

2m11.2635.3

Université de Montréal

**Effets de la spéciation du nickel sur sa bioaccumulation et sur sa toxicité chez le
rat.**

Le sulfate de nickel.

Par

OBONE MBA, Élisabeth

Département de médecine du travail et d'hygiène du milieu
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise ès sciences (M.Sc.)
en hygiène du travail et de l'environnement
option toxicologie

Février, 1998

©OBONE MBA Élisabeth, 1998



2023 10/26

WA
5
U58
1998

V.015

1. Institut de Recherche

Le Centre de Recherche

1998

CHRONOLOGIE

Établissement de la chronologie des événements

Le Centre de Recherche

Après la lecture de la notice des études

avant de l'admission au Centre de

Recherche en Sciences (C.R.S.)

en 1998, il a été décidé de *

organiser

1998

1998



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

**Effets de la spéciation du nickel sur sa bioaccumulation et sur sa toxicité chez le
rat.**

Le sulfate de nickel.

Présenté par

OBONE MBA, Élisabeth

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

*Joseph Zayed
Suroj Chakrabarti
Adolf Dyskocil*

Mémoire accepté le.....

28.08.25

SOMMAIRE

Nous avons entrepris ce projet dans le but d'étudier les différentes toxicités et les bioaccumulations du sulfate de nickel (NiSO_4) dans les différents organes sous conditions d'exposition sub-chronique, de chercher une corrélation entre ces toxicités et la bioaccumulation du nickel dans les organes cibles, de comparer les résultats obtenus sous les différentes conditions d'exposition sub-chronique et par la suite prédire l'organe le plus susceptible. La première partie de cette étude consistait à exposer des groupes de rats mâles Sprague Dawley par administration orale via l'eau à 0; 0,1%; 0,5% et à 1% de NiSO_4 sous forme de $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ pendant deux semaines, tandis que dans la deuxième partie, les rats ont été exposés à ce même composé à des doses de 0; 0,02%; 0,05% et 0,1% pendant quatre, huit et treize semaines. Les résultats obtenus dans la première partie de l'étude nous ont montré une diminution significative ($p \leq 0,01$) du poids corporel des rats exposés à 0,5% de NiSO_4 , une mortalité de 60% à 1% NiSO_4 , une diminution significative dose-dépendante du volume d'urine, une augmentation significative de BUN (Azote uréique sérique) à 0,5% ($p \leq 0,05$), une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif du rein à 0,5% de NiSO_4 , une augmentation significative dose-dépendante de la glycosurie ($p \leq 0,05$), une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif des poumons à 0,5%, une diminution significative ($p \leq 0,005$) de LDH (Lactate déshydrogénase) et de ALP (Phosphatase alcaline) à 0,5% et à 0,1% et une diminution ($p \leq 0,05$) de ACP (Phosphatase acide) à 0,5% dans le tissu de poumon, une diminution significative ($p \leq 0,05$ à 0,1% de NiSO_4 , $p \leq 0,005$ à 0,5% de NiSO_4) de ALP dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire. Par contre, aucun changement n'a été observé dans l'excrétion urinaire de NAG (N-acétyl-beta-D glucosaminidase), de γ -GT (gamma-glutamyltranspeptidase), de protéines totales et dans le taux de glucose sérique. De plus, les activités de LDH et de l'ACP sont restées inchangées dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire. Les activités enzymatiques et la quantité de protéines totales sont restées inchangées dans les testicules alors que le poids relatif de ces derniers a diminué significativement ($p \leq 0,05$) à 0,5%. Une diminution significative ($p \leq 0,05$) de l'activité plasmatique de GPT (Transaminase glutamique pyruvique) et du poids relatif du foie ($p \leq 0,01$) a été observée chez tous les groupes exposés. L'évaluation de la réponse immunitaire a montré une induction très forte de la cellularité splénique due à une augmentation significative en pourcentage et en nombre absolu des lymphocytes CD4^+ ,

CD8⁺ et B ainsi que du rapport CD4⁺/CD8⁺ à 0,1% de NiSO₄. Par contre, la dose 0,5% a induit une chute drastique des cellules spléniques totales, des lymphocytes B, CD4⁺ et CD8⁺. L'analyse de l'hématocrite a montré une augmentation significative ($p \leq 0,05$) à 0,5% du pourcentage d'hématocrite. Les poids relatifs du cerveau et du coeur augmentent significativement ($p \leq 0,05$) à 0,5% de NiSO₄.

Dans la deuxième partie de l'étude, l'exposition de quatre semaines a montré une diminution significative dose-dépendante du volume d'urine excrétée et du glucose urinaire, une diminution de la quantité de protéines plasmatiques ($p \leq 0,05$) à 0,02% , une diminution du pourcentage d'hématocrite à 0,1%, une diminution de l'activité de ALP dans le LLBA (liquide de lavage bronchoalvéolaire) de tous les rats traités et dans le tissu à 0,1%, et une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de protéines totales dans le LLBA à 0,1%. À huit semaines d'exposition, nous avons observé une augmentation significative ($p \leq 0,05$) de BUN, de protéines urinaires à 0,05% et à 0,1% de NiSO₄, une diminution dose-dépendante du volume d'urine, une diminution significative ($p \leq 0,05$) du glucose plasmatique à 0,1%, de ACP à 0,05% et à 0,1% et de ALP dans le LLBA de tous les rats traités, une augmentation du poids relatif du rein et du coeur à 0,02% et une diminution de celui du foie à 0,1%. La réponse immunitaire a montré une augmentation du pourcentage de CD4⁺, de CD8⁺ et des lymphocytes B dans la rate à 0,05% et dans le thymus à 0,02% alors que la dose 0,1% de NiSO₄ a induit une diminution des CD4⁺ et une augmentation en pourcentage des lymphocytes B dans la rate, et la dose 0,05% a provoqué une diminution des CD4⁺, CD8⁺ avec une augmentation du ratio , mais la dose 0,1% a provoqué une suppression de CD8⁺ avec une augmentation de CD4⁺ dans le thymus. L'exposition de treize semaines a entraîné une diminution significative dose-dépendante du volume urinaire, du taux de glucose urinaire et de la quantité de protéines plasmatiques, une diminution du pourcentage d'hématocrite à 0,1%, de GPT à 0,05% et à 0,1%, de ALP dans le LLBA et dans le tissu de poumon à 0,05% et à 0,1%. Les autres paramètres n'ont pas changés significativement. Toutes les études histologiques faites dans toutes les différentes conditions d'exposition n'ont pas révélé des dommages significatifs. L'affinité du nickel à se lier aux constituants biologiques est fonction de la dose et de la durée d'exposition. Ainsi le dosage du nickel dans le rein, le foie, le coeur, le cerveau, la rate, le poumon et les testicules chez les rats

exposés à 0,02% de NiSO₄ a montré une accumulation dans l'ordre suivant: poumon > rein > cerveau > foie > rate > coeur (quatre semaines), rein > foie > poumon > rate > cerveau (huit semaines), rein > cerveau > testicule > poumon > coeur (treize semaines). La dose 0,05% provoque une accumulation dans le rein > poumon > foie > rate (quatre semaines), foie > rein > poumon > cerveau > testicule > rate (huit semaines), testicule > rein > cerveau > coeur (treize semaines) et la dose 0,1% entraîne une accumulation dans le rein > poumon > foie > cerveau > coeur > testicule (quatre semaines), rein > foie > cerveau > rate > coeur > poumon (huit semaines), rein > poumon > testicule (treize semaines).

Ces résultats nous ont donc démontré des dommages plus significatifs au niveau du système rénal, pulmonaire et le système immunitaire. Cependant, le potentiel néphrotoxique semble être plus important par rapport aux autres toxicités. On observe aussi un effet réversible ou de tolérance au sulfate de nickel et l'accumulation semble être en relation avec la toxicité. La bioaccumulation et la toxicité du sulfate de nickel sont dépendantes de l'organe et des conditions d'exposition. Cette étude a contribué à l'amélioration de notre connaissance sur le risque toxique associé au sulfate de nickel susceptible d'être rencontré en milieu professionnel, industriel et dans l'environnement général.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xiii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xxiv
REMERCIEMENTS.....	xxv
DÉDICACE.....	xxviii
chapitre1 INTRODUCTION.....	1
1. Notions générales sur le nickel.....	2
1.1 Propriétés Physico-chimiques du nickel.....	2
1.2 Sources d'exposition.....	3
1.2.1 Exposition environnementale.....	3
1.2.2 Exposition humaine.....	4
2. Métabolisme du nickel.....	4
2.1 Voies d'absorption du nickel.....	4
2.2 Transport, accumulation et élimination du nickel chez l'homme et les animaux de laboratoire.....	5
2.2.1 Transport.....	5
2.2.2 Bioaccumulation par différentes voies d'exposition.....	6
- Exposition par injection intraveineuse, intrapéritonéale ou subcutanée.....	6
- Exposition par la voie orale.....	6
- Exposition par inhalation.....	7
- Exposition dermique.....	7
- Transfert transplacentaire.....	8
2.2.3 Élimination.....	8
3. Toxicité du nickel sur les animaux expérimentaux et in vitro.....	9
3.1 Toxicité aiguë.....	10
3.1.1 Voie orale.....	10

3.1.2 Inhalation et installation intratrachéale.....	10
3.1.3 Injection intrapéritonéale, intraveineuse ou subcutanée.....	10
3.2 Toxicité à court terme avec doses répétées.....	11
3.2.1 Par injection orale.....	11
3.2.2 Par inhalation.....	11
3.2.3 Exposition dermique.....	11
3.3 Toxicité subchronique.....	12
3.3.1 Voie orale.....	12
3.3.2 Inhalation.....	12
3.4 Toxicité chronique / cancérogénicité.....	12
3.5 Toxicité du sulfate de nickel.....	13
4. Conclusion et rationnel.....	14
5. Objectifs.....	15
Chapitre 2: MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	17
1. Animaux.....	18
2. Produits chimiques et réactifs.....	18
3. Protocoles expérimentaux.....	18
3.1 Traitement des animaux.....	18
3.1.1 Études préliminaires de type sub-chronique (deux semaines).....	18
3.1.2 Études sub-chroniques.....	19
3.2 Évaluations des différentes toxicités du sulfate de nickel.....	19
3.2.1 Évaluation de la toxicité pulmonaire.....	19
a. Lavage bronchoalvéolaire.....	20
- principe.....	20
- Technique de lavage bronchoalvéolaire.....	20
- Paramètres mesurés dans le liquide de lavage comme indicateur des dommages pulmonaires.....	20

b. Principes et méthodes des paramètres mesurés dans le LLBA et dans l'homogénat des poumons.....	21
1. Protéines.....	21
1.1 Instrument.....	21
1.2 Méthode.....	21
2. Phosphatase acide (ACP).....	22
2.1 Principe.....	22
2.2 Instrument.....	22
2.3 Méthode.....	22
- Réactifs.....	22
- Précautions prises.....	23
- Préparation des échantillons.....	23
- Courbe de calibration.....	24
3. Phosphatase alcaline (ALP).....	24
3.1 Principe.....	24
3.2 Instrument.....	25
3.3 Méthode.....	25
4. Lactate déshydrogénase (LDH).....	26
4.1 Principe.....	26
4.2 Instrument.....	26
4.3 Méthode.....	26
3.2.2 Évaluation de la néphrotoxicité.....	27
A. Paramètres d'atteintes urinaires.....	27
1. N-acétyl-- β -D glucosaminidase (NAG).....	27
1.1 Instrument.....	27
1.2 Méthode.....	27
2. γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT).....	29
2.1 Principe.....	29
2.2 Instrument.....	29
2.3 Méthode.....	29

3. Protéines urinaires.....	30
4. Glucose urinaire.....	30
4.1 Principe.....	30
4.2 Instrument.....	31
4.3 Méthode.....	31
B. Paramètres d'atteintes sériques.....	31
1. L'azote uréique sérique (BUN).....	31
1.1 Principe.....	31
1.2 Instrument.....	32
1.3 Méthode.....	32
2. Protéines et glucose plasmatiques.....	33
3.2.3 Évaluation de l'hépatotoxicité.....	33
3.2.3.1 Transaminase glutamique pyruvique (GPT).....	33
3.2.3.1.1 Principe.....	33
3.2.3.1.2 Instrument.....	34
3.2.3.1.3 Méthode.....	34
3.2.4 Évaluation de l'immunotoxicité.....	34
3.2.5 Évaluation de la toxicité sur les testicules.....	35
3.2.6 Évaluation du pourcentage d' hématocrite.....	35
3.3 Évaluation de la bioaccumulation du sulfate de nickel.....	35
3.3.1 Nettoyage de la vaisselle.....	35
3.3.2 Préparation des échantillons.....	35
3.3.3 Procédure d'analyse.....	36
3.4 Analyses histologiques.....	36
3.5 Évaluations statistiques.....	36

Chapitre 3: RÉSULTATS.....	37
3.1 Étude préliminaire de type sub-chronique (deux semaines)	38
3.1.1 Croissance corporelle.....	38
3.1.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel.....	40
3.1.2.1 Évaluation des paramètres moins spécifiques.....	40
- Le poids relatifs des reins.....	40
- Le volume urinaire.....	40
- Le taux de glucose sérique.....	40
- Le taux de protéines plasmatiques.....	40
3.1.2.2 Évaluation de l'intégrité glomérulaire.....	41
- Le taux d'azote uréique sérique (BUN).....	41
- L'excretion des protéines urinaires.....	41
3.1.2.3 Évaluation de l'intégrité tubulaire.....	41
- Le glucose urinaire.....	41
- L'activité de N-acétyl-beta-D glucosaminidase (NAG) dans l'urine.....	41
- L'activité urinaire de γ -GT.....	41
3.1.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel.....	42
3.1.4 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire.....	45
3.1.4.1 Poids relatifs des poumons.....	45
3.1.4.2 Étude des paramètres mesurés dans le LLBA.....	45
3.1.4.3 Étude des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire.....	45
- L'activité de ALP.....	45
- L'activité de LDH.....	45
- L'activité de ACP.....	45
- Les protéines totales.....	46
3.1.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules.....	46
3.1.6 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système immunitaire.....	46

3.1.7 Autres toxicités.....	47
3.2 Études sub-chroniques de la toxicité du sulfate de nickel chez les rats sous différentes conditions d'exposition.....	51
3.2.1 Études de la toxicité du sulfate de nickel après quatre semaines d'exposition.....	51
3.2.1.1 Croissance corporelle.....	51
3.2.1.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel.....	54
3.2.1.2.1 Évaluation des paramètres moins spécifiques.....	54
- Le volume urinaire.....	54
- Le poids relatif des reins.....	54
- Les concentrations plasmatiques du glucose et de protéines totales.....	54
3.2.1.2.2 Évaluation de l'intégrité glomérulaire.....	54
- La quantité de protéines totales dans l'urine.....	54
- Le taux d'azote uréique sérique (BUN).....	54
3.2.1.2.3 Évaluation de l'intégrité tubulaire.....	55
- Le taux de glucose dans l'urine.....	55
- L'activité urinaire de NAG.....	55
- L'activité urinaire de γ -GT.....	55
3.2.1.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel.....	55
3.2.1.4 Évaluation de la toxicité pulmonaire du sulfate de nickel.....	58
3.2.1.4.1 Le poids relatif des poumons.....	58
3.2.1.4.2 Évaluation des paramètres mesurés dans le LLBA.....	58
- L'activité de ALP.....	58
- L'activité de ACP.....	58
- L'activité de LDH.....	58
- La quantité de protéines totales.....	58

3.2.1.4.3 Évaluation des paramètres mesurés dans le tissu de poumon.....	58
- L'activité de ALP.....	58
- L'activité de ACP.....	59
- L'activité de LDH.....	59
- La quantité de protéines totales.....	59
3.2.1.5 Évaluation de la toxicité testiculaire du sulfate de nickel.....	59
3.2.1.6 Autres toxicités.....	59
3.2.2 Études de la toxicité du sulfate de nickel après huit semaines d'exposition	62
3.2.2.1 Croissance corporelle.....	62
3.2.2.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel.....	64
3.2.2.2.1 Évaluation des paramètres moins spécifiques.....	64
- Le poids relatif des reins.....	64
- Le volume urinaire.....	64
- Le taux de glucose plasmatique.....	64
3.2.2.2.2 Évaluation de l'intégrité glomérulaire.....	64
- Le taux d'azote uréique sérique (BUN).....	64
- Le taux de protéines urinaires.....	64
3.2.2.2.3 Évaluation de l'intégrité tubulaire.....	65
- Le taux de glucose urinaire et de protéines plasmatiques..	65
- Les activités de N-acétyl-β-D glucosaminidase (NAG) et de γ-glutamyltranspeptidase (γ-GT).....	65
3.2.2.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel.....	65
3.2.2.4 Autres toxicités.....	65
3.2.2.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire.....	68
3.2.2.5.1 Le poids relatif des poumons.....	68

3.2.2.5.2	Évaluation des paramètres mesurés dans le LLBA.....	68
3.2.2.5.3	Évaluation des paramètres mesurés dans le tissu poumonaire.....	68
3.2.2.6	Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules.	68
3.2.2.7	Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système immunitaire.....	71
3.2.3	Études de la toxicité du sulfate de nickel après treize semaines d'exposition.....	73
3.2.3.1	Croissance corporelle.....	73
3.2.3.2	Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel.....	73
	- Le poids relatif des reins.....	73
	- Le volume urinaire.....	73
	- Le glucose plasmatique.....	73
	- Le taux d'azote uréique sérique (BUN)	74
	- Les protéines totales dans l'urine.....	74
	- Le taux de glucose urinaire.....	74
	- Les protéines plasmatiques.....	74
	- L'activité urinaire de NAG.....	74
	- L'activité de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT).....	74
3.2.3.3	Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel.....	77
3.2.3.4	Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire.....	77
3.2.3.4.1	Le poids relatif des poumons.....	77
3.2.3.4.2	Évaluation des paramètres mesurés dans le LLBA.....	77
3.2.3.4.3	Évaluation des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire.....	77
3.2.3.5	Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules.....	77
3.2.3.6	Autres toxicités.....	78

3.3 Études de la bioaccumulation du sulfate de nickel dans les organes des rats mâles Sprague-Dawley après une administration orale dans l'eau sous différentes conditions d'exposition sub-chronique.....	81
3.3.1 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel après quatre semaines d'exposition.....	81
3.3.2 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel après huit semaines d'exposition.....	84
3.3.3 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel après treize semaines d'exposition.....	86
3.3.4 Comparaison de la bioaccumulation du sulfate de nickel dans les différentes conditions d'exposition.....	88
3.4 Comparaison de la toxicité du sulfate de nickel à sa bioaccumulation sous différentes conditions d'exposition sub-chronique.....	88
3.4.1 Comparaison de la toxicité versus bioaccumulation après quatre semaines d'exposition.....	88
3.4.2 Comparaison de la toxicité versus bioaccumulation après huit semaines d'exposition.....	89
3.4.3 Comparaison de la toxicité versus bioaccumulation après treize semaines d'exposition.....	89
Chapitre 4: DISCUSSION.....	90
4.1 Croissance corporelle.....	92
4.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel.....	92
a. Paramètres moins spécifiques.....	93
b. Paramètres spécifiques au segment glomérulaire.....	94
c. Paramètres spécifiques au segment tubulaire.....	95
4.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel.....	97
4.4 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire.....	97
a. Le poids relatif des poumons.....	97

b. Étude des paramètres mesurés dans le LLBA.....	97
c. Étude des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire.....	99
4.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le testicules.....	100
4.6 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système immunitaire.....	100
4.7 Autres toxicités.....	101
4.8 Récapitulation de la toxicité sub-chronique du sulfate de nickel.....	102
- Toxicité rénale.....	102
- Toxicité pulmonaire.....	103
- Toxicité dans les testicules.....	104
- Hépatotoxicité.....	104
- Toxicité du système immunitaire.....	104
4.9 Étude sub-chronique de la bioaccumulation du sulfate de nickel.....	105
Chapitre 5: CONCLUSION.....	107
BIBLIOGRAPHIE.....	110
ANNEXE.....	xxix

LISTE DES TABLEAUX

Courbe de calibration de la phosphatase acide (ACP).....23

Études préliminaires de type sub-chronique (deux semaines)

Tableau I: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen ($g \pm sem$) des rats mâles Sprague-Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation....39

Tableau II: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe / poids corporel) des rats mâles Sprague-Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....39

Tableau III: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....43

Tableau IV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ - GT chez les rats mâles Sprague-Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....43

Tableau V: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....44

Tableau VI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley ($n = 3$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation...48

Tableau VII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité des protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....48

Tableau VIII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité des protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....49

Tableau IX: Effet sub-chronique (deux semaines) du NiSO₄ sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans la rate des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).....49

Tableau X: Effets sub-chroniques (deux semaines) du NiSO₄ sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans le thymus des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).....50

Études sub-chroniques (quatre semaines)

Tableau XI: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen (en gramme) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 8) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation...53

Tableau XII: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe / poids corporel) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 8) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....53

Tableau XIII: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....56

Tableau XIV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ -GT chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....56

Tableau XV: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....57

Tableau XVI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation...60

Tableau XVII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité des protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....60

Tableau XVIII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité des protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....61

Études préliminaires de type sub-chronique (huit semaines)

Tableau XIX: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen des rats mâles Sprague-Dawley (n = 8) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....63

Tableau XX: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe / poids corporel) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 8) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....63

Tableau XXI: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....66

Tableau XXII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ - GT chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....	66
Tableau XXIII: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après huit semaines d'expositin orale par l'eau de consommation.....	67
Tableau XXIV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....	69
Tableau XXV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité des protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....	69
Tableau XXVI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité des protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après huit semaines d'exposition orale dans l'eau de boisson.....	70
Tableau XXVII: Effet sub-chronique (huit semaines) du NiS04 sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans la rate des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).....	72
Tableau XXVIII: Effets sub-chroniques (huit semaines) du NiS04 sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans le thymus des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).....	72
Études préliminaires de type sub-chronique (treize semaines)	
Tableau XXIX: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen des rats mâles Sprague-Dawley (n = 8) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.....	75

Études sub-chroniques de la bioaccumulation du sulfate de nickel

Tableau XXXVII: Accumulation du nickel [$A = (E-C)/C$] dans les différents organes des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation au NiS04.....	83
Tableau XXXVIII: Accumulation du nickel [$A = (E-C)/C$] dans les différents organes des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après huit semaines d'exposition orale dans par de consommation au NiS04.....	85
Tableau XXXIX: Accumulation du nickel [$A = (E-C)/C$] dans les différents organes des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation au NiS04.....	87

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACP	Acide phosphatase
ALP	Alcaline phosphatase
ADP	Adénosine diphosphate
ATP	Adénosine triphosphate
BUN	Azote uréique sérique
G-6-PDH	Glucose-6-phosphate déhydrogénase
GPT	Transaminase glutamique pyruvique
GLDH	Glutamate déshydrogénase
γ -GT	Gamma-glutamyltranspeptidase
i.m.	intramusculaire
i.p.	intrapéritonéale
INT	Iodonitrotetrazolium
INTH	Iodonitrotetrazolium formazan
LDH	Lactase déshydrogénase
LLBA	Liquide de lavage bronchoalvéolaire
LD	Lactate désydrogénase
LOEL	Lowest-Observed-Effect Level
NADH	La nicotinamide adénine dinucléotide
NADP	La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH	La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)
NAG	N-acétyle- β -D glucosaminidase
NOAEL	No-Observed -Adverse -Effect Level
NOEL	No-Observed -Effect Level
PMS	Phénazine methosulfate (forme oxydée)
PMSH	Phénazine methosulfate (forme réduite)
U.I.	Unité internationale

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Je désire exprimer ma profonde gratitude au Docteur Saroj Chakrabarti, mon directeur de recherche qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire en me confiant ce projet et en assurant ma formation de toxicologue. Il a eu la lourde tâche de diriger mes travaux avec la gentillesse et la disponibilité qui le caractérisent. Ce projet n'aurait pu être mené à bien sans son aide constante et les conseils fructueux qu'il m'a prodigués. Son esprit d'analyse, sa perspicacité et sa direction scientifique m'ont été précieux pour la réalisation de ce projet. Je lui exprime ma plus profonde reconnaissance.

