b>    | <b>25.83</b>    | <b>28.33</b>    | <b>27.83</b>    |
| <b>Ecart type</b> | <b>1.94</b>         | <b>1.87</b>    | <b>2.80</b>     | <b>1.83</b>     | <b>2.06</b>     | <b>2.31</b>     |

Tableau III.3 : Poids corporel des souris traitées par 140 mg/kg de SF.

| Souris            | Poids corporel en g |                |                 |                 |                 |                 |
|-------------------|---------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                   | J <sub>0</sub>      | J <sub>7</sub> | J <sub>14</sub> | J <sub>21</sub> | J <sub>28</sub> | J <sub>31</sub> |
| 1                 | 24                  | 20             | 27              | 30              | 29              | 27              |
| 2                 | 24                  | 24             | 23              | 26              | 28              | 24              |
| 3                 | 21                  | 22             | 25              | 22              | 23              | 24              |
| 4                 | 25                  | 17             | 28              | 30              | 28              | 28              |
| 5                 | 25                  | 21             | 26              | 27              | 26              | 27              |
| 6                 | 24                  | 24             | 24              | 27              | 30              | 25              |
| <b>Moyenne</b>    | <b>23.83</b>        | <b>21.33</b>   | <b>25.50</b>    | <b>27.00</b>    | <b>27.33</b>    | <b>25.83</b>    |
| <b>Ecart type</b> | <b>1.47</b>         | <b>2.66</b>    | <b>1.87</b>     | <b>2.96</b>     | <b>2.50</b>     | <b>1.72</b>     |

**Tableau IV.1** : Valeurs du poids absolu et relatif de foie chez les souris mâles témoins.

| Souris            | Poids de foie (g) | Poids des souris (g) | Poids relatif (g) |
|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| <b>1</b>          | 1.73              | 26                   | 6.65              |
| <b>2</b>          | 2.07              | 29                   | 7.14              |
| <b>3</b>          | 1.90              | 25                   | 7.60              |
| <b>Moyenne</b>    | <b>1.90</b>       | <b>26.66</b>         | <b>7.13</b>       |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.17</b>       | <b>2.08</b>          | <b>0.47</b>       |

**Tableau IV.2** : Valeurs du poids absolu et relatif de foie chez les souris mâles traitées par 70 mg/kg de SF.

| Souris            | Poids de foie (g) | Poids des souris (g) | Poids relatif (g) |
|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| <b>1</b>          | 2.05              | 30                   | 6.83              |
| <b>2</b>          | 1.83              | 27                   | 6.77              |
| <b>3</b>          | 1.91              | 31                   | 6.16              |
| <b>Moyenne</b>    | <b>1.93</b>       | <b>29.33</b>         | <b>6.58</b>       |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.11</b>       | <b>2.08</b>          | <b>0.37</b>       |

**Tableau IV.3** : Valeurs du poids absolu et relatif de foie chez les souris mâles traitées par 140 mg/kg de SF.

| Souris            | Poids de foie (g) | Poids des souris (g) | Poids relatif (g) |
|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| <b>1</b>          | 1.94              | 28                   | 6.93              |
| <b>2</b>          | 1.87              | 25                   | 7.48              |
| <b>3</b>          | 1.82              | 24                   | 7.58              |
| <b>Moyenne</b>    | <b>1.87</b>       | <b>25.66</b>         | <b>7.33</b>       |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.06</b>       | <b>2.08</b>          | <b>0.35</b>       |

**Tableau V** : Paramètres biologiques de référence chez les souris mâles de la souche SWISS selon « JANVIER LABS ».

| <b>Paramètres hématologiques</b> |               |
|----------------------------------|---------------|
| <b>Paramètre</b>                 | <b>Normes</b> |
| <b>GB</b> ( $10^9$ / L)          | 7.8 ± 2.10    |
| <b>GR</b> ( $10^{12}$ / L)       | 9.4 ± 0.50    |
| <b>Hb</b> (g/dL)                 | 14.4 ± 0.70   |
| <b>Ht</b> (%)                    | 55 ± 2.00     |
| <b>VGM</b> (fl.)                 | 59 ± 2.00     |
| <b>CCMH</b> (g/dL)               | 26 ± 1.00     |
| <b>TCMH</b> (Pg)                 | 15.3 ± 0.50   |