Je remercie Dr Lucie Lamontagne et ses techniciens de laboratoire qui ont contribué à la réalisation de la partie Immunotoxique de ce projet.

Je ne saurais exprimer mes plus profonds remerciements au Dr Bai pour son assistance technique et méthodique, pour la réalisation des statistiques et des graphiques. Son esprit d'analyse, sa disponibilité, son aide, sa patience, sa sympathie, ses fructueux conseils et échanges et son encadrement m'ont été très indispensables pour mener à terme ce projet. Qu'il veuille recevoir ici ma plus profonde sympathie et ma reconnaissance.

Je remercie Mme Lise Gareau, technicienne, pour sa contribution à la réalisation de la partie histologique de ce projet.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à Mr Anwar Malick et à Mme Diane Talbot, pour leur assistance technique, leur aide et leur sympathie.

Je remercie Mr Claude Viau, directeur du département de médecine du travail et d'hygiène du milieu, pour ses précieux conseils.

Mes remerciements vont à tous les professeurs, techniciens, étudiants et secrétaires du département de médecine du travail et d'hygiène du milieu, et à tous les autres professeurs qui m'ont prodigué leurs enseignements tout le long de ma formation de maîtrise. Leur accueil chaleureux, leurs enseignements, leurs conseils et commentaires, leur aide, leur encadrement et leur sympathie m'ont rassuré.

Je ne saurai terminer sans adresser une pensée particulière à tous mes collègues et étudiants du Dr Saroj Chakrabarti et surtout à Mr Kovana L. Marcel pour ses prodigieux conseils, ses encouragements, sa disponibilité et pour son soutien moral.

Mes remerciements vont également à tous les membres du jury qui ont bien voulu accepter d'y faire partie.

Je ne saurai terminer sans exprimer ma plus profonde reconnaissance à l'État Gabonais qui m'a accordé la bourse pour ma formation de maîtrise.

Enfin, je remercie toute ma famille et amis, ainsi que tous ceux de prêt ou de loin ont participé à la réalisation de ce projet. A toi, mon conjoint Prosper Bitchoka qui a pu me soutenir tout au long de ce projet, merci.

DÉDICACE

Je dédie ce mémoire en mémoire de mon père, feu **MBA ÉKOUA Paul** décédé le 26 Décembre 1979.

A ma mère, Mme veuve **ADA BÉ Suzanne**

A mes frères et soeurs: **Lambert, Barthélémy, Antoinette, Julien, Léopold**

A mes enfants et neveux: **Yannick, Régis, Léila, Gersende, Tristan, Tifanie, Gwanael, Igor, Grâce, Fiona, Mignone, Ékoua, Ian Reed, Julia ...**

A tous les autres membres de ma famille.

Chapitre 1

INTRODUCTION

1. Notions générales sur le nickel

Le nickel est l'un des oligo-éléments les plus abondants de la nature. On le trouve dans les plantes, les roches, le sol, l'eau, les tissus animaux et humains et dans les aliments. Certains animaux et plantes ont besoin de nickel comme élément nutritif, mais son rôle biologique chez l'Homme et l'animal est encore mal connu (Anke *et al.*, 1984). Il s'est avéré aussi toxique et c'est en raison de ses effets sur la santé que de nombreux laboratoires ont entrepris des recherches pour mieux comprendre le métabolisme du nickel. Il a été reconnu comme étant carcinogène chez l'Homme et les animaux par IARC en 1990. Cependant, les connaissances actuelles sont très incomplètes, voire même inexistantes en ce qui concerne les effets de la spéciation du nickel et de ses composés sur sa bioaccumulation et sa toxicité. À cet effet, la toxicité du nickel requière des connaissances beaucoup plus approfondies de ses caractéristiques physiques et chimiques et de son comportement dans les différents tissus et organes.

1.1 Propriétés physico-chimiques du nickel

Le nickel est un élément métallique de masse atomique 58,71, de nombre atomique 28, de densité 8,9, de point de fusion 1453°C et de point d'ébullition 2732°C. Il est le vingt quatrième élément dans l'ordre d'abondance dans la croûte terrestre. Il peut se présenter sous plusieurs états d'oxydation (0, +1, +2,+3), mais, sous la forme ionique, il existe essentiellement à l'état Ni^{+2} . Il résiste aux alcalis mais se dissout généralement dans les acides oxydants dilués. Le carbonyle de nickel est le plus volatil avec un point d'ébullition de 48 °C et se décompose à une température supérieure à 50°C. Il est insoluble dans l'eau, mais soluble dans les solvants organiques. Le carbonate, le sulfure et l'oxyde de nickel sont insolubles dans l'eau, tandis que le chlorure, le sulfate et le nitrate sont hydrosolubles. Le sulfate de nickel existe sous forme d'hexahydrate, il est initialement sous forme α qui peut changer en forme β à 53,3 °C. L'oxyde de nickel existe aussi sous deux formes, à savoir le noir qui est chimiquement réactif et qui peut se transformer en sels dans le milieu acide, et le vert qui est un matériel réfractaire et inerte. Sa solubilité dans l'acide et les autres propriétés dépendent de sa méthode de préparation. Dans les systèmes biologiques, le nickel dissous

peut former des complexes avec les ligands et se fixer aux matières organiques (Friberg *et al.*, 1986; IPCS, 1990 et 1991).

1.2 Sources d'exposition

1.2.1 Exposition environnementale

La croûte terrestre contient environ 0,008% de nickel. Les terrains agricoles contiennent une quantité variant de 3 à 1000 mg/kg, tandis que les quantités de 2 à 10 µg/L sont rencontrées dans les eau douces, 0,2 à 0,7 µg/L dans l'eau de mer et 0,1 à 3 ng/m³ dans l'atmosphère plus précisément au dessus des zones éloignées des industries. Son introduction dans l'environnement a été faite à partir des sources naturelles et industrielles et circule à travers tous les compartiments environnementaux par des processus physiques et chimiques et par des mécanismes de transport biologique chez les êtres vivants. La majeure source d'émission de nickel dans l'environnement est la combustion des fossiles combustibles tels que le charbon, la houille, le carburant ou les huiles. Les émissions non contrôlées et la disposition des égouts ont aussi un impact sur l'environnement. Le transport et la distribution des particules de nickel dans les divers compartiments dépendent de la granulométrie des particules et des conditions météorologiques. La taille des particules dépend à son tour de la source d'émission. Généralement, les industries émettent les plus petites particules et la nature émet les plus grosses particules (IPCS, 1990).

Le nickel peut exhiber une haute mobilité dans le sol et finalement parvenir jusqu'aux eaux souterraines, puis dans les rivières, les cours d'eau et les lacs dépendamment du type de sol. Il est ensuite pris par les plantes terrestres à partir de leurs racines et ce, dépendamment des paramètres géochimiques et physiques tels que le pH, le type de sol, l'humidité, la matière organique dans le sol et la quantité de nickel extractible. Certaines espèces végétales seront appelées hyperaccumulatrices, car elles peuvent accumuler 1 mg/kg de poids sec et poussent sur des sols relativement stériles. Cependant, à partir de 50 mg/kg de poids sec le nickel devient toxique pour la plupart des végétaux (IPCS, 1990 et 1991).

Les animaux sauvages comme les herbivores et leurs prédateurs carnivores, absorbent le nickel par des voies alimentaires. Et une fois absorbé, il se retrouve finalement dans des organes et tissus des humains via la chaîne alimentaire (plantes → herbivores → carnivores et prédateurs → Homme) et via l'ingestion de la nourriture, de l'eau et par l'inhalation.

1.2.2 Exposition humaine

L'Homme est exposé à des concentrations de nickel via l'inhalation des particules atmosphériques, l'ingestion de l'eau de consommation, les produits alimentaires tels que les produits laitiers, le cacao, les graines de soja, divers noix, certains légumes secs et la farine d'avoine qui contiennent de fortes concentrations de nickel. La libération de nickel par les ustensiles de cuisine et la cigarette peut augmenter les quantités consommées. L'exposition cutanée peut aussi jouer un rôle important dans l'apparition d'une hypersensibilité due au contact avec des objets contenant du nickel. Dans les milieux de travail, les concentrations atmosphériques de nickel peuvent varier selon le processus industriel et la quantité de nickel dans les produits utilisés (IPCS, 1990 et 1991).

2. Métabolisme du nickel

2.1 Voies d'absorption du nickel

Le nickel et ses composés peuvent entrer dans le corps humain ou animal surtout par les voies orales et respiratoires. Les quantités absorbées par un organisme à partir de toutes les voies d'exposition varient en fonction de la solubilité des composés. L'absorption percutanée est principalement due à un contact direct avec le sol dans un environnement général et n'apparaît pas comme étant un facteur majeur des effets systémiques (Nieboer et Nriagu, 1992; Maibach et Menné, 1989). L'injection parentale est seulement d'un intérêt pratique dans les études toxicologiques utilisées pour la cinétique du transport, la distribution et l'élimination du nickel (IPCS, 1990).

2.2 Transport, accumulation et élimination du nickel chez l'Homme et les animaux de laboratoire

Le transport et la distribution du nickel chez plusieurs organismes sont des processus qui dépendent du mode d'absorption, de la dose, du niveau d'exposition, de la forme chimique et de la physiologie. La variation considérable de la distribution du nickel dans les différentes études est due à la variation de ces facteurs. L'étude de la distribution du nickel dans les tissus des animaux est utilisée pour mieux comprendre l'interaction entre le nickel et le matériel biologique, et par conséquent ses effets toxiques et carcinogènes (IPCS, 1991). Le nickel est accumulé en grande partie dans le rein, le foie et les poumons, et est éliminé dans l'urine. Sa distribution et son élimination dépendent de la nature du composé et de la voie d'entrée.

2.2.1 Transport

Le sang est un moyen de transport et de distribution pour le nickel. Dans le sang, le nickel est principalement transporté sous forme liée à l'albumine, à la fraction ultrafiltrable (L-Histidine), et à la nickeloplasmine (alpha-2-macroglobuline) (Sunderman, 1977). Dans les tissus, il se lie aux acides nucléiques, aux protéines et à leurs constituants tels que les nucléotides, peptides, acides aminés. Il se lie principalement aux liaisons sulfures, azotées, amines, amides phosphates, groupements carboxyles (Lucassen et Sarkar, 1979; Sunderman *et al.*, 1972; IPCS, 1991). L'albumine est la principale protéine transporteuse de nickel chez l'Homme, le lapin, le rat et le bovin. La métalloprotéine, encore appelée nickeloplasmine a été isolée chez le rat, le lapin et chez l'humain. Elle constitue la seconde macromolécule de masse moléculaire de 7×10^5 , elle a été identifiée comme étant α -2 macroglobuline chez le lapin et 9,5 α -glycoprotéine chez l'Homme (IPCS, 1990; Nomoto *et al.*, 1971; Mushak, 1980; Nomoto et Sunderman, 1989).

L'échange et le transfert du nickel entre L-histidine et l'albumine apparaissent comme étant médiés par un complexe ternaire sous la forme « albumine-nickel-L-histidine » (Sarkar, 1984). La quantité de nickel dans chaque compartiment varie selon les espèces et cela peut être dû d'une part, à la variation des espèces dans l'affinité de l'albumine pour le nickel (Nomoto et Sunderman, 1989; Asato *et al.*, 1975).

2.2.2 Bioaccumulation par différentes voies d'exposition

La distribution ou la bioaccumulation du nickel dépend de plusieurs paramètres tels que la composition chimique du composé de nickel administré, la dose, le nombre d'administrations, l'intervalle de temps entre l'exposition et le sacrifice, la race de l'animal et la voie d'absorption. Cependant les différentes études démontrent une grande accumulation du nickel dans le rein, le poumon, le foie, le coeur et les testicules après une injection intraveineuse (Smithe et Hackley, 1968; Parker et Sunderman, 1974; Chausmer, 1976; Oskarsson et Tjälve, 1979). Par contre une injection intratrachéale est suivie d'une grande accumulation du nickel dans le poumon, la lymphe, le rein (Nieboer et Nriagu, 1992).

D'autres facteurs tels que les agents chélateurs, les agents rédox, les inhibiteurs compétitifs, les constituants alimentaires, les ions intestinaux, les substances qui augmentent le pH, la solubilité et l'oxydation, les maladies et le stress physiologiques influencent la distribution du nickel (IPCS, 1990). Les niveaux du nickel dans les tissus des animaux expérimentés ont été déterminés suivant l'exposition d'une variété de composés de nickel à des différentes conditions expérimentales (IPCS, 1990):

- Exposition par injection intraveineuse, intrapéritonéale ou subcutanée du

Ni⁺⁺

L'accumulation du nickel dans les organes dépend des composés du nickel et du nombre d'injections et de la concentration. Ainsi une injection du sulfate de nickel entraîne une grande accumulation dans la trachée > nasopharynx > oesophage, poumon, cou, os, coeur, cerveau et le rein, par contre des injections répétées d'acétate de nickel entraînent une haute accumulation dans le pancréas et une faible accumulation dans le rein et le coeur (IPCS, 1991).

- Exposition par voie orale

Les données relatives aux concentrations de nickel dans les tissus humains après une exposition orale ne sont pas bien identifiées. Mais chez les animaux, le nickel est présent

premièrement dans le rein après une exposition à court et à long terme aux composés solubles. On a aussi trouvé des quantités de nickel dans le foie, le coeur, les poumons, dans les tissus adipeux, les tissus nerveux périphériques et dans le cerveau. Une augmentation de quantités de nickel dans la diète des rats est suivie d'une élévation de la concentration de nickel dans le rein > foie > coeur > testicules, alors que chez les rats albinos, cette augmentation de la quantité de nickel dans leur nourriture est suivie d'une accumulation dans le pancréas > testicules > os (Whanger, 1973; O'Dell et al., 1971).

- Exposition par inhalation

Après une exposition respiratoire, le nickel se distribue premièrement dans les poumons chez la population générale et chez les travailleurs exposés au nickel avec des taux élevés chez ces derniers. Les niveaux de nickel sont faibles dans le foie et le rein par rapport aux poumons. Les études faites chez les animaux en laboratoire montrent que le nickel est distribué faiblement dans les tissus nerveux, les tissus mous et dans les os (IPCS, 1991). Clary (1975) a rapporté que 53% de nickel était présent dans les reins, 30% dans les poumons et le reste était distribué dans le foie, le pancréas, la rate, le coeur et les testicules chez les rats mâles albinos à qui on a administré 1 mg de NiCl₂ par instillation intratrachéale. Le nickel a été aussi détecté dans le foie, le rein, la rate chez les rats mâles Wistar F344 après inhalation de l'oxyde, du sous-sulfide et du sulfate de nickel, cependant ces niveaux étaient faibles par rapport aux poumons.

- Exposition dermique

Il n'y a pas beaucoup d'information concernant l'exposition dermique, cependant Norgaard (1955 et 1957) a observé des quantités de nickel dans l'urine, le sang, le rein et le foie, 24 heures après une application de 10 µl d'une solution de 5% de NiSO₄ chez les lapins et les pigeons de Guinée.

- Transfert transplacentaire

On a détecté des concentrations de nickel dans le sang du fœtus similaires à celles dans le sang maternel (concentration moyenne de $3 \pm 2 \mu\text{g/L}$ chez 12 nouveaux nés) (Schroeder et al., 1962). Chez l'humain, le nickel est normalement présent dans les tissus des fœtus et dans les fluides corporels à des concentrations similaires à celles trouvées chez la mère. Le fœtus absorbe significativement le nickel le cinquième, sixième et le seizième jour de la gestation. Une injection intrapéritonéale du chlorure de nickel le 18^{ième} jour de la gestation est suivie d'un transfert très rapide du nickel de la mère vers le fœtus et les concentrations dans les tissus du fœtus sont plus élevées que celles dans la barrière placentaire. La concentration maximale est atteinte après 8 heures et diminue 24h et 48h après l'injection (Sunderman et al., 1978).

Le transfert transplacentaire est donc influencé par l'âge gestationnel et la biodisponibilité du nickel dans le sang maternel. En outre, la structure et l'implantation du placenta peut aussi influencer ce transfert (IPCS, 1990 et 1991).

2.2.3 Élimination

La majorité du nickel est excrété dans l'urine chez les animaux et chez l'Homme. Une large proportion est éliminée dans les selles après une administration orale, ceci est dû à sa faible absorption. Le nickel est aussi éliminé par la salive, la sueur, les larmes, et dans le lait. Chez l'Homme et les animaux, le nickel non absorbé dans le tractus gastro-intestinal est excrété dans les selles et la fraction absorbée est excrétée dans l'urine. Cependant certaines espèces animales excrètent le nickel dans la bile, cette excrétion biliaire est minimale chez les animaux, mais peut être significativement importante chez l'Homme. Les cheveux sont aussi utilisés comme un organe excréteur de nickel (Mushak, 1980).

L'élimination dépend aussi de la voie d'entrée du nickel. Une administration orale entraîne une excrétion abondante dans les selles (90%) avec une faible excrétion dans l'urine. Il a été estimé que 65 % de nickel trouvé dans le filtrat glomérulaire est réabsorbé par le système

tubulaire rénal et une fois réabsorbé, la principale voie d'excrétion est l'urine (Sunderman et al., 1989). Une ingestion orale dans l'eau du NiSO₄ par les humains montre une grande élimination dans les selles. Chez les animaux, la majorité du nickel est aussi éliminé dans les selles. O' Dell et al. (1971) ont montré que l'ingestion orale d'une diète contenant 62,5 - 250 ou 1000 mg/kg de carbonate de nickel est premièrement excrété dans les selles.

Une exposition via inhalation entraîne des niveaux élevés de nickel dans l'urine. Des corrélations positives ont été observées entre les concentrations dans l'air ambiant et les concentrations trouvées dans l'urine des travailleurs des industries de nickel. Ces niveaux sont encore plus élevés chez les travailleurs exposés aux composés solubles qu'insolubles, ce qui indique que les composés solubles sont les plus rapidement éliminés que les composés insolubles (IPCS, 1991).

D'autre part, l'élimination est fonction de la demi-vie biologique du composé de nickel. Les expériences faites chez le rat ont démontré que 78% de la dose injectée sont excrétés dans l'urine durant les trois premiers jours d'exposition. Chez le lapin, ce même pourcentage est aussi excrété le premier jour d'exposition. Dans le plasma des rats, la demi-vie biologique correspond à 6,3 h après 50 h d'exposition, alors que chez le lapin, elle est de 7,5 h. Elle varie de 20 à 34h dans le plasma et de 17 à 39 h dans l'urine des travailleurs des industries de fabrication d'acier. Cette demi-vie a été évaluée en se basant sur les valeurs de nickel dans l'air, le plasma et dans l'urine des quatre travailleurs après une semaine de travail et en utilisant un modèle à un compartiment (Friberg, 1986).

3. Toxicité du nickel sur les animaux expérimentaux et *in vitro*

Plusieurs facteurs tels que la durée et la voie d'exposition, la dose, le composé et l'espèce animal peuvent influencer la toxicité du nickel.

3.1 Toxicité aiguë

3.1.1 Voie orale

Les données indiquent que les sels solubles de nickel vont d'une toxicité modérée à une forte toxicité aiguë chez les rats (DL_{50} : 42,5 à 112 mg/kg de poids corporel), alors que les sels insolubles ont une toxicité aiguë faible (DL_{50} : 32,35 à 9000 mg/kg de poids corporel). Les signes observés sont la réduction de l'activité, l'ataxie, la diarrhée, la salivation, l'enflure des membres, la dépression du système nerveux central et la mort. Ces effets sont particulièrement notés avec les sels solubles (Mastromatteo, 1986; FDRL, 1983; Itskova et al., 1969; BIBRA, 1992).

3.1.2 Inhalation et instillation intratrachéale

Plusieurs études sur la toxicité aiguë du nickel montrent que le carbonyle de nickel est le plus toxique avec une DL_{50} comprise entre 100 à 240 mg/m³ pendant une période d'exposition de 20 à 30 min, alors que les DL_{50} de NiCl₂ et de NiSO₄ varient entre 4 et 50 mg/kg de poids corporel. Les signes généralement observés sont des difficultés respiratoires, des effets inflammatoires des poumons, des hémorragies des reins et des glandes surrénales, des effets néphrotoxiques comme la protéinurie et l'aminoacidurie ainsi que des effets immunotoxiques (Sunderman et al., 1961; Horak et Sunderman, 1980).

3.1.3 Injection intrapéritonéale, intraveineuse ou subcutanée

Les DL_{50} du chlorure de nickel, d'acétate de nickel et du carbonate de nickel sont comprises entre 5 et 31 mg/kg du poids corporel.

Signes de toxicité : une diminution du poids, une diarrhée, des difficultés respiratoires, un oedème, des dommages pulmonaires, une hyperplasie et une hypertrophie des cellules de l'épithélium alvéolaire, une accumulation de la polymorphonucléocyte et une fibrose hépatique, une hyperglycémie avec une diminution du rapport insuline/glucagon, une peroxydation des lipides hépatiques (IPCS, 1991; Sole et al., 1990).

3.2 Toxicité à court terme avec doses répétées

3.2.1 Par ingestion orale

Les résultats ne sont pas consistants et significativement claires. Il existe encore des controverses. Certains disent que la NOEL = 5 mg/kg/j et la LOEL = 25 mg/kg/j pour l'acétate de nickel ingéré via la diète (Whanger, 1973), d'autres prétendent que la LOEL = 0,15 mg/kg/j pour une administration orale par l'eau de chlorure de nickel (Wischer et al., 1980). Les signes observés sont une diminution de la phosphatase alcaline dans le plasma, du cytochrome oxydase dans le coeur, de l'urée dans le plasma, du poids et une augmentation de l'urée dans l'urine, du glucose dans le plasma, de l'altération des tissus.

3.2.2 Par inhalation

Des effets toxiques du nickel dans les poumons ont bien été examinés par histopathologie des tissus des rats et des souris exposés pendant 12 jours à l'oxyde de nickel, à l'hexahydrate de sulfate de nickel ou au sous-sulfure de nickel (Benson et al., 1987 et 1988; Dunnick et al., 1988). Parmi ces composés, le sulfate de nickel fut le plus toxique (40 souris sont mortes après une exposition à 1,6 mg/m³ de NiSO₄). Chez les souris exposées à des concentrations de nickel comprises entre 0,8 et 13,4 mg/m³, on a observé des signes d'amaigrissement, de déshydratation, de léthargie, d'inflammation pulmonaire, de l'atrophie des épithéliums respiratoires et olfactifs et une dépression du lymphoïde dans le thymus, la rate et dans les nodules des lymphes. La LOEL pour le NiSO₄ a été établie à 0,8 mg/m³ chez le rat et la souris. Les mêmes effets ont été observés chez les rats et les souris exposés à des doses variant de 0,4 à 7,3 mg/m³ du sous-sulfure de nickel (Benson et al., 1987; Dunnick et al., 1988).

3.2.3 Exposition dermique

Deux études ont été identifiées pour évaluer la toxicité dermique du nickel, la première étude a démontré des effets systémiques sur le foie et les testicules des rats, des dommages locaux par une augmentation de la kératinisation, la dégénération de la couche basale et l'atrophie de l'épiderme après une application dermique de 60 ou 100 mg/kg/j de

NiSO₄.6H₂O pendant 30 jours (Mathur *et al.*, 1977a et 1977b). La deuxième étude a démontré des changements biochimiques (augmentation des activités enzymatiques et des niveaux des groupes sulfhydryl et aminoazotés) dans la peau des pigeons de Guinée, après une application dermique de 50 mg/kg/j de NiSO₄ pendant 7 ou 10 jours (Mathur *et al.*, 1988).

3.3 Toxicité sub-chronique

3.3.1 Voie orale

Une administration par gavage de 100 mg/kg/j de chlorure de nickel hexahydrate dans l'eau distillée chez les rats Sprague Dawley pendant 90 jours a montré une réduction de la croissance et de la température corporelle, des signes de léthargie, d'ataxie et des difficultés respiratoires, la mort. La LOEL et la NOAEL ont été respectivement établies à 1,2 mg/kg/j et à 0,023 mg/kg/j (BIBRA, 1992).

3.3.2 Inhalation

Une exposition au Ni₃S₂ (1,8 mg Ni/m³), au NiO (7,9 mg Ni/m³) et au NiSO₄ (0,4 mg Ni/m³) pendant 90 jours a montré des lésions pulmonaires et nasales, une inflammation chronique des poumons, une hyperplasie des macrophages alvéolaires, et des changements des paramètres biochimiques dans les poumons. Parmi ces trois composés, le sulfate de nickel fut le plus toxique tandis que l'oxyde de nickel fut révélé le moins toxique. Les LOEL sont de 0,4 mg Ni/m³ pour le NiO, de 0,1 mg Ni/m³ pour le Ni₃S₂ et de 0,02 mg Ni/m³ pour le NiSO₄ (Dunnick *et al.*, 1989).

3.4 Toxicité chronique / cancérogénicité

Les études ne démontrent aucune carcinogénicité chez les rats et les souris exposés oralement au composés solubles de nickel, mais une exposition par inhalation au sous-sulfure de nickel, au carbonate de nickel et aux poussières de nickel induit un cancer de poumon, de même qu'une instillation intratrachéale au poudre de nickel et à l'oxyde de

nickel entraîne une croissance évidente de tumeurs pulmonaires. Les résultats des études faites chez les rats et les souris qui ont ingérés le sulfate de nickel ou les composés solubles de nickel dans la nourriture ou dans l'eau n'ont montré aucune activité carcinogénique (Ambroise et al., 1976).

Chez l'Homme, on a mis en évidence un certains risque de cancer chez des ouvriers exposés à des concentrations en sels solubles de l'ordre de 1 à 2 mg/m³, qu'il s'agisse d'ouvriers d'ateliers d'électrolyse ou travaillant à la préparation de sels solubles. Par contre, on n'a pas constaté d'accroissement du risque de cancer chez les ouvriers exposés uniquement à du nickel métallique. Pour un niveau d'exposition donné, le risque de cancer est plus important dans le cas des composés solubles que dans le cas du nickel métallique ou des autres dérivés du nickel, car en moyenne, l'exposition aux dérivés solubles est beaucoup plus faible dans les ateliers de galvanoplastie que dans les ateliers d'affinage électrolytique ou de traitement des sels de nickel. Mais bien que quelques-uns, voire tous les dérivés de nickel puissent être cancérrogènes, il n'existe que peu ou pas de risque décelable dans la plupart des secteurs de l'industrie du nickel aux niveaux d'exposition actuels. Toutefois ces études sont considérées comme étant inadéquates pour l'évaluation de la carcinogénicité, car dans tous les cas où l'on a observé un risque élevé de cancer, il y avait présence d'une ou plusieurs autres formes de nickel (IPCS, 1991).

3.5 Toxicité du sulfate de nickel

Lorsque nous faisons l'état des connaissances actuelles sur la toxicité du sulfate de nickel, qui constitue l'objet de notre étude, les informations disponibles démontrent qu'il est l'un des composés ayant une grande solubilité et qui est souvent rencontré dans les milieux professionnels. Les quelques études qui ont été faites sur la carcinogénicité du sulfate de nickel ne montrent aucune tumeur (Kasprzak et al., 1983; Pott et al., 1987; Gilman, 1962), bien que Payne (1964) eut observé un seul sarcome dans un groupe de rats 35NIH Black exposés au NiSO₄ par i.m. pendant 1,5 ans. Mathur et Tandon (1981) ont trouvé une augmentation significative de l'acide α -aminé dans le plasma et dans l'urine chez les rats

exposés au $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ par i.p. Zeromski et al. (1995) ont montré une diminution de l'abondance des cellules NK, de la quantité des CD4^+ et une suppression de la fonction cytotoxique naturelle des cellules mononucléaires du sang périphérique humain exposées *in vitro* au NiSO_4 (0,01; 0,02 et 0,04 mM/24 h). Le sulfate de nickel induit une cytotoxicité dans les macrophages alvéolaires et dans les cellules épithéliales, une augmentation chronique de la réponse inflammatoire, des fibroses, de la protéinose alvéolaire, de l'emphysème et du cancer chez les rats et souris exposés à 0-60 mg/m^3 de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ pendant 1 ou 7 jours par inhalation (Bingham et al., 1972; Mastromatteo 1967; Benson et al., 1987 et 1988; Dunnick et al., 1988), et à 0- 0,4 mg/m^3 (6h/j, 5j/semaine) (Benson et al., 1986; Dunnick et al., 1987). Une hypothermie et une bradycardie ont été observées chez les patients épileptiques et chez ceux souffrant de maladies neurologiques et qui ont subi une thérapeutique avec 325 mg de $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et chez les travailleurs qui ont accidentellement ingéré une solution contenant du NiSO_4 et du NiCl_2 (Sunderman et al., 1988). Un effet mutagène a été observé dans les cellules G12 de l'hamster Syrien exposé au NiSO_4 (Christie, 1989). Une modification de la perméabilité de la peau par le sulfate de nickel a été observée par Fullerton et ses collaborateurs (1986 et 1988). L'administration orale du sulfate de nickel dans l'eau réduit l'adsorption gastro-intestinale et augmente l'excrétion rénale contrairement à une ingestion via la nourriture (Sunderman et al., 1989; Santucci, 1994). Severa et al. (1995) ont montré une accumulation de nickel dans le foie > rein = sang total = sérum > testicule > urine chez les rats mâles Wistar exposés oralement par l'eau au NiSO_4 pendant six mois.

4. Conclusion et rationnel

Nous venons donc de voir dans les notions générales relatives au nickel, qu'un certain nombre d'études dans la littérature attestent la toxicité de plusieurs composés de nickel chez l'humain et l'animal exposés à des conditions excédant les seuils de référence. Très peu d'études sur le sulfate de nickel sont cependant disponibles. Le sous-sulfure de nickel, l'oxyde de nickel, le chlorure de nickel et le sulfate de nickel sont les quatre composés ayant

une solubilité largement différente qui sont rencontrés dans les milieux professionnels, dans les industries de raffinage de nickel où l'inhalation est la principale voie d'absorption.

Les études épidémiologiques et expérimentales ont montré que des expositions répétées par les voies respiratoires et orales aux composés de nickel entraînent des effets oncogéniques et non-oncogéniques des systèmes hépatiques, rénaux, pulmonaires, immunitaires, hématopoïétiques, reproducteurs et dermiques. Cependant, ces effets toxiques apparaissent être dépendants du type et de la solubilité du composé, de la voie, de la durée et de la dose d'exposition, et de l'espèce animale ainsi que de son état nutritionnel. La toxicité du nickel sera donc dépendante de sa spéciation, ainsi, cette toxicité sera différente d'un composé à un autre. Cependant, les connaissances actuelles sont encore très incomplètes en ce qui concerne les études systémiques de la toxicité dans les différents organes et la relation avec la bioaccumulation de chaque composé de nickel.

Toutes ces études sont encore centrées sur certains organes, et aucune d'entre elles n'a été faite sur la toxicité du sulfate de nickel par ingestion orale et sous les différentes conditions d'exposition subchronique chez les rats.

À la lumière des informations trouvées dans la littérature, nous avons choisi le sulfate de nickel comme un composé modèle et l'administration par la voie orale via l'eau a été choisie, parce que cette voie constitue une des principales voies par laquelle les populations non professionnelles sont souvent exposées. D'autre part, le sulfate de nickel est très hydrosoluble et se retrouve par conséquent dans l'eau de consommation et dans la nourriture.

5. Objectifs

Nous avons donc entrepris ce projet dans le but d'étudier les différentes toxicités et les bioaccumulations du sulfate de nickel (NiSO_4) dans les différents organes sous différentes

conditions d'exposition sub-chronique, de chercher une corrélation entre ces toxicités et la bioaccumulation du nickel dans les organes cibles, de comparer les résultats obtenus et par la suite prédire l'organe le plus susceptible. Cette étude devrait améliorer notre connaissance sur le risque toxique associé au sulfate de nickel qui est susceptible d'être rencontré en milieux professionnels et non-professionnels et dans le milieu ambiant.

Chapitre 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Animaux

Les rats mâles adultes (Sprague-Dawley) de poids corporels 180-200g, ont été obtenus de la compagnie Charles Rivers Canada, St Constant, Québec. Ils ont été maintenus dans une chambre avec 12h de lumière/cycle circadien (12 heures de lumière/12 heures d'obscurité), à une température ambiante de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité relative de $55 \pm 5\%$. Ils avaient un libre accès à la nourriture additionnée de libitum provenant de « Purina laboratory Chow », et à la solution de nickel. Les animaux étaient livrés au moins dix jours avant le début de traitement afin d'éviter le stress additionnel provoqué par le transport, et afin de s'accommoder à l'alimentation de l'animalerie. Le poids corporel de ces animaux a été prélevé avant le début du traitement et après le traitement pour toutes les études.

2. Produits chimiques et réactifs

Le $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Pureté de 99,5%) provenait de l'Aldrich Chemical Compagny

Les réactifs utilisés pour le dosage des paramètres biochimiques provenaient de la compagnie Sigma St. Louis, MO, États Unis.

- Acide nitrique, Société d'Analyses BIOPHARMaceutiques Inc., Reagent Grade, A.C.S.
- Chlorure de Sodium, Fisher Scientific Compagny, A.C.S.
- Hydroxyde de Sodium, A& C american Chemicals, A.C.S.
- Séphadex G-25 fine, Pharmacia Fine Chemivals
- Triton X-100, J.T. Baker Chemical Co.

3. Protocoles expérimentaux

3.1 Traitement des animaux

3.1.1 Études préliminaires de type sub-chronique (deux semaines)

Les rats ($n = 20$) ont été regroupés au hasard en quatre groupes et mis dans des cages. Trois groupes sur quatre ont été exposés à des doses suivantes auxquelles on a ajouté 2 % de sucre: (0,1; 0,5 et 1 % de NiSO_4) pendant deux semaines. Le groupe contrôle a

seulement reçu de l'eau sucrée (H_2O milliQ + 2 % de sucre). Le poids des rats a été pris chaque fin de semaine. Le volume d'eau et la nourriture étaient contrôlés tous les jours. Après le traitement, les rats ont été mis individuellement dans les cages métaboliques (24h avant le sacrifice) afin de recueillir les urines. Le sacrifice des rats a été ensuite effectué après une injection i.p. de ``Somnotol`` (0,1 mL/100 g de poids corporel). Le sang a été prélevé et hépariné pour l'analyse de l'hématocrite et centrifugé à 300 g pendant 10 minutes à 4°C. Les urines de 24h ont été récoltées et centrifugées dans les mêmes conditions pour le dosage de γ -GT, du NAG, du glucose et des protéines totales. Les organes ont été ensuite prélevés, pesés, homogénéisés à l'aide de l'appareil Tissumizer et centrifugés à 300 g pendant 10 min à 4°C. Tous les surnageants ont été conservés à 5°C jusqu'à l'analyse des paramètres de toxicité. Les restes des organes tels que le foie, le rein, le coeur, le cerveau, le poumon, les testicules, la rate ont été conservés à -4°C pour le dosage du nickel.

3.1.2 Études sub-chroniques

Trente deux (32) rats de poids corporel variant entre 180 et 200 g ont été randomisés en 4 groupes et exposés oralement via l'eau à la solution de nickel additionnée de 2 % de sucre (0,02; 0,05 et 0,1 % de $NiSO_4$) pendant quatre, huit et treize semaines. Le reste de la manipulation a été effectué comme mentionné au point 3.1.1.

3.2 Évaluations des toxicités du sulfate de nickel

3.2.1 Évaluation de la toxicité pulmonaire

Les rats ont été traités et sacrifiés comme préalablement mentionné suivi d'un lavage bronchoalvéolaire des poumons.

a- Lavage bronchoalvéolaire

- Principe

L'analyse du liquide de lavage bronchoalvéolaire est une méthode effective pour la détection de la réponse inflammatoire dans les poumons des animaux lors des études toxicologiques. L'utilisation de l'analyse du LLBA pour détecter les dommages pulmonaires est basée sur les cellules épithéliales du tractus respiratoire et le site de contact initial des matériels inhalés avec le corps. Si le matériel inhalé détruit le tractus respiratoire, les indicateurs de la toxicité doivent être présents dans les fluides du tractus. Ces liquides peuvent être échantillonnés en lavant la surface ou la superficie intéressée avec la solution saline isotonique.

- Technique de lavage bronchoalvéolaire

La technique de lavage de la région bronchoalvéolaire du tractus respiratoire avec de la solution saline est une technique relativement simple basée sur la méthode de Henderson et al. (1978 et 1985). Cette méthode consiste à rincer les poumons quatre fois avec 7 ml de salin 0,15 M ($\pm 37^{\circ}\text{C}$). Les liquides de lavage ont été recueillis dans les tubes de verre, conservés sur la glace et ensuite centrifugés à 300 g/10 min à 4°C . Les surnageants ont été conservés à 5°C jusqu'au moment de l'analyse des paramètres biochimiques, indicateurs de la cytotoxicité pulmonaire. Deux lavages, chacun avec un volume correspondant à 80% de la capacité totale du poumon, sont suffisants pour échantillonner la surface lavée. Les lavages subséquents, si combinés avec le premier ont servi à diluer les paramètres qui nous intéressent.

- Paramètres mesurés dans le liquide de lavage comme indicateurs des dommages pulmonaires.

Après la centrifugation, le surnageant a été analysé pour les indicateurs biochimiques du dommage et les indicateurs de la cytotoxicité incluant les enzymes cytoplasmiques libérés des cellules endommagées vers les liquides extracellulaires. L'enzyme cytoplasmique qui se trouve être l'un des indicateurs les plus sensibles du dommage est la LDH (Henderson et al., 1978, 1979a et 1979b, 1981). La croissance de l'activité phagocytaire ou de la toxicité et la

lyse des cellules phagocytaires a été détectée par l'analyse des enzymes lysomales ou peroxisomale telles que phosphatase acide (ACP). Les protéines solubles du LLBA ont été utilisées comme une indication de la croissance de la perméabilité des alvéoles, véritable barrière capillaire. La croissance des protéines du LLBA indique un processus inflammatoire dans la région bronchoalvéolaire. Certains enzymes ont été considérés comme marqueurs du dommage des types spécifiques de cellules, c'est le cas de l'alcaline phosphatase (ALP) qui a été considérée comme un marqueur possible de la prolifération des cellules de type II, suivi de ACP pour le dommage des cellules de type I (HOOK, 1978).

b- Principes et méthodes des paramètres mesurés dans le LLBA et dans l'homogénat des poumons

1. Protéines

Les protéines du liquide de lavage bronchoalvéolaire et du tissu des poumons sont mesurées en utilisant la technique de Sigma numéro 610, basée sur la méthode colorimétrie de Bradford (1976).

1.1 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7, couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman a été utilisé.

1.2 Méthode

La solution stock de protéine a été préalablement préparée en mélangeant un volume du réactif de protéine catalogue No. 610-2 avec quatre volumes d'eau milli-Q dans un contenant en plastique. Un volume de 2,5 ml de la solution de protéine a été mis dans les tubes libellés *blanc*, *standard* et *test*. Par la suite, des volumes de 0,05 ml de chlorure de sodium, catalogue No. 430 AG-4, 0,05 ml de la solution standard catalogue No. 410-30 et 0,05 ml de l'échantillon ont été additionnés respectivement dans les tubes *blanc*, *standard* et

test. Tous les tubes ont été mélangés, laissés reposer pendant deux minutes puis transférés dans les cuvettes. Les absorbances *A test* et *A standard* ont été ensuite lues au spectrophotomètre à 595 nm en utilisant le *blanc* comme référence. La courbe standard (plot *A* versus concentrations des standards (15, 30 et 50 mg/dl) a été obtenue en utilisant la solution de protéine standard catalogue No. 610-11. La linéarité de la courbe standard (absorbance vs concentration en protéine) a été calculée et la concentration en protéine de chaque échantillon a été déterminée à partir de la pente de cette courbe: protéine (mg/dl) = $(A \text{ test} / A \text{ standard}) \times \text{concentration de standard}$.

2. Phosphatase acide (ACP)

La détermination de l'activité de la phosphatase acide dans le liquide de lavage et dans les tissus de poumons a été effectuée selon la méthode de Sigma Diagnostics No 104.

2.1 Principe

Les procédures de détermination de la phosphatase acide dépendent de l'hydrolyse de p-nitrophényl-phosphate en phosphate inorganique et en p-nitrophénol.

2.2 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7, couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman a été utilisé.

2.3 Méthode

Réactifs : - Substrat phosphatase Sigma 104

- solution de tampon citrate
- solution standard de p-nitrophénol
- solution tampon tartrate

Précautions prises

Les échantillons, une fois collectés ont été réfrigérés immédiatement. Nous avons ensuite fait une centrifugation poussée pendant une heure environ. Le reste des échantillons a été conservé dans le réfrigérateur à une température variant entre 2 et 8°C.

Préparation des échantillons

Deux tubes de la solution stock du substrat contenant chacun 0,5 ml d'aliquot provenant du congélateur ont été placés à 37°C dans le bain marie. Par la suite un volume de 0,5 ml de tampon citrate catalogue No 104-4 a été ajouté dans chaque tube, le tout fut mélangé et mis dans le bain marie. Un volume de 0,2 ml d'eau a été pipeté et introduit dans le tube étiqueté *réactif blanc* et 0,2 ml de l'échantillon ont été introduits dans le tube étiqueté *test*. Après avoir ajusté le temps exact, les tubes ont été mélangés doucement et remis dans le bain marie pendant 30 minutes. Le blanc de l'échantillon a été préparé en mélangeant 6,0 ml de 0,1N NaOH avec 0,2 ml de l'échantillon. L'absorbance du blanc de l'échantillon a été lue au spectrophotomètre en utilisant l'eau comme référence à 410 nm. Les unités de la phosphatase acide correspondant à cette lecture ont été obtenues à partir de la courbe de calibration ou la courbe standard (soit A l'activité de ACP correspondante). Un volume de 5 ml de 0,1N NaOH a été ajouté dans le tube servant de blanc du réactif et dans les tubes test 30 minutes exactement après l'addition de l'échantillon au substrat et le tout a été mélangé par inversion.

L'absorbance du test (échantillon) a été lue à 410 nm en utilisant le blanc réactif comme référence. Les unités de la phosphatase acide correspondant à cette lecture ont été déterminées à partir de la courbe de calibration (soit B l'activité de ACP correspondante). Pour obtenir l'activité totale de la phosphatase acide, on a soustrait l'activité de la phosphatase acide du blanc de l'échantillon à celle de la phosphatase acide de l'échantillon (L'activité totale de ACP = B - A).

Courbe de calibration

La courbe de calibration de la phosphatase acide a été obtenue en diluant la solution p-nitrophénol avec 0,02N NaOH.

Tubes	Solution diluée de p-nitrophénol (ml)	0,02N NaOH (ml)	Activité de ACP (unités Sigma/ml)
1	1	10	0,28
2	2	9	0,56
3	4	7	1,12
4	6	5	1,68
5	8	3	2,24
6	10	1	2,80

Lire l'absorbance de chaque tube à 410 nm en utilisant 0,02N NaOH comme référence et construire la courbe de calibration de l'absorbance en fonction des unités sigma.

3. Phosphatase alcaline (ALP)

La détermination de l'activité de la phosphatase alcaline dans le liquide de lavage et dans les tissus de poumons a été effectuée selon la méthode de Sigma Diagnostics No 104 qui est semblable à celle décrite par Bowers et McCom (1966).

3.1 Principe

Les procédures de détermination de la phosphatase alcaline dépendent de l'hydrolyse de p-nitrophényl-phosphate en phosphate inorganique et en p-nitrophénol. L'hydrolyse se fait à pH alcalin et la formation du p-nitrophénol présente un maximum d'absorbance à 405 nm.

La phosphatase alcaline catalyse la réaction suivante:



3.2 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7, couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman a été utilisé.