| <b>Paramètres biochimiques sanguins</b> |               |
|---|---------------|
| <b>Paramètre</b>                        | <b>Normes</b> |
| <b>Créatinine</b> (mg/ L)               | 5.1 ± 0.6     |
| <b>Cholestérol</b> (g/ L)               | 1.6 ± 0.3     |
| <b>TG</b> (g/ L)                        | 1.1 ± 0.3     |
| <b>Glucose</b> (g/ L)                   | 2.5 ± 0.4     |

**Tableau VI.1** : Valeurs des GB chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>   | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>1</b>          | 5.50        | 2.50        | 3.90        |
| <b>2</b>          | 5.60        | 2.60        | 3.00        |
| <b>3</b>          | 1.80        | 5.00        | 5.60        |
| <b>4</b>          | 2.60        | 3.80        | 4.30        |
| <b>5</b>          | 4.20        | 5.10        | 5.00        |
| <b>6</b>          | /           | 2.20        | 3.20        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>3.94</b> | <b>3.53</b> | <b>4.16</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>1.70</b> | <b>1.29</b> | <b>1.01</b> |

**Tableau VI.2 :** Valeurs des GR chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>   | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>1</b>          | 5.39        | 6.39        | 6.94        |
| <b>2</b>          | 5.16        | 6.01        | 5.91        |
| <b>3</b>          | 6.10        | 4.47        | 5.78        |
| <b>4</b>          | 5.71        | 6.40        | 6.39        |
| <b>5</b>          | 5.46        | 6.50        | 6.09        |
| <b>6</b>          | /           | 6.70        | 6.15        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>5.56</b> | <b>6.07</b> | <b>6.21</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.36</b> | <b>0.82</b> | <b>0.41</b> |

**Tableau VI.3 :** Valeurs d'Hb chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>    | <b>L70</b>   | <b>L140</b>  |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>1</b>          | 13.16        | 12.87        | 14.91        |
| <b>2</b>          | 13.06        | 13.38        | 14.76        |
| <b>3</b>          | 12.75        | 13.21        | 15.02        |
| <b>4</b>          | 13.51        | 13.60        | 13.89        |
| <b>5</b>          | 12.62        | 12.95        | 14.84        |
| <b>6</b>          | /            | 13.49        | 14.42        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>13.02</b> | <b>13.25</b> | <b>14.64</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.35</b>  | <b>0.29</b>  | <b>0.42</b>  |

**Tableau VI.4 :** Valeurs d' Ht chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>    | <b>L70</b>   | <b>L140</b>  |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>1</b>          | 36.50        | 38.20        | 41.70        |
| <b>2</b>          | 29.90        | 34.50        | 43.30        |
| <b>3</b>          | 38.70        | 36.30        | 44.10        |
| <b>4</b>          | 37.60        | 37.80        | 40.90        |
| <b>5</b>          | 33.80        | 39.40        | 42.20        |
| <b>6</b>          | /            | 36.90        | 42.40        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>35.30</b> | <b>37.18</b> | <b>42.43</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>3.52</b>  | <b>1.69</b>  | <b>1.13</b>  |

**Tableau VI.5 :** Valeurs de VGM chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>    | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|--------------|-------------|-------------|
| <b>1</b>          | 56.60        | 53.20       | 56.10       |
| <b>2</b>          | 52.20        | 51.70       | 54.50       |
| <b>3</b>          | 51.60        | 57.30       | 54.30       |
| <b>4</b>          | 53.70        | 54.70       | 56.20       |
| <b>5</b>          | 54.60        | 56.20       | 51.10       |
| <b>6</b>          | /            | 50.40       | 52.50       |
| <b>Moyenne</b>    | <b>53.74</b> | 53.91       | 54.11       |
| <b>Ecart type</b> | <b>1.99</b>  | <b>2.65</b> | <b>2.01</b> |