3.3 Méthode

Le réactif ALP a été reconstitué avec le volume d'eau déionisée indiqué sur l'étiquette du Flacon. On a porté à 30°C la cuvette contenant 1 ml du réactif, on y a ajouté 0,02 ml d'échantillon et on a mélangé le tout par inversions. La cuvette a été ensuite incubée dans le réceptacle à cuvettes pendant 30 secondes. On a lu l'absorbance contre l'eau à 405 nm ceci correspondait à A initiale, on a poursuivi l'incubation à 30°C et on a noté l'absorbance à 1 min et à 2 min après la lecture de la première absorbance. L'absorbance à 2 min correspondait à A finale. La variation de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$) a été obtenue en soustrayant A initiale de A finale et en divisant par 2.

L'activité de ALP a été obtenue comme suit:

$$\text{ALP (U/L)} = \frac{\Delta A/\text{min} \times V_t \times 1000}{18,45 \times V_e \times l}$$

$\Delta A/\text{min}$ = variation d'absorbance par minute à 405 nm

V_t = Volume totale du mélange réactionnel (1,02 ml)

V_e = Volume de l'échantillon (0,02 ml)

18,45 = Absorption de 1 mM du p-nitrophénol à 405 nm

l = Trajet optique (1 cm)

1000 = Facteur de conversion des U/ml en U/L

NB: Une unité d'activité ALP a été définie comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse la formation d'une micromole de p-nitrophénol par minute dans les conditions du dosage.

4. Lactate Déshydrogénase (LDH)

La détermination de l'activité de la lactate déshydrogénase dans le liquide de lavage et dans les tissus de poumons a été effectuée selon la méthode de Sigma .

4.1 Principe

La lactate déshydrogénase catalyse l'interconversion du lactate et du pyruvate. La détermination de l'activité de LDH est basée sur l'oxydation du lactate en pyruvate ou sur la réduction du pyruvate en lactate, cette méthode est basée sur celle de Amador et al. (1963).



La LDH catalyse l'oxydation du lactate en pyruvate avec réduction simultanée de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en NADH dont la formation se traduit par une élévation de l'absorbance à 340 nm.

4.2 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7, couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman a été utilisé.

4.3 Méthode

Le protocole consiste à préparer dans un premier temps le réactif Lactate Déshydrogénase (LD-L) selon les instructions décrites sur les bouteilles. Ainsi, un millilitre du réactif a été mélangé par inversion avec 0,05 ml de l'échantillon. On a effectué la lecture de l'absorbance à 340 nm à 30°C pendant 30 secondes ce qui correspondait à A initial. On a continué la lecture à toutes les 30 secondes et l'absorbance mesurée après 60 secondes correspondait à A finale. On a soustrait alors A initiale de A finale pour obtenir la variation d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).

L'activité de la lactate déshydrogénase a été déterminée comme suit:

$$\text{Activité de LDH (U/L)} = \frac{\Delta A/\text{min} \times V_t \times 1000}{6,22 \times V_e \times 1}$$

$\Delta A/\text{min}$ = variation d'absorbance par minute à 340 nm

V_t = Volume totale du mélange réactionnel (1,05 ml)

V_e = Volume de l'échantillon (0,05 ml)

6,22 = Absorption de 1 mM de NADH à 340 nm

l = Trajet optique (1 cm)

1000 = Facteur de conversion des U/ml en U/L

NB: Une unité d'activité LDH a été définie comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse la formation d'une micromole de NADH par minute dans les conditions du dosage.

3.2.2 Évaluation de la néphrotoxicité

A- Paramètres d'atteintes urinaires

1. N- acétyl- β - D glucosaminidase (NAG)

L'activité urinaire de N- acétyl- β - D glucosaminidase (NAG) a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique (Maruhn, 1976) après avoir filtré l'urine sur la colonne de Sephadex G-50 (Werner *et al.*, 1969).

1.1 Instruments

Un bain-marie rotatif, de marque Lab-Line Instruments Inc., modèle 3540 et un spectrophotomètre, LKB-Biochrom Ultraspec, modèle 4050 ont été utilisés.

1.2 Méthode

La colonne de Séphadex G-25 a été préalablement lavée avec 10 ml de NaCl 0,9 %, ensuite un volume de 1 ml d'urine centrifugée a été filtré sur une colonne de Séphadex G-25, après y avoir ajouté 2 ml de NaCl 154 mM. Après chaque filtration, la colonne a été rincée avec 25 ml d'une solution contenant de NaCl 154 mM et du NaN_3 3,1 mM, une substance bactéricide et avec 10 ml de NaCl 154 mM. Le filtrat a été ensuite récolté et gardé au réfrigérateur. Pour analyser l'activité enzymatique, un tampon citrate de 200 ml (56 ml

d'acide citrique 1 mM + 44 ml de Na-citrate 1 mM + 100 ml de H₂O) de pH 4,4 et un tampon-AMP (2-amino-2-méthyl-1-propanol) de 750 mM et de pH 10,25 ont été préalablement préparés. Le substrat a été préparé le jour même de l'analyse en dissolvant le p-Nitrophényl-N-acétyl-β-D-glucosaminide dans le tampon citrate. Les échantillons et le substrat ont été ensuite pré-chauffés dans le bain-marie à 37°C pendant 2 à 3 minutes. La réaction enzymatique s'est déclenchée lors du mélange de 0,5 ml d'urine filtrée avec 0,5 ml du substrat. Cette réaction s'est déroulée à 37°C pendant 15 min et a pris fin lorsqu'on y a ajouté 0,5 ml de tampon-AMP. Avant de lire l'absorbance au spectrophotomètre à 405 nm, les blancs ont été d'abord préparés: le blanc du réactif contenant 0,5 ml de NaCl 0,9 %, 0,5 ml de substrat et 0,5 ml de tampon-AMP et le blanc des échantillons contenant 0,5 ml d'urine filtrée, 0,5 ml de NaCl 0,9% et 0,5 ml de tampon-AMP. Tous les échantillons y compris les blancs ont subi une période d'incubation de 15 minutes. La réaction enzymatique se traduit par l'apparition d'une coloration jaune en milieu alcalin. L'activité enzymatique a été calculée selon la loi de Beer-Lambert dont la formule est la suivante:

$$U.I./L = \frac{[Ae - (Aub + Arb)] \times V \times 1000 \times df}{E \times d \times v \times t}$$

Ae = Absorbance de l'échantillon

Aub = Absorbance du blanc de l'urine

Arb = Absorbance du blanc du réactif

V = volume final de l'échantillon = 1,5 ml

t = temps de la réaction = 15 minutes

E = coefficient d'extinction = 18,5 cm²/μmole

d = épaisseur de la cuvette = 1 cm

df = facteur de dilution

v = volume de l'échantillon de l'urine = 0,5 ml

Les résultats sont exprimés en U.I/kg de poids corporel.

2. γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT)

L'activité de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) dans l'urine a été mesurée selon une méthode colorimétrie (Dierick, 1981).

2.1 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7, couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman a été utilisé.

2.2 Principe

Cette méthode est basée sur la libération de la p-nitroaniline due à la réaction de la γ -glutamyl-p-nitroanilide avec la glycyglycine en présence de la γ -GT.

2.3 Méthode

Un substrat a été préalablement préparé en dissolvant de la glycyglycine, de la γ -L-glutamyl-p-nitroanilide, du NaCl et du Triton-X-100 dans un tampon Tris de 185 mM de 2-amino-2-(hydroxyméthyl)-1,3-propanediol jusqu'à l'obtention d'un pH de 8,25. La concentration finale a été de 80 mM de glycyglycine, 3 mM de γ -L-glutamyl-p-nitroanilide, 154 mM de NaCl et de 1% de Triton X-100. Les urines ont été diluées vingt fois avec de l'eau milli-Q. Le substrat a été préchauffé à 30°C. Dans une cuvette maintenue à 30°C, 3 ml de substrat et 200 μ l d'urine diluée ont été mélangés pour faire démarrer la réaction enzymatique. Une augmentation de la densité optique à une longueur d'onde de 405 nm a été enregistrée par le spectrophotomètre pendant 3 à 5 min, avec une sensibilité de l'appareil fixée à 0,2 A.

L'activité enzymatique a été obtenue en calculant:

$$U.I./L = \frac{\Delta A/\Delta t \times V \times 1000 \times df}{E \times d \times v}$$

$\Delta A/\Delta t$ = Changement de l'absorbance par minute

V = volume total de l'échantillon = 3,2 ml

df = facteur de dilution = 20

E = coefficient d'extinction = $9,9 \text{ cm}^2/\mu\text{mole}$

d = épaisseur de la cuvette = 1 cm

v = volume de l'échantillon utilisé pour l'essai (0,2 mL)

Les résultats sont exprimés en U.I./kg de poids corporel.

3. Protéines urinaires

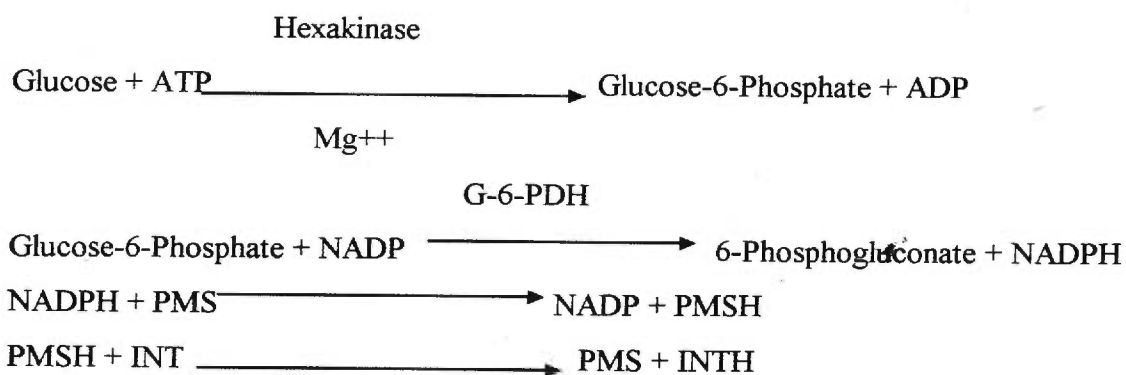
Les protéines urinaires sont mesurées en utilisant la technique de Sigma numéro 610, basée sur la méthode colorimétrie de Bradford (1976). La méthode et les instruments utilisés sont les mêmes que ceux décrits dans l'évaluation de la toxicité pulmonaire (pages 21).

4. Glucose urinaire

Les concentrations de glucose dans l'urine ont été analysées en utilisant la technique Sigma n°.115, basée sur la méthode de Carroll et al. (1970).

4.1 Principe

L'analyse est basée sur la conversion du glucose en glucose 6-phosphate, couplé avec le réducteur subséquent de la NADP en NADPH en présence du PMS. INTH produit par la réduction du INT par NADPH et mesuré colorimétriquement à 520 nm selon la réaction suivante:



La quantité de INTH formée est directement proportionnelle à la concentration du glucose.

4.2 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7 couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman a été utilisé.

4.3 Méthode

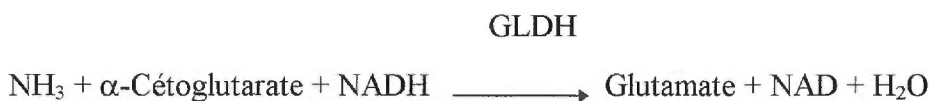
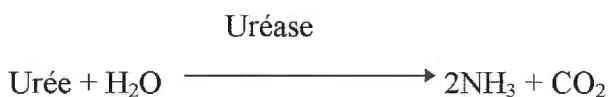
Le réactif enzymatique a été constitué après avoir ajouté 17 ml d'eau distillée et 4 ml de réactif coloré. Un volume de 500 µl a été prélevé de ce réactif et mis dans les éprouvettes. Dix µl de chaque échantillon y ont été ajoutés pour l'analyse. Les éprouvettes ont été laissées au repos pendant 5 à 10 minutes une fois agitées délicatement. La réaction enzymatique a été ensuite arrêtée en ajoutant 5 ml de HCl (0,1N). Le contenu de chaque éprouvette a été transféré dans une cuvette où l'absorbance a été mesurée à 500 nm au spectrophotomètre. Les résultats ont été obtenus à partir d'une courbe standard préparée à partir d'une solution standard de glucose (1 mg/ml).

B- Paramètres d'atteintes sériques

1. L'azote uréique sérique (BUN)

La concentration d'azote uréique contenue dans le sérum a été déterminée selon la procédure urée (Point Final) Sigma Diagnostics. L'urémie a été mesurée suite à des réactions enzymatiques couplées mettant en jeu l'uréase et la glutamate déshydrogénase.

1.1 Principe



L'urée est hydrolysée en ammoniac et en dioxyde de carbone lors de la réaction catalysée par l'uréase. L'α-cétoglutarate est aminé en glutamate par l'ammoniac avec oxydation du NADH en NAD lors de la réaction catalysée par la glutamate déshydrogénase (GLDH). Une diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH en NAD est directement proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon.

1.2 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7 couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman et une centrifugeuse, International Equipment Co., modèle HN-S ont été utilisés.

1.3 Méthode

Le réactif Urée (Point Final) a été reconstitué avec le volume d'eau déionisée indiqué sur l'étiquette du flacon. Après la reconstitution du réactif, le flacon a été bouché et mélangé immédiatement par inversion sans le secouer. Un volume de 1 ml du réactif a été pipeté dans chaque tube et incubé à la température du dosage (37°C), un volume de 0,005 ml de l'échantillon y a été ajouté et le tout a été mélangé rapidement par inversion et incubé de nouveau pendant 5 minutes dans un bain-marie. Immédiatement après cette période, les échantillons et le blanc réactif ont été lus au spectrophotomètre à 340 nm. La variation de l'absorbance ($\Delta A/\text{min}$) due à la présence de l'urée a été obtenue en soustrayant l'absorbance de l'échantillon à celle du blanc réactif. L'urémie (g/L) de l'échantillon a été déterminé de la façon suivante:

$$\text{Urémie (g/L)} = \frac{(\Delta A/\text{min}) \times V_t \times 1000 \times MA}{6,22 \times V_e \times l \times 10^6}$$

$\Delta A/\text{min}$ = variation de l'absorbance par minute à 340 nm

V_t = volume total (1,005 ml)

l = trajet optique (1 cm)

v = volume de l'échantillon (0,005 ml)

6,22 = coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 340 nm

1000 = facteur de conversion des millilitres en litre

MA = masse atomique de l'azote (14,01)

10^6 = conversion des microgrammes en grammes

2. Protéines et glucose plasmatiques

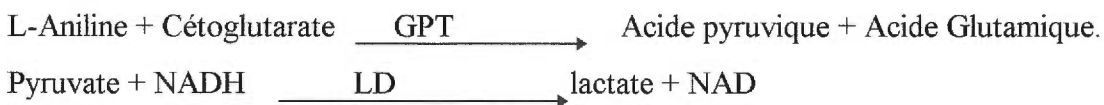
Les protéines et le glucose sériques ont été évalués selon les méthodes décrites ci-haut aux pages 21 et 30.

3.2.3 Évaluation de l'hépatotoxicité

3.2.3.1 Transaminase glutamique pyruvique (GPT)

L'activité de la transaminase glutamique pyruvique ou de l'alanine aminotransférase a été dosée selon la méthode sigma No 59-UV basée sur la méthode de Wroblewski et Ladue (1956). La GPT est largement présente en grandes concentrations dans le foie, les reins et le coeur. Les taux de la GPT sont légèrement supérieurs à la normale en présence des hépatites et d'autres troubles hépatiques. Ces taux augmentent systématiquement lorsque les cellules hépatiques sont endommagées.

3.2.3.1.1 Principe



La GPT catalyse le transfert du groupement aminé de l'alanine sur Cétoglutarate pour former le glutamate et du pyruvate qui est ensuite réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LD) avec oxydation couplée de la nicotinamide dinucléotide (NADH). La variation de l'absorbance à 340 nm est directement proportionnelle à l'activité de la GPT

3.2.3.1.2 Instrument

Un spectrophotomètre Beckman modèle DU-7 couplé à un système de chauffage maintenant les cuvettes à une température constante de 30°C et à une imprimante de marque Beckman et une centrifugeuse, International Equipment Co., modèle HN-S ont été utilisés.

3.2.3.1.3 Méthode

Le réactif GPT a été reconstitué avec le volume d'eau déionisée indiqué sur l'étiquette du flacon. Une fois reconstitué, dans les cuvettes d'essai, on a mélangé 1 ml du réactif avec 0,1 ml de l'échantillon que l'on a mélangé immédiatement par inversion. On a incubé le tout à 30°C pendant 90 secondes. Après l'incubation, on a lu l'absorbance au spectrophotomètre pendant 2 à 3 min, la lecture se faisant par intervalle de 30 secondes. La variation de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$) a été déterminée en soustrayant A final de A initial.

L'activité de la GPT a été calculée comme suit:

$$\text{ALT (U/L)} = \frac{(\Delta A/\text{min}) \times V_t \times 1000}{6,22 \times e \times v}$$

$\Delta A/\text{min}$ = variation de l'absorbance par minute à 340 nm

V_t = volume total (1,1 ml)

e = trajet optique (1 cm)

v = volume de l'échantillon (0,1 ml)

6,22 = coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 340 nm

1000 = facteur de conversion des millilitres en litre

3.2.4 Évaluation de l'immunotoxicité

Les effets immunotoxiques du sulfate de nickel ont été évalués en étudiant le pourcentage et le nombre absolu des sous populations lymphocytaires ($CD4^+$, $CD8^+$, B) et le rapport $CD4/CD8$ dans la rate et le thymus selon le protocole utilisé dans le laboratoire du Dr. Lucie Lamontagne (UQAM). La technique consistait à prélever la rate et le thymus, à déterminer

la cellularité par Coulter Counter et à analyser les lymphocytes par cytofluométrie de flux (FACSCAN, B-D).

3.2.5 Évaluation de la toxicité sur les testicules

La toxicité du sulfate de nickel sur le système reproducteur a été évaluée en pesant le poids des testicules et en mesurant les activités de la phosphatase acide (ACP), de la phosphatase alcaline (ALP), de la lactate déshydrogénase (LDH) et la quantité de protéines totales dans l'homogénat des testicules selon les principes et les méthodes décrits ci-haut (pages 21, 22, 24 et 26).

3.2.6 Évaluation du pourcentage d'hématocrite

Le pourcentage d'hématocrite a été évalué à l'aide d'une centrifugeuse et des tubes micro-hématocrites de CRITOCAP.

3.3 Évaluation de la bioaccumulation du sulfate de nickel

L'étude de la bioaccumulation a été effectuée par le dosage analytique du nickel dans les tissus du foie, des reins, des poumons, du coeur, du cerveau, des testicules et de la rate.

3.3.1 Nettoyage de la vaisselle

Pour éviter toute sorte de contamination, les tubes de digestion, la vaisselle à utiliser et les cupules ont été lavés avec un détergeant liquide, rincés quatre fois avec de l'eau et mis dans une solution de 0,5% de HNO_3 pendant 24 heures, puis rincés 6 fois avec de l'eau milli-Q et stockés dans les bacs en plastique préalablement décontaminés pendant 24 heures dans 0,5 % de HNO_3 .

3.3.2 Préparation des échantillons

Un gramme de tissu est mis dans un digesteur avec capuchon en Téflon, on y ajoute 1 ml de HNO_3 (ultrapur), on chauffe le tout à 70°C jusqu'à ce que la solution devienne claire, tout

en surveillant de temps en temps pourqu'il n'y ait pas d'éclaboussure. Les tubes ont été refroidis sur de la glace pendant 20 min avant d'être ouverts afin de réduire la pression et condenser la vapeur de l'acide. Les digestats ont été rincés dans les flacons en plastique et dilués avec un volume approprié d'eau milli-Q pour obtenir une solution finale d'acide nitrique (HNO_3) 0,2%. Les digestats ont été ensuite stockés à -20°C dans le réfrigérateur pour une analyse ultérieure.

3.3.3 Procédure d'analyse

Le dosage du nickel dans les différents organes sous condition sub-chronique a été faite dans le laboratoire de chimie de l'université de Montréal à l'aide de ICP-MS qui est une méthode basée sur celle décrite par Houk (1986).

3.4 Analyses histologiques

Les organes (foie, rein, poumon, coeur, cerveau, rate, intestin) ont été fixés avec 10% d'une solution de "tampon formaline neutre" et imbibés dans la paraffine, sectionnés à $5\ \mu\text{m}$ d'épaisseur, colorés avec hematoxyline et eosin, puis examinés au microscope optique pour les altérations histologiques.

3.5 Évaluations statistiques

Les valeurs moyennes ont été calculées ($X \pm \text{ES}$) pour tous les paramètres évalués dans chaque groupe d'exposition. Les comparaisons multiples entre les groupes traités ont été faites en utilisant l'analyse de variance (ANOVA). Une importance statistique lorsque ces groupes traités ont été comparés aux groupes contrôles a été évaluée en utilisant le T-test de Dunnett adapté pour des comparaisons multiples. Les seuils de signification ont été fixés à $p \leq 0,05$. Le T-test de Student a été aussi utilisé pour des comparaisons entre un groupe exposé et le contrôle correspondant.

Chapitre 3

RÉSULTATS

Les communications qui découlent de ce projet sont présentées en annexes.

3.1 Étude préliminaire de type sub-chronique (deux semaines)

Cette étude avait pour but de déterminer la dose minimale qui nous permettait d'obtenir les résultats significatifs que ce soit au niveau de la toxicité ou au niveau de la bioaccumulation. Les doses administrées variaient entre 0,1 et 1% de sulfate de nickel. Cette étude avait aussi pour but de vérifier l'existence d'une relation dose-effet entre l'administration orale des doses croissantes de sulfate de nickel et certains paramètres de toxicité rénale, pulmonaire, hépatique, immunitaire et reproducteur.

A cet effet, la plupart des réponses significatives sont survenues à des doses de 0,5% et 1%, et durant même la période d'expérimentation, nous avons observé 60 % de mortalité (3 rats sur 5 sont morts) chez les rats exposés à 1% de sulfate de nickel. C'est pour cette raison (taille de l'échantillon) que les données obtenues dans ce dernier groupe ne sont pas incluses dans les analyses statistiques et n'apparaissent pas dans nos résultats.

3.1.1 Croissance corporelle

Les résultats obtenus montrent une diminution très significative ($p \leq 0,01$) du poids corporel chez les groupes traités avec la dose de 0,5%, alors qu'on observait une augmentation chez les rats non exposés et chez ceux exposés à 0,1%. Le poids corporel des rats diminue avec l'augmentation de la dose du sulfate de nickel (tableau I).

Tableau I: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen ($g \pm sem$) des rats mâles Sprague Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
avant exposition	214,4 ± 3,429	215,0 ± 4,05	213,2 ± 4,37
après exposition	308 ± 5,99	305,75 ± 6,82	166 ± 18,51*

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau II: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe/poids corporel) des rats mâles Sprague Dawley ($n = 5$) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation

organes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
foie	3,983 ± 0,179	3,946 ± 0,244	3,432 ± 0,046
rein	0,668 ± 0,039	0,661 ± 0,026	0,918 ± 0,092*
cerveau	0,594 ± 0,050	0,638 ± 0,010	1,169 ± 0,100*
rate	0,168 ± 0,024	0,188 ± 0,027	0,232 ± 0,023
testicule	0,890 ± 0,095	0,970 ± 0,061	1,636 ± 0,124*
coeur	0,286 ± 0,040	0,304 ± 0,040	0,367 ± 0,065
poumon	0,609 ± 0,168	0,768 ± 0,095	1,332 ± 0,162*

différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

3.1.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel

Nous avons estimé la toxicité sur le système rénal en analysant toute une batterie de paramètres reconnus pour la toxicité rénale. Le choix de ces paramètres repose d'abord sur le fait que les informations disponibles sont incomplètes concernant la néphrotoxicité du sulfate de nickel et sur l'hétérogénéité du rein aussi bien structurelle que fonctionnelle. Parmi cette batterie de paramètres, deux d'entre-eux sont moins spécifiques, mais aussi importants par rapport aux autres, à savoir le poids des reins et le volume d'urine excrétée.

3.1.2.1 Évaluations des paramètres moins spécifiques

- Le poids relatif des reins

Les résultats obtenus lors de l'analyse du poids relatif des reins montrent une augmentation du poids des reins par rapport aux contrôles, et ce de façon significative ($p \leq 0,05$) chez les rats exposés à 0,5 % de sulfate de nickel (tableau II).

- Le volume urinaire

Les résultats montrent une forte diminution du volume d'urine des rats exposés. Cette diminution du volume est d'autant plus significative lorsque la dose augmente (tableau III).

- Le taux de glucose sérique

Le glucose sérique a été aussi évalué. On observe une diminution non significative du taux de glucose sérique chez tous les rats exposés (tableau V).

- Le taux de protéines plasmatiques

On observe une diminution de la quantité de protéines plasmatiques chez les rats exposés à 0,5% (tableau V).

3.1.2.2 Évaluation de l'intégrité glomérulaire

- Le taux d'azote sérique (BUN)

Les résultats montrent que l'exposition subchronique (deux semaines) par voie orale des rats au sulfate de nickel provoque une augmentation significative du taux de BUN ($p \leq 0,05$) dans le plasma des rats exposés à 0,5 % par rapport au contrôle (tableau V).

- L'excrétion des protéines urinaires

Les résultats obtenus démontrent que le sulfate de nickel ne provoque aucun changement significatif sur l'excrétion urinaire des protéines totales chez les rats exposés (tableau III).

3.1.2.3 Évaluation de l'intégrité tubulaire

Ce segment est caractérisé par ses multiples fonctions dont la sécrétion et la réabsorption. Dans notre étude, la fonction sécrétrice n'a pas été élucidée, nous nous sommes limités sur la réabsorption tubulaire qui a été évaluée en dosant le glucose dans l'urine.

- Le glucose urinaire

On observe dans le tableau III, une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du taux de glucose dans les urines de tous les rats exposés par rapport au contrôle.

- L'activité de N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) dans l'urine

L'activité urinaire de N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) est restée stable (tableau IV).

- L'activité urinaire de γ -GT

Aucune différence significative par rapport au contrôle n'a été observée dans l'activité urinaire de γ -GT chez les groupes traités (tableau IV).

3.1.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel

Une évaluation non approfondie de l'hépatotoxicité a été effectuée en pesant le poids du foie et en dosant l'activité de GPT dans le plasma qui est un bon indicateur des perturbations au niveau hépatique. Les résultats montrent une diminution significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif du foie (tableau II) et de l'activité de GPT à 0,1% et à 0,5% (tableau V).

Tableau III: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 5) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
volume d'urine (mL /24h)	71,5 ± 1,32	24,5 ± 15,91*	14,75 ± 7,95*
protéines totales (mg/kg/24h)	37,17 ± 6,02	45,09 ± 4,28	49,41 ± 18,26
glucose (mg/kg/24h)	7,61 ± 1,00	50,50 ± 14,03 *	53,88 ± 9,84 *

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau IV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ -GT chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 5) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

enzymes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
NAG (U/kg/24h)	0,54 ± 0,10	0,49 ± 0,07	0,55 ± 0,06
γ -GT (U/kg/24h)	19,78 ± 4,17	17,71 ± 2,69	26,06 ± 11,65

Tableau V: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 5) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
glucose (mg/dl)	153,03 ± 12,31	130,00 ± 4,72	125,30 ± 9,66
protéines (mg/dl)	3262,9 ± 39,9	3196,6 ± 32,0	3023,6 ± 76,2 *
BUN (mg/dl)	12,63 ± 1,18	9,98 ± 0,94	20,76 ± 3,67 *
GPT (U/L)	35,67 ± 2,03	21,13 ± 5,94*	27,27 ± 3,20

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

3.1.4 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire

3.1.4.1 Le poids relatif des poumons

Le poids relatif (poids des poumons/poids corporel) des poumons a été analysé. On observe une augmentation du poids relatif des poumons des rats exposés à 0,5 % (tableau II).

3.1.4.2 Étude des paramètres mesurés dans le LLBA

Nous avons observé une diminution des activités de ALP et de LDH dans le LLBA. L'activité de ACP et la quantité de protéines totales sont restées stables (tableau VI).

3.1.4.3 Étude des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire

Tous les résultats des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire se retrouvent dans le tableau VII.

- L'activité de ALP

L'activité de la phosphatase alcaline qui est un marqueur de la toxicité des cellules épithéliales de type II diminue significativement ($p \leq 0,05$) à 0,1% et très significative à 0,5% ($p \leq 0,005$) dans le tissu de poumon par rapport au contrôle.

- L'activité de LDH

L'activité de LDH qui est un indicateur de la perméabilité membranaire ou rupture des cellules épithéliales diminue significativement ($p \leq 0,05$ à 0,1% et $p \leq 0,005$ à 0,5%) de l'activité de LDH chez tous les rats traités par rapport au contrôle.

- L'activité de ACP

L'activité de la phosphatase acide qui est un indicateur de l'atteinte des cellules épithéliales de type I diminue significativement ($p \leq 0,05$) à 0,5% par rapport au contrôle dans le tissu pulmonaire.

3.1.4 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire

3.1.4.1 Le poids relatif des poumons

Le poids relatif (poids des poumons/poids corporel) des poumons a été analysé. On observe une augmentation du poids relatif des poumons des rats exposés à 0,5 % (tableau II).

3.1.4.2 Étude des paramètres mesurés dans le LLBA

Nous avons observé une diminution des activités de ALP et de LDH dans le LLBA. L'activité de ACP et la quantité de protéines totales sont restées stables (tableau VI).

3.1.4.3 Étude des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire

Tous les résultats des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire se retrouvent dans le tableau VII.

- L'activité de ALP

L'activité de la phosphatase alcaline qui est un marqueur de la toxicité des cellules épithéliales de type II diminue significativement ($p \leq 0,05$) à 0,1% et très significative à 0,5% ($p \leq 0,005$) dans le tissu de poumon par rapport au contrôle.

- L'activité de LDH

L'activité de LDH qui est un indicateur de la perméabilité membranaire ou rupture des cellules épithéliales diminue significativement ($p \leq 0,05$ à 0,1% et $p \leq 0,005$ à 0,5%) de l'activité de LDH chez tous les rats traités par rapport au contrôle.

- L'activité de ACP

L'activité de la phosphatase acide qui est un indicateur de l'atteinte des cellules épithéliales de type I diminue significativement ($p \leq 0,05$) à 0,5% par rapport au contrôle dans le tissu pulmonaire.

- Les protéines totales

Le dosage des protéines totales dans l'homogénat des poumons permettant d'évaluer une réponse inflammatoire des macrophages alvéolaires ou un dommage de la barrière capillaire-alvéole montre une diminution non significative des protéines totales dans le tissu de poumons des rats traités.

3.1.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules

Les résultats obtenus ne montrent aucun changement significatif dans l'activité testiculaire de ces enzymes et dans la quantité de protéines totales (tableau VIII), mais plutôt une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif des testicules à 0,5 % (tableau II).

3.1.6 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système immunitaire

L'étude de la toxicité du NiSO_4 sur les sous-populations lymphocytaires de la rate montre une augmentation du nombre total des cellules à 0,1% qui diminue très significativement à 0,5 % (tableau IX et X). Mais celui des CD4^+ et les CD8^+ augmente à 0,1% et redevient à la normale à 0,5% alors que le ratio $\text{CD4}/\text{CD8}$ reste inchangé (tableau IX). Le pourcentage de lymphocytes B augmente de 10% par rapport au contrôle (tableau IX). Ces résultats montrent donc une induction de la réponse du système immunitaire ou une induction de la réponse immunosuppressive du système immunitaire même si ces différences ne sont pas significatives pour les CD4^+ et les CD8^+ . La dose de 0,1 % induit une augmentation très forte de la cellularité thymique due à une augmentation significative en pourcentage et en nombre absolu des lymphocytes T et B et une augmentation non significative des CD4^+ , CD8^+ (tableau X). Par contre, la dose 0,5 % apparaît particulièrement toxique en induisant une chute drastique des cellules spléniques totales (tableau IX) et des cellules thymiques (T) y comprises les lymphocytes CD4^+ , CD8^+ et B (tableau X).

3.1.7 Autres toxicités

L'analyse de l'hématocrite montre une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du pourcentage de l'hématocrite à 0,5% (tableau V). Le ratio du poids moyen des organes par rapport au poids corporel moyen en fonction de la dose du sulfate de nickel montre une augmentation significative du poids relatif du cerveau à 0,5%. Tandis que le poids relatif du coeur est resté stable chez tous les rats traités (tableau II). Aucun changement n'a été observé dans les études histologiques (données non présentées).

Tableau VI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
protéines (g/L)	0,11 ± 0,012	0,11 ± 0,009	0,14 ± 0,008
ALP(U/g de protéine)	375,51 ± 45,27	73,50 ± 23,23*	17,25 ± 0,17**
ACP(U/g de protéine)	18,52 ± 1,41	14,85 ± 2,33	12,53 ± 0,50
LDH(U/g de protéine)	437,72 ± 103,61	425,77 ± 38,83	194,83 ± 25,90*

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

Tableau VII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
protéines (g/L)	4,62 ± 0,76	3,97 ± 0,12	2,91 ± 0,40
ALP (U/g de protéine)	317,08 ± 32,22	185,65 ± 13,74**	107,48 ± 8,64**
ACP (U/g de protéine)	77,37 ± 8,50	57,38 ± 1,53	42,32 ± 3,94*
LDH (U/g de protéine)	877,63 ± 79,06	830,48 ± 83,44*	747,97 ± 86,37**

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

Tableau VIII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après deux semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation		
	0	0,1	0,5
protéines (g/L)	7,13 ± 0,13	6,06 ± 0,52	6,18 ± 0,06
ALP (U/g de protéine)	143,02 ± 35,67	195,05 ± 31,48	145,72 ± 34,67
ACP(U/g de protéine)	173,09 ± 2,08	203,16 ± 21,93	185,93 ± 28,69
LDH (U/g de protéine)	819,55 ± 104,98	970,04 ± 283,21	347,06 ± 111,82

Tableau IX: Effets sub-chroniques (deux semaines) du NiSO₄ sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans la rate des rats mâles Sprague-Dawley(n = 2).

traitement (% de NSO ₄)	nombre total des cellules (× 10 ⁷)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4/CD8	B (%)	poids de la rate (mg)
contrôle	35,82	20,83	11,81	1,76	22,07	0,72
0,1 %	58,94*	38,08	19,59	1,94	31,21	0,78
0,5 %	0,66**	22,2	11,42	1,94	34,81	0,17

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

Tableau X: Effets sub-chroniques (deux semaines) du NiSO₄ sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans le thymus des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).

traitement	CD4 ⁺	CD8 ⁺	total des T	autres cellules + B	autres cellule sans B	total de B
contrôle	7,42	4,21	11,45	24,17	16,31	7,86
0,1%	22,44**	11,55	33,99**	24,95	6,55*	18,40*
0,5 %	0,15**	0,08**	0,23**	0,41**	0,17**	0,23**

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

3.2 Études subchroniques de la toxicité du sulfate de nickel chez les rats sous différentes conditions d'exposition

L'étude sub-chronique est d'une grande importance dans la mesure où elle reflète les conditions d'exposition rencontrées en milieu professionnel où les employés sont exposés de façon répétée à des doses relativement faibles des substances chimiques. A partir des résultats obtenus dans les études préliminaires, les doses 0; 0,02; 0,05 et 0,1 % ont été choisies pour vérifier l'effet cumulatif et la tolérance des rats au sulfate de nickel. Cette expérience s'est échelonnée sur des périodes séquentielles de quatre, huit et treize semaines afin de mieux suivre l'évolution des effets, pour ensuite évaluer l'importance de la durée d'exposition sur la toxicité du sulfate de nickel.

3.2.1 Études de la toxicité du sulfate de nickel après quatre semaines d'exposition

A partir des résultats obtenus dans les préliminaires, nous avons entrepris cette partie de l'étude dans le but de vérifier si l'administration orale dans l'eau de consommation des doses faibles de sulfate de nickel pouvait produire des effets toxiques chez les rats mâles pendant quatre semaines. Aussi, nous voulons vérifier si la durée d'exposition a une influence sur la toxicité du sulfate de nickel.

Au cours de cette expérience, quatre groupes de 8 rats chacun (de poids corporels variant de 180 à 200 g) ont été approvisionnés avec une eau de consommation contenant des concentrations de 0; 0,02; 0,05 et 0,1 % de NiSO_4 pendant quatre semaines. La solution d'eau sucrée (H_2O milli-Q + 2 % de sucre) a été donnée au groupe contrôle. Les paramètres évalués sont similaires à ceux évalués dans l'étude préliminaire.

3.2.1.1 Croissance corporelle

En comparant le poids des rats avant et après le traitement dose par dose, nous constatons une augmentation de la croissance corporelle des rats après le traitement. Mais si nous

comparons le poids des rats exposés par rapport au contrôle, nous remarquons qu'il n'existe aucun changement significatif dans la croissance corporelle (tableau XI). Il convient de noter que le poids des rats a été pris chaque semaine et 24 h avant le sacrifice.

Tableau XI: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen (en gramme) des rats mâles Sprague Dawley (n = 8) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

	Concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
avant	182,91 ± 1,09	182,53 ± 1,18	182,78 ± 1,23	182,59 ± 1,06
après	381,41 ± 4,43	386,47 ± 4,18	384,50 ± 3,57	376,91 ± 3,52

Tableau XII: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe/poids corporel) des rats mâles Sprague Dawley (n = 8) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

organes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
foie	3,772 ± 0,151	3,842 ± 0,145	3,629 ± 0,071	3,477 ± 0,081
rein	0,782 ± 0,024	0,709 ± 0,016	0,788 ± 0,031	0,754 ± 0,029
cerveau	0,554 ± 0,021	0,520 ± 0,015	0,541 ± 0,020	0,553 ± 0,016
rate	0,231 ± 0,025	0,180 ± 0,012	0,223 ± 0,022	0,186 ± 0,018
testicule	0,841 ± 0,022	0,814 ± 0,017	0,844 ± 0,031	0,863 ± 0,043
coeur	0,284 ± 0,11	0,269 ± 0,14	0,280 ± 0,010	0,288 ± 0,008
poumon	0,354 ± 0,037	0,406 ± 0,029	0,449 ± 0,055	0,413 ± 0,025

3.2.1.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel

Les mêmes paramètres étudiés lors de l'expérience préliminaire ont été utilisés pour évaluer la toxicité sub-chronique rénale (quatre semaines) du sulfate de nickel chez les rats.

3.2.1.2.1 Évaluation des paramètres moins spécifiques

- Le volume urinaire

La mesure du volume urinaire excrété nous montre une anurie ou une oligo-urie qui est observée de façon significative chez tous les groupes de rats exposés ($p \leq 0,05$ à $0,02\%$ et $p \leq 0,01$ à $0,05$ et $0,1\%$) (tableau XIII).

- Le poids relatif des reins

On observe aussi dans le tableau XII aucun changement du poids relatif des reins (ratio du poids moyen des organes par rapport au poids corporel moyen).

- Les concentrations plasmatiques du glucose et de protéines totales

Le tableau XV ne montre aucun changement quant à la concentration plasmatique du glucose, mais la concentration plasmatique des protéines augmente significativement à $0,02\%$.

3.2.1.2.2 Évaluation de l'intégrité glomérulaire

L'intégrité glomérulaire a été évaluée en mesurant la quantité de protéines totale dans l'urine et le taux de BUN dans le plasma.

- La quantité de protéines totales dans l'urine

Le tableau XIII ne révèle aucun changement significatif dans l'excrétion urinaire de protéines.

- Le taux d'azote uréique sérique (BUN)

Aucun changement significatif du taux de BUN n'a été observé chez les rats exposés par rapport au contrôle (tableau XV).

3.2.1.2.3 Évaluation de l'intégrité tubulaire

L'intégrité des tubules a été évaluée en analysant le taux de glucose dans l'urine et l'activité urinaire de NAG et de γ -GT.

- Le taux de glucose dans l'urine

Le tableau XIII montre une hyperglycosurie chez tous les rats exposés avec $p \leq 0,05$ à 0,02% et $p \leq 0,01$ à 0,05 et à 0,1%.

- L'activité urinaire de NAG

Le sulfate de nickel diminue l'activité urinaire de NAG, mais cette diminution, dose-dépendante n'est pas statistiquement significative (tableau XIV).

- L'activité urinaire de γ -GT

Nous n'observons pas de changement significatif de l'activité de γ -GT (tableau XIV).

3.2.1.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel

Une évaluation non approfondie de l'hépatotoxicité a été effectuée en pesant le poids du foie et en dosant l'activité de GPT dans le plasma. Les résultats obtenus ne montrent aucune différence significative du poids relatif du foie (tableau XII) et de l'activité de GPT (tableau XV).

Tableau XIII: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines totales (mg/kg/24h)	37,04 ± 3,01	39,07 ± 2,90	36,25 ± 4,15	30,37 ± 2,19
volume d'urine (mL)	33,71 ± 7,70	17,86 ± 2,53*	8,00 ± 0,98**	6,50 ± 0,70**
glucose (mg/kg/24h)	16,08 ± 6,89	51,44 ± 16,91 *	74,68 ± 10,09**	67,40 ± 7,69**

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

Tableau XIV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ -GT chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après quatre semaines d'exposition orale dans l'eau de consommation.

enzymes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
NAG (U/kg/24h)	0,83 ± 0,30	0,55 ± 0,15	0,48 ± 0,08	0,33 ± 0,10
γ -GT (U/kg/24h)	31,09 ± 3,79	34,76 ± 3,24	38,66 ± 3,96	37,62 ± 3,53

Tableau XV: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après quatre semaines d'exposition orale dans l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
glucose (mg/dl)	244,04 ± 17,86	242,90 ± 30,38	246,10 ± 10,38	246,09 ± 15,84
protéines (g/dl)	3,985 ± 0,071	4,286 ± 0,111*	4,120 ± 0,026	3,715 ± 0,137
hématocrite (%)	42,43 ± 1,00	42,57 ± 1,09	42,86 ± 0,067	39,29 ± 0,78*
BUN (mg/dl)	15,86 ± 0,88	14,88 ± 0,55	16,12 ± 1,57	16,74 ± 1,08
GPT (U/L)	18,46 ± 3,23	17,28 ± 2,37	12,53 ± 0,67	16,11 ± 2,86

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

3.2.1.4 Évaluation de la toxicité pulmonaire du sulfate de nickel

3.2.1.4.1 Le poids relatif des poumons

Une légère augmentation du poids relatif des poumons est observée bien qu'elle ne soit toutefois pas significative chez les rats traités par rapport au contrôle (tableau XII).

3.2.1.4.2 Évaluation des paramètres mesurés dans le LLBA

Le tableau XVI montre les effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ALP, ACP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire - (LLBA).

- L'activité de ALP

L'activité de la phosphatase alcaline (ALP) est réduite de façon significative ($p \leq 0,05$) dans le LLBA chez tous les groupes traités avec le sulfate de nickel.

- L'activité de ACP

L'activité de la phosphatase acide (ACP) dans le LLBA n'est pas significativement différente de celle du groupe contrôle.

- L'activité de LDH

L'activité de LDH dans le LLBA est restée aussi presque stable.

- La quantité de protéines totales

On observe une augmentation significative ($p \leq 0,05$) des protéines dans le LLBA à 0,1%.

3.2.1.4.3 Évaluation des paramètres mesurés dans le tissu du poumon

- L'activité de ALP

L'activité de la phosphatase alcaline (ALP) est réduite de façon significative ($p \leq 0,05$) dans le tissu à 0,1% (tableau XVII).

- L'activité de ACP

L'activité de la phosphatase acide (ACP) est restée stable dans le tissu de poumon (tableau XVII).

- L'activité de LDH

L'activité de LDH est restée statistiquement stable bien qu'on observe une augmentation de celle-ci dans le tissu pulmonaire de tous les groupes traités par rapport au contrôle (tableau XVII).

- La quantité de protéines totales

On observe une diminution significative ($p \leq 0,05$) de la quantité de protéines dans le tissu pulmonaire à 0,02% (tableau XVII).

3.2.1.5 Évaluation de la toxicité testiculaire du sulfate de nickel

L'évaluation des effets toxiques du sulfate de nickel sur le système reproducteur a été faite en mesurant le poids des testicules, les protéines totales et l'activité des enzymes ALP, ACP et LDH dans l'homogénat des testicules. Les résultats obtenus indiquent une stabilité de tous les paramètres mesurés (tableaux XII et XVIII).

3.2.1.6 Autres toxicités

Les poids de la rate, du cerveau et du coeur sont restés inchangés par rapport au contrôle (tableau XII). L'analyse de l'hématocrite montre une diminution significative ($p \leq 0,05$) du pourcentage de l'hématocrite à 0,1% (tableau XV). Aucun changement significatif n'a été observé dans l'étude histologique (données non représentées).