**Tableau VI.6 :** Valeurs de CCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>    | <b>L70</b>   | <b>L140</b>  |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>1</b>          | 33.10        | 38.60        | 37.00        |
| <b>2</b>          | 36.70        | 37.30        | 34.00        |
| <b>3</b>          | 37.20        | 32.80        | 45.60        |
| <b>4</b>          | 40.00        | 36.50        | 37.40        |
| <b>5</b>          | 35.60        | 37.20        | 40.00        |
| <b>6</b>          | /            | 35.00        | 38.80        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>36.52</b> | <b>36.23</b> | <b>38.80</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>2.50</b>  | <b>2.05</b>  | <b>3.89</b>  |

**Tableau VI.7 :** Valeurs de TCMH chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>    | <b>L70</b>   | <b>L140</b>  |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>1</b>          | 18.70        | 20.60        | 20.70        |
| <b>2</b>          | 19.30        | 19.10        | 18.50        |
| <b>3</b>          | 19.20        | 18.90        | 22.80        |
| <b>4</b>          | 21.40        | 20.40        | 19.10        |
| <b>5</b>          | 19.60        | 21.10        | 21.70        |
| <b>6</b>          | /            | 20.08        | 21.10        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>19.64</b> | <b>20.03</b> | <b>20.65</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>1.03</b>  | <b>0.86</b>  | <b>1.60</b>  |

**Tableau VII.1 :** Valeurs de la créatinémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>   | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>1</b>          | 5           | 5           | 8           |
| <b>2</b>          | 6           | 7           | 9           |
| <b>3</b>          | 5           | 7           | 10          |
| <b>4</b>          | 5           | 8           | 8           |
| <b>5</b>          | 6           | 6           | 7           |
| <b>6</b>          | /           | 7           | 6           |
| <b>Moyenne</b>    | <b>5.40</b> | <b>6.66</b> | <b>8</b>    |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.55</b> | <b>1.03</b> | <b>1.41</b> |

**Tableau VII.2 :** Valeurs de cholestérolémie chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>   | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>1</b>          | 1.34        | 1.25        | 1.18        |
| <b>2</b>          | 1.25        | 1.38        | 1.07        |
| <b>3</b>          | 1.38        | 1.22        | 1.23        |
| <b>4</b>          | 1.30        | 1.22        | 1.50        |
| <b>5</b>          | 1.50        | 1.14        | 1.10        |
| <b>6</b>          | /           | 1.43        | 1.20        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>1.35</b> | <b>1.26</b> | <b>1.21</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.09</b> | <b>0.09</b> | <b>0.15</b> |

**Tableau VII.3 :** Valeurs de taux de TG chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>   | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>1</b>          | 1.00        | 1.56        | 1.18        |
| <b>2</b>          | 1.01        | 1.10        | 1.32        |
| <b>3</b>          | 1.05        | 2.23        | 1.54        |
| <b>4</b>          | 1.03        | 1.51        | 1.20        |
| <b>5</b>          | 1.01        | 1.35        | 1.04        |
| <b>6</b>          | /           | 1.40        | 1.22        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>1.02</b> | <b>1.52</b> | <b>1.25</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.02</b> | <b>0.38</b> | <b>0.17</b> |

**Tableau VII.4 :** Valeurs du taux de glucose chez les souris mâles témoins et traitées par 70 et 140 mg/kg de SF.

| <b>Souris</b>     | <b>LT</b>   | <b>L70</b>  | <b>L140</b> |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| 1                 | 0.91        | 0.95        | 0.82        |
| 2                 | 0.64        | 0.71        | 0.66        |
| 3                 | 0.53        | 0.67        | 0.71        |
| 4                 | 0.86        | 0.68        | 0.81        |
| 5                 | 0.59        | 0.81        | 0.63        |
| 6                 | /           | 0.66        | 0.58        |
| <b>Moyenne</b>    | <b>0.70</b> | <b>0.74</b> | <b>0.70</b> |
| <b>Ecart type</b> | <b>0.17</b> | <b>0.11</b> | <b>0.10</b> |