Tableau XVI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	0,135 ± 0,018	0,120 ± 0,021	0,208 ± 0,010	0,235 ± 0,038*
ALP (U/L)	67,58 ± 15,74	23,08 ± 4,65*	24,12 ± 3,21*	13,20 ± 4,44*
ACP (U/L)	3,20 ± 0,38	2,56 ± 0,19	3,35 ± 0,49	3,91 ± 0,47
LDH (U/L)	335,43 ± 24,66	386,22 ± 45,01	249,75 ± 38,61	222,91 ± 63,92

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau XVII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	4,148 ± 0,505	2,693 ± 0,247*	3,3646 ± 0,239	3,4938 ± 0,314
ALP (U/g de protéine)	261,78 ± 16,49	249,54 ± 11,30	209,53 ± 23,80	131,55 ± 25,67*
ACP (U/g de protéine)	70,46 ± 5,53	76,04 ± 2,17	76,71 ± 3,88	69,20 ± 5,68
LDH (U/g de protéine)	909,65 ± 64,58	1155,18 ± 40,74	1066,76 ± 34,43	1024,33 ± 89,62

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau XVIII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	16,05 ± 0,46	15,75 ± 0,18	15,89 ± 0,60	15,65 ± 0,21
ALP (U/g de protéine)	113,84 ± 17,93	108,34 ± 23,55	128,61 ± 8,85	102,57 ± 24,16
ACP (U/g de protéine)	71,83 ± 3,68	69,42 ± 0,81	69,21 ± 1,98	64,27 ± 3,12
LDH (U/g de protéine)	318,64 ± 64,89	341,84 ± 38,44	203,45 ± 31,33	189,42 ± 32,39

3.2.2 Études de la toxicité du sulfate de nickel après huit semaines d'exposition

A partir des résultats obtenus dans l'étude préliminaire, nous avons entrepris cette partie de l'étude dans le but de vérifier si l'administration orale dans l'eau de consommation des doses faibles de sulfate de nickel pouvait produire des effets toxiques chez les rats mâles après huit semaines d'exposition et de vérifier l'influence de la durée d'exposition sur la toxicité du sulfate de nickel. Au cours de cette expérience, quatre groupes de 8 rats chacun (de poids corporels 180-200 g) ont ingéré via l'eau de consommation les concentrations de 0; 0,02; 0,05 et 0,1 % de NiSO₄ pendant huit semaines. La solution d'eau sucrée (H₂O milli-Q + 2 % de sucre) a été donnée au groupe contrôle. Les paramètres évalués sont similaires à ceux évalués dans l'étude préliminaire.

3.2.2.1 Croissance corporelle

Le poids des rats a été pris avant l'exposition et à chaque semaine durant l'exposition. Les résultats obtenus montrent une augmentation du poids des rats après le traitement par rapport à leur contrôle respectif. Mais en comparant le groupe contrôle après l'exposition à chacun des groupes traités, on n'observe qu'il n'y a pas de différence dans leur croissance corporelle quelle que soit la dose (tableau XIX).

Tableau XIX: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen (en gramme) des rats mâles Sprague Dawley (n = 8) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
avant	181,625 ± 1,439	181,625 ± 1,88	181,875 ± 2,216	181,75 ± 1,849
après	479,75 ± 8,705	480 ± 12,985	494,125 ± 7,037	475,25 ± 13,125

Tableau XX: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe/poids corporel) des rats mâles Sprague Dawley (n = 8) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

organes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
foie	3,563± 1,2E-03	3,35 ± 7,2E-04	3,28 ± 5,8E-04*	3,238± 2,2E-04*
rein	0,607 ± 3E-05	0,687 ± 3,5E-05*	0,65 ± 4,3E-05	0,635± 2,5E-05
cerveau	0,241± 1,8E-05	0,435± 3E-05*	0,408 ± 9,9E-06*	0,449± 7,5E-06*
rate	0,16 ± 8,3E-06	0,157± 1,6E-05	0,166± 8,4E-06	0,148± 3,8E-06
testicule	0,669± 5,4E-05	0,72 ± 5,5E-05	0,637± 4,2E-05	0,706± 4,1E-05
coeur	0,236± 2,4E-05	0,287± 1,6E-05*	0,25 ± 7,9E-06	0,266± 9,8E-06
poumon	0,308± 8,3E-05	0,296± 1,1E-05	0,274± 2,3E-05	0,279± 1,6E-05

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

3.2.2.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel

Comme dans les études précédentes, nous avons estimé la toxicité du sulfate de nickel sur le système rénal en analysant toute une batterie de paramètres.

3.2.2.2.1 Évaluation des paramètres moins spécifiques

- Le poids relatifs des reins

Les résultats obtenus lors de l'analyse du poids relatif des reins montrent une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du poids relatif des reins à 0,02% (tableau XX).

- Le volume urinaire

Le volume d'urine excrétée diminue significativement. Cette diminution est d'autant plus significative lorsque la dose augmente (tableau XXI).

- Le taux de glucose plasmatique

Une hypoglycosémie ($p \leq 0,05$) est observée à 0,1% (tableau XXIII).

3.2.2.2.2 Évaluation de l'intégrité glomérulaire

- Le taux d'azote uréique sérique (BUN)

L'évaluation du taux d'azote uréique sérique (BUN) montre une augmentation significative ($p \leq 0,05$) chez tous les rats qui ont reçu le sulfate de nickel (tableau XXIII).

- Le taux de protéines urinaires

On observe aussi une diminution de la quantité de protéines totales excrétées dans l'urine. Cette chute de protéines est d'autant plus accentuée ($p \leq 0,05$) chez les rats exposés à 0,02% et à 0,05% (tableau XXI).

3.2.2.2.3 Évaluation de l'intégrité tubulaire

- Le taux de glucose urinaire et de protéines plasmatiques

Le taux de glucose excrété dans l'urine et la quantité de protéines plasmatiques sont restés stables chez les rats traités comparés au contrôle (tableau XXI et XXIII).

- Les activités de N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) et de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT)

Le dosage urinaire de l'activité de N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) et de l'activité de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) a été fait pour compléter l'évaluation de l'intégrité des tubules. Les résultats obtenus démontrent que le sulfate de nickel ne produit pas d'effets significatifs sur l'activité urinaire de NAG et sur celle de γ -GT (tableau XXII).

3.2.2.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel

Une mesure du poids relatif du foie et un dosage de l'activité de GPT dans le plasma qui est un bon indicateur des perturbations au niveau hépatique ont été effectués. Les résultats indiquent une diminution du poids relatif du foie à 0,05% et à 0,1% (tableau XX) et une stabilité de l'activité de GPT (tableau XXIII).

3.2.2.4 Autres toxicités

Une augmentation du poids relatif du coeur est observée à 0,02% et celui du cerveau chez tous les rats traités par rapport au contrôle (tableau XX). Le pourcentage d'hématocrite est resté stable (tableau XXIII). Aucun changement significatif n'a été observé dans l'étude histologique (données non représentées).

Aucun changement significatif n'a été observé dans l'étude histologique (données non représentées).

Tableau XXI: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines totales (mg/kg/24h)	58,95 ± 7,08	39,79 ± 3,72*	43,21 ± 2,99*	46,38 ± 4,68
volume d'urine (mL)	41,57 ± 11,76	17,00 ± 1,45*	12,00 ± 1,41**	9,83 ± 0,25***
glucose (mg/kg/24h)	51,32 ± 10,93	52,87 ± 9,41	42,18 ± 2,83	56,67 ± 5,85

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

*** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

Tableau XXII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ -GT chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

enzymes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
NAG (U/kg/24h)	0,753 ± 0,141	0,738 ± 0,061	0,812 ± 0,084	0,622 ± 0,054
γ -GT (U/kg/24h)	23,31 ± 2,15	25,56 ± 2,91	27,23 ± 3,86	23,69 ± 0,96

Tableau XXIII: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
glucose (mg/dl)	265,55 ± 18,17	215,21 ± 20,38	233,83 ± 25,25	155,6 ± 7,29*
protéines (g/dl)	4,21 ± 0,07	4,29 ± 0,07	4,04 ± 0,16	4,00 ± 0,123
hématocrite (%)	42,00 ± 0,22	40,85 ± 0,80	41,29 ± 1,08	41,83 ± 0,88
BUN (mg/dl)	7,29 ± 0,58	10,72 ± 0,83*	10,80 ± 0,67*	13,04 ± 1,24*
GPT (U/L)	13,08 ± 3,43	10,83 ± 0,34	11,39 ± 2,88	14,85 ± 3,74

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

3.2.2.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire

3.2.2.5.1 Le poids relatif des poumons

Aucune différence significative du poids relatif des poumons n'a été observée (tableau XX).

3.2.2.5.2 Évaluation des paramètres mesurés dans le LLBA

L'activité de ALP dans le LLBA diminue significativement ($p \leq 0,05$) chez tous les rats traités, alors que l'activité de ACP diminue significativement ($p \leq 0,05$) chez les groupes exposés à 0,05 et 0,1% et que celle de LDH est restée stable. La quantité de protéines dans le LLBA n'a pas été perturbée (tableau XXIV).

3.2.2.5.3 Évaluation des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire

Aucune différence significative n'a été observée quant à la quantité de protéines totales, à l'activité de ALP, de ACP et de LDH dans le surnageant résultant de l'homogénéisation de tissus des poumons lavés (tableau XXV).

3.2.2.6 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules:

Cette toxicité a été évaluée en mesurant le poids relatif des testicules et en dosant la quantité de protéines et l'activité des enzymes dans le surnageant des testicules homogénéisés. Les résultats obtenus ne montrent pas de différences significatives dans l'activité de ALP, de LDH et de ACP ainsi que dans la quantité de protéines totales chez tous les groupes traités (tableau XXVI). Le poids relatif des testicules est resté presque inchangé (tableau XXI).

Tableau XXIV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	0,130 ± 0,013	0,138 ± 0,01	0,106 ± 0,007	0,154 ± 0,024
ALP (U/L)	60,81 ± 4,05	20,36 ± 1,35*	11,61 ± 2,04*	8,50 ± 2,90*
ACP (U/L)	3,97 ± 0,30	3,40 ± 0,07	3,26 ± 0,16*	2,72 ± 0,02*
LDH (U/L)	45,35 ± 5,82	45,35 ± 5,92	33,76 ± 4,72	38,71 ± 3,02

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau XXV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	5,180 ± 0,380	5,788 ± 0,130	5,534 ± 0,568	6,105 ± 0,120
ALP (U/g de protéine)	167,28 ± 16,67	168,00 ± 20,20	122,19 ± 10,85	122,84 ± 10,26
ACP (U/g de protéine)	53,79 ± 2,14	52,06 ± 3,84	43,93 ± 1,86	41,81 ± 4,12
LDH (U/g de protéine)	709,78 ± 26,02	683,39 ± 43,29	696,42 ± 14,22	687,45 ± 16,62

Tableau XXVI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 4) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	21,018 ± 1,038	20,460 ± 1,367	22,533 ± 0,875	20,531 ± 0,842
ALP (U/g de protéine)	58,02 ± 24,26	78,26 ± 7,00	74,41 ± 16,79	83,61 ± 22,57
ACP (U/g de protéine)	72,45 ± 8,33	65,94 ± 11,52	61,71 ± 6,84	70,01 ± 4,19
LDH (U/g de protéine)	218,36 ± 69,83	305,74 ± 86,53	236,69 ± 87,47	355,98 ± 107,6

3.2.2.7 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système immunitaire

Les études de la toxicité du NiSO₄ sur les sous-populations lymphocytaires de la rate montrent une augmentation du nombre total des cellules chez tous les groupes traités, et ce de façon significative à 0,05% et des quantités plus faibles à 0,1 % par rapport à 0,02% et à 0,05% (tableau XXVII). On observe aussi une augmentation du pourcentage des lymphocytes B à 0,05 et à 0,1% et des CD4⁺ à 0,05% (tableau XXVII).

Dans le thymus, le nombre totale des lymphocytes diminue significativement à 0,1%. Mais le pourcentage des CD4⁺ est resté statistiquement stable pendant que celui des CD8⁺ augmentent à 0,02% et à 0,1% par rapport au contrôle. Le ratio CD4⁺/CD8⁺ augmente significativement à 0,1% et diminue à 0,02% et à 0,05% (tableau XXVIII).

Tableau XXVII: Effets sub-chroniques (huit semaines) du NiSO₄ sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans la rate des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).

traitement (% de NSO ₄)	nombre total des cellules (× 10 ⁶)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4/CD8	B (%)
contrôle	560,10	34,44	0,13	264,92#	37,37
0,02 %	694,71	34,87	9,15#	3,81	33,68
0,05 %	946,90*	38,59*	1,33	29,02#	40,67*
0,1 %	623,60	28,16	11,68#	2,41	45,11*

erreur technique, il y a eu interférence des cellules lymphocytaires avec les globules rouges

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau XXVIII: Effets sub-chroniques (huit semaines) du NiSO₄ sur le pourcentage des sous-populations lymphocytaires dans le thymus des rats mâles Sprague-Dawley (n = 2).

traitement	T total 10 ⁶	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD4/CD8
contrôle	319,00	1,85	3,72	64,03
0,02 %	315,00	2,75*	3,97	92,90*
0,05 %	339,00	1,56	3,04	95,18*
0,1 %	228,00*	1,28*	4,41	64,02*

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

3.2.3 Étude de la toxicité du sulfate de nickel après treize semaines d'exposition

Nous avons entrepris cette partie de l'étude dans les mêmes objectifs que précédemment. Les paramètres évalués sont donc similaires à ceux évalués dans l'étude préliminaire.

3.2.3.1 Croissance corporelle

Le poids des rats a été pris avant l'exposition et à chaque semaine durant l'exposition. Les résultats obtenus montrent une augmentation du poids des rats après le traitement. Mais lorsqu'on compare le poids corporel des rats contrôles après l'exposition à celui des rats traités, il n'y a pas de changement (tableau XXIX).

3.2.3.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel

Les paramètres suivants ont été analysés:

- Le poids relatif des reins

Les résultats obtenus lors de l'analyse du poids relatif des reins montrent aucune variation significative du poids relatif des reins des rats exposés (tableau XXX) par rapport aux contrôles.

- Le volume urinaire

Le volume d'urine excrétée diminue significativement chez tous les groupes traités (tableau XXXI).

- Le glucose plasmatique

Le taux de glucose plasmatique diminue significativement chez les rats exposés à 0,05% de sulfate de nickel (tableau XXXIII).

- Le taux de BUN

L'évaluation du taux d'azote uréique sérique (BUN) montre une diminution significative ($p \leq 0,001$) par rapport aux contrôles chez les rats qui ont reçu 0,1% de sulfate de nickel (tableau XXXIII).

- Les protéines totales dans l'urine

On observe une stabilité de la quantité de protéines totales excrétées dans l'urine des rats exposés par rapport aux contrôles (tableau XXXI).

- Le taux de glucose urinaire

Le taux de glucose excrété dans l'urine diminue significativement chez tous les groupes de rats traités comparés aux groupes contrôles (tableau XXXI).

- Les protéines plasmatiques

La quantité de protéines plasmatiques diminue significativement chez tous les rats traités (tableau XXXIII).

- L'activité urinaire de NAG

L'activité de N-acétyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) n'est pas perturbée par le sulfate de nickel (tableau XXXII).

- L'activité de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT)

Le sulfate de nickel ne perturbe pas l'activité de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) (tableau XXXII).

Tableau XXIX: Effets du sulfate de nickel sur le poids corporel moyen (en gramme) des rats mâles (Sprague Dawley (n = 8) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
avant	180,4 ± 2,796	179,6 ± 2,13	180 ± 2,765	179,7 ± 1,998
après	586,75 ± 23,20	564 ± 25,28	565,75 ± 20,62	561,5 ± 12,84

Tableau XXX: Effets du sulfate de nickel sur le poids relatif des organes (poids d'organe/poids corporel) des rats mâles Sprague Dawley (n = 8) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

organes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
foie	3,227 ± 0,066	3,176 ± 0,08	3,058 ± 0,062*	3,011 ± 0,056*
rein	0,51 ± 0,013	0,55 ± 0,018	0,54 ± 0,024	0,57 ± 0,015
cerveau	0,353 ± 0,014	0,369 ± 0,017	0,376 ± 0,014	0,382 ± 0,008*
rate	0,12 ± 0,0038	0,14 ± 0,0088	0,14 ± 0,0045	0,15 ± 0,0099
testicule	0,609 ± 0,021	0,617 ± 0,048	0,575 ± 0,021	0,623 ± 0,016
coeur	0,264 ± 0,015	0,262 ± 0,013	0,264 ± 0,016	0,264 ± 0,012
poumon	0,245 ± 3E-06	0,245 ± 2,9E-06	0,244 ± 2,1E-05	0,291 ± 3,2E-06*

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau XXXI: Effets du sulfate de nickel sur l'excrétion urinaire du glucose et des protéines totales chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines totales (mg/kg/24h)	24,95 ± 1,57	23,86 ± 2,57	23,85 ± 2,72	27,01 ± 2,7
volume d'urine (mL)	36,71 ± 9,00	14,43 ± 3,93*	10,93 ± 1,86**	9,79 ± 0,70**
glucose (mg/kg/24h)	81,96 ± 15,68	32,48 ± 5,43**	23,63 ± 2,45***	21,40 ± 1,35***

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

*** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,005$)

Tableau XXXII: Effets du sulfate de nickel sur l'activité urinaire des enzymes NAG et γ -GT chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

enzymes	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
NAG (U/kg/24h)	0,741 ± 0,108	0,731 ± 0,161	1,128 ± 0,221	1,058 ± 0,174
γ -GT (U/kg/24h)	33,06 ± 0,69	34,45 ± 1,17	37,11 ± 1,31	34,44 ± 0,63

3.2.3.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel

Cette évaluation a été effectuée en pesant le poids du foie et en dosant l'activité de GPT dans le plasma. Les résultats montrent une diminution significative ($p \leq 0,01$) du poids relatif du foie à 0,05% et à 0,1% (tableau XXX) et une diminution significative de l'activité de GPT à 0,05% et à 0,1% (tableau XXXIII).

3.2.3.4 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire

3.2.3.4.1 Le poids relatif des poumons

Une augmentation significative du poids relatif des poumons a été observée à 0,1% (tableau XXX).

3.2.3.4.2 Évaluation des paramètres mesurés dans le LLBA

La toxicité du sulfate de nickel sur le système respiratoire a été évaluée en faisant un lavage bronchoalvéolaire, le liquide de lavage a été récolté pour mesurer les différents paramètres de toxicité pulmonaire. Les résultats montrent une diminution significative de l'activité de ALP à 0,05 et à 0,1% pendant que celles de l'ACP et de LDH ainsi que la quantité de protéines sont restées stables (tableau XXXIV).

3.2.3.4.3 Évaluation des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire

On observe une diminution significative de l'activité de ALP avec une augmentation de LDH dans les poumons des rats exposés. L'activité de ACP n'augmente pas de façon significative dans le surnageant résultant de l'homogénéisation de tissus des poumons lavés (tableau XXXV). La quantité de protéines totales est restée stable.

3.2.3.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules

Cette toxicité a été évaluée en mesurant le poids relatif des testicules et en dosant la quantité de protéines et l'activité des enzymes dans le surnageant des testicules homogénéisés. Les résultats obtenus montrent des fluctuations non importantes dans l'activité de ALP, de

l'ACP, de LDH et dans la quantité de protéines de tous les groupes traités (tableau XXXVI). Le poids relatif des testicules est resté aussi stable (tableau XXX).

3.2.3.6 Autres toxicités

Une augmentation significative du poids relatif du cerveau a été observée à 0,1%, tandis que le poids du coeur et de la rate sont restés inchangés par rapport au contrôle (tableau XXX). L'analyse de l'hématocrite montre une stabilité du pourcentage de l'hématocrite (tableau XXXIII). Aucun changement significatif n'a été observé dans l'étude histologique (données non représentées).

Tableau XXXIII: Effets du sulfate de nickel sur les concentrations plasmatiques du glucose, des protéines totales, du GPT et du BUN chez les rats mâles Sprague-Dawley (n = 7) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
glucose (mg/dl)	189,45 ± 14,25	216,20 ± 6,60	141,27 ± 18,71*	173,12 ± 14,41
protéines (g/dl)	4,0189 ± 0,0666	3,9494 ± 0,0552	3,8013 ± 0,0704*	3,6015 ± 0,463***
hématocrite (%)	43,10 ± 1,02	41,8 ± 1,06	42,70 ± 0,057	42,60 ± 0,8
BUN (mg/dl)	14,52 ± 0,76	15,05 ± 2,18	12,74 ± 2,62	2,64 ± 0,76***
GPT (U/L)	19,91 ± 1,08	19,78 ± 1,71	14,70 ± 0,64**	14,62 ± 0,76**

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

*** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,001$)

Tableau XXXIV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP, LDH et sur la quantité de protéines totales dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	0,1797 ± 0,0078	0,1657 ± 0,0065	0,1512 ± 0,0146	0,1674 ± 0,0110
ALP (U/L)	44,59 ± 10,05	33,63 ± 3,50	13,73 ± 7,05*	15,29 ± 3,69*
ACP (U/L)	4,66 ± 0,51	3,79 ± 0,67	4,03 ± 0,12	3,86 ± 0,40
LDH (U/L)	57,73 ± 7,27	45,13 ± 11,59	49,97 ± 10,04	44,56 ± 9,56

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

Tableau XXXV: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP et LDH et sur la quantité de protéines totales dans le tissu de poumon des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	4,5029 ± 0,076	5,0076 ± 0,426	4,5029 ± 0,190	5,3622 ± 0,254
ALP (U/g de protéine)	167,49 ± 8,85	139,16 ± 6,33*	124,11 ± 13,38*	105,55 ± 7,75**
ACP (U/g de protéine)	67,79 ± 4,35	81,34 ± 2,30	80,25 ± 3,82	77,22 ± 0,77
LDH (U/g de protéine)	598,59 ± 15,83	701,56 ± 28,87*	666,70 ± 22,19*	664,65 ± 39,81*

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

Tableau XXXVI: Effets du sulfate de nickel sur l'activité des enzymes ACP, ALP et LDH et sur la quantité de protéines totales dans les testicules des rats mâles Sprague-Dawley (n = 3) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation.

paramètres	concentrations (%) de NiSO ₄ dans l'eau de consommation			
	0	0,02	0,05	0,1
protéines (g/L)	18,1025 ± 0,849	17,3628 ± 0,605	17,4902 ± 0,436	18,9664 ± 0,3830
ALP (U/g de protéine)	109,23 ± 10,26	105,33 ± 8,73	99,88 ± 4,79	92,71 ± 5,83
ACP (U/g de protéine)	49,08 ± 5,54	45,62 ± 0,67	48,74 ± 0,59	40,28 ± 1,10
LDH (U/g de protéine)	474,61 ± 40,70	440,15 ± 30,88	418,31 ± 10,21	433,16 ± 12,85

3.3 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel dans les organes des rats mâles Sprague-Dawley après une administration orale par l'eau sous différentes conditions d'exposition sub-chronique

La distribution ou l'accumulation du nickel dans les organes relate de ce qui est observé dans les expositions professionnelles et non professionnelles. Actuellement, la quantification du nickel dans les différents tissus d'animaux est d'un grand intérêt toxicologique. Dans notre expérience, nous étudions l'accumulation du nickel dans les organes des rats pour mieux comprendre l'interaction entre le nickel et le matériel biologique et, par conséquent, ses effets toxiques. Étant donné que cette bioaccumulation dépend du composé de nickel, nous avons donc choisi le sulfate de nickel qui est un composé soluble et qui est souvent rencontré dans les milieux occupationnels et non- occupationnels et dont la principale voie de contamination est la voie orale. De plus, il s'agira de vérifier si d'autres facteurs tels que la dose, la durée et le nombre d'administration pouvaient influencer la distribution ou la bioaccumulation du sulfate de nickel.

A cet effet, nous avons exposé les rats subchroniquement à des doses croissantes (de 0 à 0,1%) de sulfate de nickel pendant quatre, huit et treize semaines.

3.3.1 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel après quatre semaines d'exposition

L'accumulation du nickel a été obtenue en soustrayant la concentration du nickel dans l'organe exposé de celle du contrôle et en divisant le tout par la concentration dans le contrôle $\{A = (E - C)/C\}$. Les résultats obtenus montrent une forte accumulation du nickel dans le poumon (1,06) > rein (0,83 > cerveau (0,32) > foie (0,23) > rate (0,1) > coeur (0,07) pendant que la quantité de nickel contenue dans les testicules reste indécélable à 0,02%. La dose de 0,05% induit une forte accumulation de nickel dans le rein (2,65) > poumon (2,5) > foie (0,48) > rate (0,01). La dose de 0,1% provoque une forte accumulation dans le rein (4,69) suivi des poumons (4,03), du foie (1,36), du cerveau (0,52), du coeur

(0,23) et des testicules (0,15). En analysant ces résultats, nous remarquons que le nickel s'accumule de façon importante dans le rein, le poumon et dans le foie et qu'elle augmente au fur et à mesure que la dose augmente. La distribution du nickel dans ces différents organes est influencée par la dose (tableau XXXVII).

Tableau XXXVII: Accumulation du nickel [$A = (E-C)/C$] dans les différents organes des rats mâles Sprague Dawley (n = 3) après quatre semaines d'exposition orale par l'eau de consommation au NiSO₄.

dose	foie	rein	rate	poumon	coeur	cerveau	testicule
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
0,02%	0,23±0,23	0,83±0,34	0,11±0,10	1,06±0,85*	0,07±0,02	0,32±0,32	ND
0,05%	0,48±0,34	2,65±0,01*	0,01±0,00	2,5±0,18*	ND	ND	ND
0,1%	1,36±0,18*	4,62±0,53**	ND	4,03±1,52**	0,23±0,06	0,52±0,38	0,15±0,13

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

ND = non détectable

3.3.2 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel après huit semaines d'exposition

Les résultats obtenus montrent une accumulation du nickel dans le rein, le foie, le poumon, le cerveau, le coeur et dans la rate. De plus dans le poumon, la quantité de nickel accumulé diminue en fonction de la dose, par contre dans le rein, le taux de nickel observé à 0,05% est faible par rapport à ceux observés à 0,02 % et à 0,1% bien que celui de 0,02 % soit faible par rapport à 0,1%. Dans le foie, la quantité de nickel accumulée à 0,02% est presque égale à celle observée à 0,1 %. On observe de faibles accumulations dans les testicules, le coeur et dans la rate (tableau XXXVIII). La dose 0,02 % entraîne une accumulation de nickel dans le rein > foie > poumon > rate > cerveau. La dose 0,05% provoque une accumulation dans le foie > rein > poumon > cerveau > testicule > rate, et la dose 0,1% entraîne une accumulation dans le rein > foie > cerveau > rate > coeur > poumon. La dose influence l'accumulation (tableau XXXVIII). Les quantités de nickel accumulées dans le rein et le poumon sont plus faibles par rapport à l'exposition de quatre semaines pour les doses de 0,05% et 0,1%, mais elles sont plus élevées à quatre semaines par rapport à huit semaines pour la dose de 0,02%. Par contre les accumulations observées dans le foie à quatre semaines sont plus fortes par rapport à celles de huit semaines.

Tableau XXXVIII: Accumulation du nickel [$A = (E-C)/C$] dans les différents organes des rats mâles Sprague Dawley ($n = 3$) après huit semaines d'exposition orale par l'eau de consommation au $NiSO_4$.

dose	foie	rein	rate	poumon	coeur	cerveau	testicule
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
0,02%	1,31±0,78	1,74±0,14*	0,28±0,15	1,19±0,09*	ND	0,21±0,05	0,23±0,23
0,05%	1,56±1,01	1,28±0,23*	0,21±0,23	0,64±0,34	ND	0,39±0,38	ND
0,1%	1,33±1,05	3,86±0,02**	0,21±0,05	0,16±0,01	0,20±0,01	0,66±0,48	0,15±0,08

* différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)

** différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)

ND = non détectable

3.3.3 Étude de la bioaccumulation du sulfate de nickel après treize semaines d'exposition

Les résultats obtenus se résument de la manière suivante: le nickel s'accumule dans le rein, le poumon, les testicules, le cerveau, le coeur et la rate, alors qu'aucune accumulation n'est observée dans le foie pour toutes les doses. La dose 0,02% provoque une accumulation dans le rein > cerveau > testicule > poumon > coeur. La dose 0,05 % entraîne une accumulation du nickel dans les testicules > rein > cerveau > coeur; et à la dose 0,1% le nickel s'accumule dans le rein > poumon > testicule. Dans le rein et dans le poumon, on observe une grande accumulation du nickel à 0,1 % puis à 0,02%. Les testicules, le cerveau, et le coeur accumulent beaucoup plus de nickel à 0,05 % et à 0,02%, tandis que la rate ne l'accumule qu'à 0,02%.

Tableau XXXIX: Accumulation du nickel [$A = (E-C)/C$] dans les différents organes des rats mâles Sprague Dawley ($n = 3$) après treize semaines d'exposition orale par l'eau de consommation au $NiSO_4$.

dose	foie	rein	rate	poumon	coeur	cerveau	testicule
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
0,02%	ND	19,5±14,67*	0,01±0,01	1,2±1,23	0,1±0,11	13±14,4	7,6±6,115
0,05%	ND	5,6±5,52	ND	ND	0,3± 0,01	1,1±0,38	13,2±13,4
0,1%	ND	37,5±17,11	ND	7,9±6,78	ND	ND	0,3±0,08

* *différence significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,05$)*

** *différence très significative entre les groupes exposés et contrôle ($p \leq 0,01$)*

ND = non détectable

3.3.4 Comparaison de la bioaccumulation du sulfate de nickel dans les différentes conditions d'exposition

Dans le rein, à la dose de 0,02% l'accumulation du nickel augmente avec la durée d'exposition (quatre > huit > treize semaines). Aux doses 0,05% et 0,1% l'accumulation du nickel dans le rein est plus faible à huit semaines par rapport à quatre et à treize semaines, avec une forte accumulation à treize semaines. Dans le foie, cette accumulation augmente avec la dose à quatre semaines, mais elle est presque stable à huit semaines où les quantités sont plus élevées, puis elle devient nulle à treize semaines pour toutes les doses. Dans les poumons, l'accumulation du nickel diminue avec la durée d'exposition sauf pour la dose de 0,1% où elle est plus forte à treize semaines. De plus à quatre semaines, cette accumulation augmente avec la dose dans le poumon, mais diminue avec la dose à huit semaines. Pour les autres organes, l'accumulation du nickel est beaucoup plus observée à treize semaines. Ces résultats nous permettent d'affirmer que la dose et la durée d'exposition sont les facteurs importants dans la bioaccumulation du sulfate de nickel.

3.4 Comparaison de la toxicité du sulfate de nickel à sa bioaccumulation sous différentes conditions d'exposition sub-chronique

3.4.1 Comparaison de la toxicité versus bioaccumulation après quatre semaines d'exposition

Nous avons remarqué une grande accumulation du nickel dans le rein suivi du poumon et du foie à 0,1%. Cette dose a aussi conduit à des variations significatives de certains paramètres de toxicité rénale et pulmonaire, mais la GPT n'a pas varié alors qu'on observe une accumulation du nickel dans le foie. Mais à des doses de 0,02 et 0,05%, la plupart des paramètres de toxicité rénale, pulmonaire et hépatique n'ont pas varié significativement bien qu'on observait déjà une accumulation du nickel dans ces organes. Aucune accumulation de nickel ni de variation de paramètres de toxicité n'ont été observées dans les testicules. De plus, les paramètres de toxicité rénale ont beaucoup varié par rapport à ceux des poumon et

du foie, ceci va de paire avec la variation de l'accumulation dans ces dits organes. Nous remarquons que plus le nickel s'accumule dans les organes plus sa toxicité augmente, et ce de façon significative dans le rein.

3.4.2 Comparaison de la toxicité versus bioaccumulation après huit semaines d'exposition

L'accumulation du nickel est plus importante dans le rein, puis dans le foie, le cerveau et le poumon, mais avec des quantités beaucoup faibles par rapport à l'exposition de quatre semaines. Cela va de même pour les paramètres de toxicité rénale et pulmonaire. La stabilité de tous les paramètres évalués dans le tissu pulmonaire est confirmée par la faible accumulation observée dans les poumons. La toxicité et la bioaccumulation du nickel sont restées faibles dans les autres organes. Le fait d'observer une toxicité et une bioaccumulation plus fortes à quatre semaines qu'à huit semaines suppose que le nickel est éliminé, car le sulfate de nickel est hydrosoluble donc s'élimine facilement.

3.4.3 Comparaison de la toxicité versus bioaccumulation après treize semaines d'exposition

L'accumulation reste toujours plus importante dans le rein suivi du poumon à 0,10%, mais aucune accumulation de nickel n'a été observée dans le foie pour toutes les doses alors que l'activité de GPT diminue significativement par rapport au contrôle. Dans cette condition d'exposition, l'accumulation du nickel dans le rein et les poumons ainsi que les paramètres de toxicité rénale et pulmonaire à 0,1% ont varié de façon plus significative par rapport à quatre et à huit semaines. La toxicité et la bioaccumulation sont restées stables dans les autres organes, bien qu'on observe de faibles variations dans les testicules.

La toxicité du sulfate de nickel est bien fonction de la bioaccumulation du nickel, plus le nickel a de l'affinité à se lier aux composants biologiques, plus sa toxicité augmente. Ceci explique pourquoi les composés insolubles sont plus toxiques que les composés solubles.

Chapitre 4

DISCUSSION

Il y a très peu d'informations disponibles quant aux effets de la spéciation du nickel sur sa toxicité et sa relation avec sa bioaccumulation dans les organes des animaux de laboratoire et chez l'humain. C'est pourquoi notre étude vise d'une part à étudier la toxicité et la bioaccumulation du sulfate de nickel dans les différents organes des rats mâles (Sprague Dawley) sous les différentes conditions d'exposition subchronique par administration orale dans l'eau, et d'autre part à établir une relation entre sa bioaccumulation et sa toxicité dans les organes cibles. De plus, la distribution ou l'accumulation du nickel dans les organes relate de ce qui est observé dans les expositions professionnelles et non professionnelles. Actuellement, la quantification du nickel dans les différents tissus d'animaux est d'un grand intérêt toxicologique. Dans notre expérience, nous étudions l'accumulation du nickel dans les organes des rats pour mieux comprendre l'interaction entre le nickel et le matériel biologique et, par conséquent, ses effets toxiques. Étant donné que cette bioaccumulation dépend du composé de nickel, nous avons donc choisi le sulfate de nickel qui est un composé soluble et qui est souvent rencontré dans les milieux occupationnels et non-occupationnels et dont la principale voie de contamination est la voie orale. Il s'agira aussi de vérifier si d'autres facteurs tels que la dose, la durée et le nombre d'administration pouvaient influencer la distribution ou la bioaccumulation du sulfate de nickel

L'étude préliminaire avait pour but de déterminer la dose minimale qui nous permettait d'obtenir les résultats significatifs que ce soit au niveau de la toxicité ou au niveau de la bioaccumulation et de vérifier s'il existe une relation dose-effet entre l'administration orale des doses croissantes de sulfate de nickel et certains paramètres de toxicité rénale, pulmonaire, hépatique, immunitaire et reproducteur. Les doses administrées variaient entre 0,1 et 1% de sulfate de nickel.

L'étude sub-chronique est d'une grande importance dans la mesure où elle reflète les conditions d'exposition rencontrées en milieu professionnel où les employés sont exposés de façon répétée à des doses faibles des substances chimiques. Après l'étude préliminaire, les doses 0; 0,02; 0,05 et 0,1 % ont été choisies pour vérifier l'effet cumulatif et la tolérance des

rats au sulfate de nickel. Cette expérience s'est échelonnée sur des périodes séquentielles de quatre, huit et treize semaines afin de mieux suivre l'évolution des effets, pour ensuite évaluer l'importance de la durée de l'exposition sur la toxicité du sulfate de nickel et sur sa bioaccumulation.

4.1 Croissance corporelle

Nous avons observé une diminution du poids des rats qui ont reçu le sulfate de nickel par rapport au groupe contrôle après deux semaines d'exposition (tableau I). Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec une administration orale de 100 mg/kg/j de chlorure de nickel hexahydrate par gavage dans l'eau distillée chez les rats Sprague-Dawley pendant 90 jours (BIBRA, 1992). Par contre, à quatre, huit et à treize semaines d'exposition, nous remarquons qu'il n'existe pas de différence significative dans la croissance corporelle (tableau XI, XIX et XXIX). Donc, ici la durée et la dose ne sont pas suffisantes pour induire un déséquilibre prononcé dans la croissance corporelle.

4.2 Évaluation de la néphrotoxicité du sulfate de nickel

La néphrotoxicité due à l'exposition de l'humain et l'animal au nickel n'a pas encore été bien étudiée. Mais Sunderman *et al.* (1961) ont observé des lésions pathologiques au niveau des tubules et des glomérules chez les rats exposés au carbonyle de nickel.

Nous avons donc estimé la toxicité sur le système rénal en analysant toute une batterie de paramètres reconnus. Le choix de ces paramètres repose d'abord sur le manque d'informations disponibles concernant la néphrotoxicité du sulfate de nickel et sur l'hétérogénéité du rein aussi bien structurelle que fonctionnelle. À cet effet la spécificité des paramètres impliqués dans la fonction spécifique d'une structure spécifique est importante, c'est-à-dire que les segments glomérulaires ont une fonction qui leur est propre et il existe des paramètres qui sont des indicateurs de l'altération de cette fonction. Les segments tubulaires ont aussi leurs fonctions spécifiques et chaque fonction a son indicateur spécifique à son altération. Deux de ces paramètres sont moins spécifiques, mais aussi importants par rapport aux autres, à savoir le volume d'urine excrétée et le poids relatif des reins.

a. Paramètres moins spécifiques

Les résultats obtenus lors de l'analyse du poids relatif des reins après deux, huit et treize semaines d'exposition montrent une augmentation du poids des reins par rapport aux contrôles suggérant des lésions rénales. Ces mêmes effets ont été observés par Ambrose et al. (1976), Dieter et al. (1988) après une exposition chronique via la voie orale au sulfate de nickel chez les rats. Kinkead et al. (1990) et D.R. Klonne et al. (1993) ont observé les mêmes effets sur ce paramètre par inhalation de polychlorotrifluoroéthylène et des aérosols d'oxyde d'éthylène/de propylène respectivement. Cette augmentation du poids des reins a été aussi observée par Vyskocil et al. (1994) chez les rats exposés oralement par l'eau de consommation à 100 mg/L de NiSO₄ pendant six mois. La durée d'exposition est donc importante pour induire des perturbations dans le poids des organes, car aucun changement du poids relatif des reins n'avait été observé à quatre semaines, alors qu'à huit semaines on observait déjà cette augmentation. Les doses doivent aussi être faibles pour induire des perturbations importantes au niveau du poids des reins, puisqu'à deux semaines on observait une augmentation de ce facteur.

L'anurie ou l'oligo-urie observée dans toutes les différentes conditions d'exposition suggère la présence de dommages tubulaires avec un oedème interstitiel simultané et la présence de débris dans la lumière. Cela peut aussi suggérer des perturbations dans la capacité du rein à concentrer les urines. Le volume urinaire peut aussi nous permettre d'évaluer une perturbation de la fonction rénale, bien que ce paramètre soit un indicateur précoce et très facile pour évaluer l'intégrité de la réabsorption tubulaire. Cette relation entre le volume urinaire et l'intégrité de la réabsorption tubulaire s'expliquerait par le processus de concentration des urines qui se produit au niveau des tubules de façon concomitante avec la réabsorption d'eau, et l'urine étant la principale voie d'excrétion du nickel. De plus, le rein a un grand flux sanguin, il concentre les toxiques dans le filtrat, les transporte à travers les cellules tubulaires. Ainsi une administration d'un néphrotoxique aura pour effet de provoquer soit une perte de la capacité de concentrer l'urine entraînant une polyurie, soit

une augmentation de cette capacité de concentration du rein en entraînant une anurie avec la présence d'un oedème interstitiel concomitant avec la présence de débris ou de sédiments intraluminaux (Lu, 1991). Ces variations semblent être des indices de dommages rénaux, mais ces paramètres ne suffisent pas pour conclure la présence de ces dommages. D'où la nécessité d'ajouter d'autres paramètres à notre étude.

b. Paramètres spécifiques au segment glomérulaire

L'évaluation du taux d'azote uréique sérique (BUN) et les protéines urinaires constitue l'un des tests les plus communément utilisés pour évaluer l'intégrité de la fonction glomérulaire.

L'analyse de la quantité de protéines totales dans l'urine des rats après deux, quatre et treize semaines d'exposition par voie orale au sulfate de nickel montre une stabilité de la concentration de protéines totales dans les urines, par contre une diminution de ces dernières est observée à huit semaines. Klonne et al. (1993) ont observé contrairement à nous, une diminution de la quantité de protéines excrétées dans l'urine après une inhalation des aérosols d'oxyde d'éthylène/de propylène. Or, généralement, lors d'une atteinte des glomérules, on observe une augmentation de la quantité de protéines excrétées dans l'urine, mais dans notre cas nous observons une stabilité et une baisse de protéine dans l'urine.

L'analyse des protéines dans l'urine est une méthode facile, mais une hyperprotéinurie ou une hypoprotéinurie ne nous permet pas de localiser le site de la lésion dans le rein. Car, les protéines de faibles poids moléculaires qui sont filtrées à travers la barrière glomérulaire peuvent être réabsorbées au niveau du tubule proximal, et par conséquent leur augmentation dans l'urine peut être due soit à la perte de la filtration glomérulaire soit à la perte de la réabsorption tubulaire (Smith et Hook, 1982). Le sulfate de nickel affecte donc l'intégrité des glomérules.

L'évaluation du taux d'azote uréique sérique (BUN) montre son augmentation à deux et à huit semaines, sa stabilité à quatre semaines et sa diminution à treize semaines dans le plasma des rats exposés. Cette augmentation de BUN a été aussi observée par Kinkead et al. (1990) qui ont rapporté une augmentation du taux de BUN dans le plasma par inhalation des doses

élevées de polychlorotrifluoroéthylène. Cette augmentation du taux de BUN dans le sang indique une perturbation de la filtration glomérulaire, et ces fluctuations sont d'autant plus importantes lorsque le rein subit des dommages très sévères (Kluwe, 1981). La stabilité de BUN nous laisse penser qu'il n'y a pas de perturbation de la filtration glomérulaire. Ces changements peuvent aussi résulter de la dysfonction de la réabsorption tubulaire et du dommage des glomérules, cependant le niveau de BUN dans le sang peut être aussi affecté par une nutrition ou par une hépatotoxicité. Encore une fois, les facteurs dose et durée rentrent en ligne de compte. De plus, l'augmentation de BUN s'avère directement liée à une diminution de la filtration glomérulaire, ce qui est susceptible de réduire la charge de protéines filtrées pouvant résulter en une diminution du taux d'excrétion urinaire de protéines. En d'autres termes, le sulfate de nickel peut entraîner une atteinte rénale sévère des glomérules sans toute fois provoquer une augmentation du taux de protéines dans l'urine, car les animaux filtrent des volumes moins importants de plasma. De plus, nous supposons que cette chute de protéines excrétées dans l'urine est due à la réabsorption tubulaire des protéines ou à la tolérance au sulfate de nickel. Car la toxicité glomérulaire du nickel a été prouvée réversible par Gitlitz *et al.* (1945) qui ont observé une protéinurie significative durant les deux premiers jours d'exposition parentérale des rats au NiCl_2 (34 $\mu\text{mol/kg}$ de poids corporel) et qui a chuté les derniers jours de l'exposition. Ces mêmes observations supportent les effets directs réversibles du nickel sur le glomérule comme étant la plus préminente manifestation de faibles doses d'exposition de nickel (Sunderman et Horak, 1981). Par contre l'augmentation de BUN nous permet de dire qu'il y a une atteinte de la fonction glomérulaire.

c. Paramètres spécifiques au segment tubulaire

Ce segment est caractérisé par ses multiples fonctions, il peut se répartir en trois segments (S1, S2, S3) et parmi ces fonctions nous avons particulièrement la sécrétion et la réabsorption. Dans notre étude, la fonction sécrétrice n'a pas été élucidée. nous nous sommes limités à la réabsorption tubulaire qui a été évaluée en dosant le glucose dans l'urine. Nous avons observé une augmentation de glucose dans l'urine à deux et à quatre semaines et stabilité à huit semaines suivie d'une diminution significative à treize semaines

sans la présence d'une hyperglycémie, cela indique une dysfonction tubulaire, car le glucose qui se retrouve dans le filtrat glomérulaire est totalement réabsorbé dans les tubules (Lu, 1991).

Le dosage urinaire de l'activité de N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) et de l'activité de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) a été faite pour compléter l'étude de la toxicité rénale. Ces enzymes (NAG et γ -GT) sont localisées dans les tubules proximaux, mais le NAG qui est un des indicateurs les plus sensibles de la toxicité rénale permettant d'identifier les altérations tubulaires, se trouverait surtout au niveau des lysosomes et le γ -GT se trouverait plutôt dans la bordure en brosse, la zone vulnérable à l'atteinte toxique (Hook, 1981; Braun *et al.*, 1978). Les résultats obtenus montrent que le sulfate de nickel ne perturbe pas de façon importante l'activité urinaire de NAG et de celle de γ -GT sauf à treize semaines où l'activité urinaire de N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) est augmentée significativement pendant que celle de γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) est restée stable. Donc il y a atteinte de l'intégrité des tubules. Ces résultats sont compatibles avec ceux trouvés par Gitlitz *et al.* (1975). La stabilité de γ -GT et de NAG au lieu d'une augmentation normalement observée lors d'une atteinte rénale, peut s'expliquer d'une part, par le fait qu'une augmentation de l'excrétion de NAG ou de γ -GT est généralement associée à un dommage mineur des tubules rénaux (Nieboer *et al.*, 1992). La bordure en brosse n'est pas perturbée, mais on peut sous entendre que le nickel a plus d'affinité à se lier aux lysosomes et que les doses et les conditions d'exposition ne sont pas importantes pour induire des dommages dans les tubules rénaux, bien qu'on observe des dommages au niveau des glomérules. D'autre part, le nickel inhiberait l'activité de NAG, car il se lie communément à une variété de molécules structurales telles que les acides nucléiques, les protéines et leurs constituants (nucléotides, peptides, acides aminés etc.). Leur site de liaison se situe au niveau des groupements sulfures, azotés, aminés, amides, phosphates et groupement carboxyle.

4.3 Évaluation de l'hépatotoxicité du sulfate de nickel

L'évaluation de l'hépatotoxicité n'a pas été effectuée en profondeur, car nous nous sommes limités sur la mesure du poids relatif du foie et de l'activité de GPT dans le plasma qui est un bon indicateur de perturbations au niveau hépatique. Nous avons observé une diminution significative du poids relatif du foie à deux, à huit et à treize semaines alors qu'il est resté stable à quatre semaines. L'activité de GPT diminue significativement à deux et à treize semaines et reste stable à quatre et à huit semaines. Cela suggère une atteinte hépatique probable, quoi qu'il n'y a pas eu normalement une augmentation de GPT. Cette diminution peut être due à l'action directe du sulfate de nickel sur l'enzyme par sa liaison avec le groupement amine, car la majeure action des métaux est l'inhibition des enzymes, et le foie est l'organe de la biotransformation et de la bioactivation des toxiques. Le sulfate de nickel exercerait des effets mineurs ou silencieux dans le foie, et que les doses ne sont pas suffisantes pour que ces effets soient bien visibles.

4.4 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système pulmonaire

a. Le poids relatif des poumons

L'augmentation du poids relatif des poumons tel qu'observé après deux et treize semaines d'exposition suggère une congestion des vaisseaux, un oedème ou une prolifération du tissu conjonctif (Lu, 1991). La stabilité du poids relatif des poumons est observée à quatre et à huit semaines d'exposition. Cette stabilité semble être due à une tolérance ou à la réversibilité des effets du sulfate de nickel après une administration orale, car les dommages pulmonaires sont souvent accompagnés d'un oedème.

b. Étude des paramètres mesurés dans le LLBA

La toxicité du sulfate de nickel sur le système respiratoire a été évaluée en faisant un lavage bronchoalvéolaire. Les résultats montrent une diminution de ALP à deux, à quatre, à huit et à treize semaines et une stabilité de ACP et de LDH à quatre et à treize semaines, une diminution de ACP avec une stabilité de LDH dans le LLBA à huit semaines et une diminution de LDH à deux semaines d'exposition. Ces résultats sont en désaccord avec ceux

de Benson et al. (1988 et 1989), Dunnick et al. (1988 et 1989) qui ont observé une augmentation de ALP et de LDH dans le LLBA chez les rats exposés par inhalation à 0-60 mg/m³ pendant 1 ou 7 jours et à 0-0,4 mg/m³ de NiSO₄.6H₂O pendant 13 semaines. Aussi Mathur et al.(1988) ont observé une augmentation très significative de ALP et de ACP chez les rats exposés oralement dans l'eau à 0-50 mg/kg de NiSO₄.6H₂O pendant 7 ou 14 jours. Mais nos résultats concordent avec ceux de Benson et al. (1995) qui ont observé une diminution de ALP dans le LLBA des rats F344/N exposés chroniquement au Ni₃S₂.

On observe aussi une augmentation significative ($p \leq 0,05$) des protéines totales dans le LLBA après deux et quatre semaines d'exposition, alors qu'elles sont restées inchangées à huit et à treize semaines d'exposition. Cette augmentation de la quantité de protéines totales dans le LLBA concorde avec les résultats de Benson et al. (1988 et 1989), Dunnick et al. (1988 et 1989) et de Mathur et al.(1988).

Cette discordance des résultats peut s'expliquer par le fait que la durée et la voie d'exposition ainsi que la dose qui sont les facteurs importants dans la toxicité du sulfate de nickel ne sont pas les mêmes. D'autre part, cette diminution de l'activité de ALP dans le LLBA pourrait être spécifique à l'exposition du nickel, car Henderson et al.(1979) ont observé une augmentation de l'activité de ALP dans le LLBA. De plus cette diminution de ALP peut s'expliquer par le fait que ALP serait un marqueur sélectif des cellules de type II. C'est dû probablement aux changements fonctionnels des cellules de type II (Hirano et al., 1994). Bien qu'il ait été prouvé que le nickel sulfate n'inhibe pas directement l'activité de ALP par Hirano et al. (1994), l'hypothèse selon laquelle le nickel inhiberait l'activité de ALP ou d'autres enzymes n'est pas à redouter. Ces résultats laissent sous entendre que le nickel ne perturbe pas la perméabilité membranaire, mais qu'il aurait une action directe sur l'enzyme elle même, soit par l'inhibition de leur synthèse, de leur cofacteur métallique, ou par son interaction avec le groupe sulfure SH (Lu, 1991). Car s'il y avait une perturbation de la perméabilité des membranes sans inhibition de l'enzyme, on devait observer une augmentation de ces enzymes dans le liquide de lavage.

c. Étude des paramètres mesurés dans le tissu pulmonaire

Une diminution significative de l'activité de ALP, de ACP et de LDH à deux semaines d'exposition, une diminution de ALP avec des changements non significatifs de l'activité de ACP et de LDH à quatre semaines, des fluctuations plus ou moins importantes de ALP, ACP et de LDH à huit semaines, et une diminution de ALP avec une augmentation de LDH suivie d'une stabilité de ACP à treize semaines ont été observées dans le tissu pulmonaire. Ces résultats suggèrent une atteinte de la membrane plasmique des cellules épithéliales de type I et II, une augmentation de la perméabilité membranaire ou rupture des cellules. Il y a eu, en d'autres termes, une stimulation de la sécrétion de surfactant ou de la croissance intracellulaire de la synthèse des surfactants par le pneumocytes de type I et II et leur sécrétion dans la cavité alvéolaire. Mais une perturbation de l'activité de ACP dans le tissu pulmonaire peut être aussi provoquée par les leucocytes polymorphonuclées durant la phagocytose et par les macrophages, ou bien par la mort ou des dommages de ces cellules phagocytaires (Henderson et al., 1979). Le dommage des cellules alvéolaires de type II serait due à la peroxydation des lipides (Manca et al. (1991). La stabilité de l'activité de LDH dans le tissu pulmonaire laisse penser une absence de perturbation de la perméabilité membranaire ou de la rupture des cellules. Mais une augmentation de LDH dans le poumon suggère une perturbation de la perméabilité membranaire ou rupture des cellules. L'activité de ACP non influencée dans le tissu pulmonaire suppose que les cellules épithéliales de type I sont moins sensibles à ces conditions d'exposition.

On observe aussi une stabilité de la quantité de protéines totales dans le tissu pulmonaire à deux, à huit et à treize semaines d'exposition, et une diminution significative de cette dernière ($p \leq 0,05$ à $0,02\%$) à quatre semaines. Les fluctuations non importantes de protéines totales dans le LLBA et une diminution dans le tissu entraîne une réponse inflammatoire des macrophage alvéolaires. Ces protéines totales peuvent aussi indiquer le dommage de la barrière capillaire-alvéole. Cette réponse inflammatoire a été rapportée par Henderson et al. (1979 et 1985), Dunnick et al. (1988, 1989), Benson et al. (1988 et 1989),

bien que les voies d'exposition et les doses ne soient pas comparables. De plus, les changements observés dans la quantité de protéines pulmonaires peuvent être dus à la prolifération de la synthèse de protéines spécifiques telles que la métallothionine (Martin et al., 1985).

4.5 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur les testicules

On n'observe aucun changement significatif dans l'activité testiculaire des enzymes ALP, ACP et de LDH après huit et treize semaines d'exposition, par contre on observe une diminution de LDH sans une différence significative de ACP et de ALP à deux et à quatre semaines. Cela suppose que les doses, les conditions d'exposition et plus particulièrement la voie d'administration ne sont pas adéquates ou importantes pour induire une toxicité sur l'appareil génital mâle des rats. De plus, le poids relatif des testicules est resté inchangé à quatre, huit et à treize semaines d'exposition tandis qu'il augmente à deux semaines. La quantité de protéines totales est restée inchangée dans toutes les conditions d'exposition. Le sulfate de nickel n'induit donc pas une destruction des cellules épithéliales de type I et II des tubules séminifères, mais plutôt des perturbations dans la perméabilité cellulaire ou rupture des cellules des tubules séminifères. Ceci est en accord avec les études de Mathur et al. (1977a et 1977b).

4.6 Évaluation de la toxicité du sulfate de nickel sur le système immunitaire

Les résultats obtenus montrent que le sulfate de nickel induit une stimulation importante des lymphocytes T et B à des doses sub-chroniques, ce qui pourrait être dû à un déséquilibre dans la production de cytokines ou à l'induction de nouveaux antigènes au niveau des cellules non identifiées, responsables de façon indirecte, de la stimulation immunitaire observée. Cette seconde hypothèse serait compatible avec l'apparition de désordres auto-immunitaires à long terme. Zeromski et al. (1995) ont aussi observé une diminution de NK, CD4⁺ et de la fonction cytotoxique naturelle des mononuclées dans le sang périphérique des humains sains *in vitro*. De plus, il a été démontré que le sulfate de nickel induit une cytotoxicité dans les macrophages alvéolaires et dans les cellules épithéliales, une

augmentation chronique de la réponse inflammatoire, des fibroses, de la protéinose alvéolaire, de l'emphysème et du cancer chez les rats et souris exposés à 0-60 mg/m³ de NiSO₄.6H₂O pendant un ou 7 jours par inhalation (Bingham et al., 1972; Mastromatteo, 1967; Benson et al., 1987 et 1988; Dunnick et al., 1988), et à 0- 0,4 mg/m³ (6 h/j 5j/semaine) (Benson et al., 1986; Dunnick et al., 1987). Ici encore on remarque l'importance de la voie d'administration dans l'interprétation des résultats obtenus.

4.7 Autres toxicités

Une augmentation du poids relatif du coeur et du cerveau est observée à deux semaines et une augmentation du poids relatif du cerveau avec une stabilité de celui du coeur est observée à treize semaines, par contre, aucun changement significatif du poids relatif du coeur et du cerveau n'est observé à quatre et à huit semaines. Les fluctuations observées dans le poids relatif du coeur et du cerveau nous laisse prédire une atteinte dans l'intégrité fonctionnelle de ces organes ou un oedème. De plus la diminution du pourcentage d'hématocrite montre une atteinte du système hématopoïétique. Le pourcentage d'hématocrite baisse à quatre mais reste stable à huit et à treize semaines. Donc il y a eu un effet réversible dans le système hématopoïétique.

Aucun changement significatif n'a été observé dans l'étude histologique, cela laisse entendre que les dommages induits ne sont pas sévères pour être observés au microscope.

L'exposition subchronique au sulfate de nickel par la voie orale via l'eau de consommation induit des lésions dans le rein, le poumon, le système immunitaire (la rate). Le rein, le poumon et la rate constituent les organes les plus susceptibles ainsi que le système hématopoïétique. Et le fait de ne pas avoir observé des changements significatifs dans toutes les études histologiques démontre que les dommages observés sont mineurs ou silencieux.

4.8 Récapitulation de la toxicité sub-chronique du sulfate de nickel

Toxicité rénale

De façon générale, les paramètres NAG et β -GT n'ont pas varié significativement à cause de l'exposition. Du moins, on observait lorsqu'une variation survenait, une légère diminution de ces paramètres sous les deux conditions d'exposition, sauf à treize semaines où l'on a observé une augmentation de NAG. Seuls le poids relatif des reins, les protéines et le volume urinaires ainsi que le BUN variaient significativement par rapport au contrôle. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les lésions rénales dues à des administrations répétées des substances chimiques ne vont varier que lorsque les dommages sont très importants (Gilman, 1964). C'est pourquoi ces différentes lésions sont souvent appelées « lésions silencieuses ». Le rein serait de même adapté à des administrations répétées de la substance toxique (Kluwe, 1981), c'est-à-dire que la réponse rénale à une exposition subchronique peut entraîner une réponse réversible ou une tolérance. La fluctuation du glucose dans le sang pourrait être considérée comme étant causée par l'action directe du nickel sur les îlots de Langerhans malgré que celle de l'extra-pancréatique est tenue en compte. Le nickel endommage les cellules α et β . Les fluctuations observées lors de cette expérience pourraient revenir à la normale après un certain temps. Ce phénomène pourrait expliquer les résultats que nous avons obtenus pour β -GT. C'est pourquoi nous avons ajouté l'étude histologique qui, hélas, n'a rien révélé de pertinent. Nous remarquons que les résultats que nous avons obtenus montrent une diminution de BUN alors que la majorité des études qui ont analysé ce paramètre démontrent son augmentation dans le plasma.

Le sulfate de nickel induit donc des effets toxiques sur le système rénal. La susceptibilité du rein dans la toxicologie du sulfate de nickel semble être due au fait que le nickel est principalement excrété par l'urine, et que le rein constitue un des organes les plus complexes et les plus dynamiques, impliqué dans le maintien de la composition et du volume des différents fluides corporels et dans le maintien de l'homéostasie. De plus, le rein est sujet à recevoir, entre autres les déchets toxiques, les différents métabolites actifs provenant de la biotransformation de leurs substances mères dans le foie. Il contient également des systèmes enzymatiques actifs pouvant métaboliser de nombreuses substances chimiques et toxiques en

enzymatiques actifs pouvant métaboliser de nombreuses substances chimiques et toxiques en les rendant soit inactives ou actives. Ces substances actives peuvent à leur tour nuire le rein. La masse totale des reins ne représente que 1% du poids corporel de l'organisme, mais malgré ce faible pourcentage, les reins reçoivent à eux seuls, plus de 25% du débit cardiaque. Ainsi, les cellules rénales sont exposées à des quantités de substances chimiques ou toxiques relativement plus élevées par rapport aux autres cellules. Les reins ont donc l'habileté de concentrer les substances toxiques à cause de leur fonction de filtration, de réabsorption, de sécrétion et d'élimination.

Toxicité pulmonaire

Les résultats obtenus subchroniquement, montrent une diminution de l'activité des enzymes ALP, ACP et LDH dans le LLBA comme dans le tissu de poumon, alors que la majorité des études qui ont analysé ces paramètres témoignent d'une augmentation de ces enzymes dans le LLBA pendant qu'elles diminuent dans le tissu. On suppose que le sulfate de nickel a inhibé l'activité de ces enzymes dans le LLBA de façon directe, bien que Hirano *et al.* (1994) n'aient prouvé que le nickel sulfate n'inhibe pas directement l'activité de ALP. Le nickel pourrait aussi inhiber des fractions enzymatiques par l'inhibition de leur synthèse ou à travers le déplacement de leur cofacteur métallique qui leur est essentiel, ou par son interaction avec le groupe sulfure SH de ces enzymes (Lu, 1991). Le nickel n'affecte pas l'intégrité des membranes cellulaires, mais affecte spécialement le métabolisme cellulaire de l'oxygène, c'est-à-dire qu'il affecte spécialement la libération de l'oxygène actif des macrophages alvéolaires, qui n'est pas libéré par la détérioration générale dans la viabilité des cellules. Il inhibe la consommation de l'oxygène dans les macrophages alvéolaires durant l'exposition (Castranova *et al.*, 1980). Ces résultats peuvent aussi s'expliquer par la voie d'administration, car la plupart des études sur la toxicité pulmonaire du nickel ont été faites par inhalation. Or, l'administration orale est souvent accompagnée d'effet de premier passage dans le foie et le tractus intestinal semble bloquer ou limiter l'absorption à cause de la présence des agents chélateurs.

Toxicité dans les testicules

La stabilité des protéines dans l'homogénéisation des cellules testiculaires peut s'expliquer par le manque de processus inflammatoire. Et la diminution non significative des activités enzymatiques peut s'expliquer par la possibilité de la prolifération des cellules de types I et II des tubules séminifères.

Hépatotoxicité

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'hépatotoxicité sont moins sévères que ceux rencontrés dans le rein. Cela s'explique par le fait que les toxiques sont distribués, ou absorbés dans les différentes zones ou dans les différents organes de l'organisme avant d'être éliminés. Mais il arrive qu'ils subissent une biotransformation dans les organes et les tissus dont le principal est le foie. Cette biotransformation conduit à la conversion de la molécule mère en métabolites et ultérieurement en dérivés conjugués. Ceux-ci sont généralement hydrosolubles et plus polaires, donc plus faciles à être éliminés.

Toxicité du système immunitaire

Ces résultats montrent que le sulfate de nickel exerce un effet suppressif du système immunitaire. Les résultats similaires ont été observés par (Zeromski et Jezewska, 1995; Zeromski et al., 1995; Haley et al., 1990). De plus, la proliférations des lymphocytes à la suite d'une exposition au sulfate de nickel a été aussi observée dans les noeuds lymphatiques par Boussiquet et al. (1995) et par Sikora et Zeromski (1995). Mais l'augmentation des CD4, CD8 et du ratio CD4/CD8 à 0,1% (deux semaines d'exposition), à 0,02 et à 0,05%, et le fait qu'ils reviennent à la normale à 0,1% dans l'exposition de huit semaines montrent un effet de tolérance. Il a été prouvé qu'une injection du sulfate de nickel est suivie d'un phénomène de tolérance ou de la sensibilité du système immunitaire (Mowat, 1987),. De plus, il a été démontré que l'administration orale ou intragastrique des doses non toxiques du sulfate de nickel dans l'eau de consommation chez les souris entraîne le développement d'un type d'hyposensibilité qui pourrait être transféré par les cellules CD8⁺ , et

d'hypersensibilité qui est supprimée ou éliminée en fonction de la dose. Cette hypersensibilité serait médiée par les antigènes spécifiques ou par les cellules.

L'induction de la tolérance orale de l'immunité systémique humorale a été bien décrite. Ainsi, elle n'affecte pas les IgA. Le rôle biologique de la tolérance orale pouvait être lié dans la prévention des réactions allergiques dû à la nourriture (Mowat, 1987), car c'est tout dernièrement que le pouvoir thérapeutique potentiel de l'induction de la tolérance orale immunitaire a été appréciée. Le mécanisme fondamental de cette tolérance orale est encore mal compris. Le facteur compliquant est que la tolérance orale peut affecter la fonction effectrice de l'immunité systémique cellulaire indépendamment des fonctions immunes du système de l'immunité humorale (Van Hoogstraten *et al.*, 1993). Ceci implique que les mécanismes immunoactivateurs et immunosuppresseurs peuvent être opérés simultanément. D'autres mécanismes immunorégulateurs ont été impliqués dans l'induction de la tolérance orale; c'est le cas du développement des anticorps anti-idiotypique et les complexes immunes (Van Hoogstraten *et al.*, 1993). Les auteurs montrent que la tolérance orale de la sensibilité du NiSO_4 peut être transférée par CD8^+ en compagnie de l'autre évidence pour le rôle des cellules T activées (Mowat, 1987). Il est possible que les CD8^+ soient impliquées dans l'induction de la tolérance orale de l'immunité cellulaire pour les autres antigènes. Aussi, la persistance de la tolérance orale est une indication de l'implication des cellules plutôt que les facteurs (Van Hoogstraten *et al.*, 1993).

4.9 Étude sub-chronique de la bioaccumulation du sulfate de nickel

L'augmentation de la quantité de nickel dans le rein peut s'expliquer par le fait que le nickel s'élimine principalement dans l'urine après une administration orale dans l'eau. Nos résultats concordent avec ceux de Valentine et Fisher (1984) qui ont détecté une grande concentration de nickel dans le rein après une instillation intratrachéale de Ni_3S_2 . Par contre les résultats rapportés par Santucci (1994) démontrent qu'une diminution de la concentration de nickel dans le sérum est suivie d'une augmentation dans l'urine. Et une exposition prolongée au NiSO_4 de façon orale dans l'eau réduit l'absorption intestinale et

active l'excrétion rénale stimulant ainsi la mobilisation des éléments accumulés. De plus, plus les doses administrées augmentent, plus l'absorption du nickel diminue. Cette réduction de l'absorption pourrait être due à la modification du tractus intestinale. Il a été aussi démontré qu'une administration orale par gavage au NiCl_2 est suivie d'une élimination dans les selles et une partie de la quantité de nickel absorbée est rapidement éliminée dans l'urine (Santucci *et al.*, 1990a et 1990b). Les études faites par la radioactivité montrent que le nickel est rapidement éliminé dans l'urine et qu'aucune accumulation n'est observée dans aucun organe (Smithe et Hackley, 1968). L'administration orale du sulfate de nickel dans l'eau réduit l'absorption gastro-intestinale et augmente l'excrétion rénale contrairement lorsque ingéré dans la nourriture (Sunderman *et al.*, 1989; Santucci, 1994). L'accumulation du nickel est différente en fonction de la durée d'exposition et de l'espèce animale, c'est pourquoi nos résultats diffèrent de ceux de Severa *et al.* (1995) qui ont montré une accumulation de nickel (NiSO_4) dans le foie > rein = sang total = sérum > testicule > urine chez les rats mâles Wistar exposés oralement dans l'eau au NiSO_4 pendant 6 mois.

Donc il n'est pas surprenant de voir une diminution de la concentration de nickel dans les organes au fur et à mesure que la dose et la durée augmentent et que le rein soit l'organe qui accumule beaucoup plus de nickel en même temps que la dose augmente. De plus une exposition sub-chronique par la voie orale dans l'eau est suivie d'un effet de tolérance ou d'un effet réversible. Enfin, le sulfate de nickel est un composé très soluble dans l'eau, donc il s'élimine presque totalement après une ingestion orale dans l'eau.

Chapitre 5

CONCLUSION

Nous pouvons donc dire que l'exposition au sulfate de nickel peut produire des lésions rénales et les doses de nickel peuvent entraîner une excrétion urinaire des niveaux élevés d'enzymes cytosoliques rénaux. Le temps mis pour excréter ces enzymes concorde avec les dommages observés dans le rein. Cependant, l'atteinte rénale n'a aucun effet sur l'excrétion urinaire du nickel, lorsque comparée à celle observée aux doses non néphrotoxiques.

Les études sub-chroniques nous ont montré que l'exposition orale à des doses de sulfate de nickel n'avait que très peu d'effet chez le rat dans nos conditions expérimentales et sur nos indicateurs de toxicité bien que les résultats obtenus nous aient démontré des dommages moins sévères ou des dommages silencieux dans le système rénal, pulmonaire et immunitaire et l'exposition prolongée au sulfate de nickel par voie orale via l'eau réduit l'absorption intestinale et active l'excrétion rénale en stimulant ainsi la mobilisation des éléments. Le nickel s'accumulerait en fonction de la dose et de la durée d'exposition. De plus, l'exposition au sulfate de nickel par l'eau de consommation n'entraîne pas une accumulation importante dans les organes, mais plutôt une grande élimination dans les urine. Elle induit aussi une tolérance ou un développement d'un type d'hypersensibilité retardée qui est supprimée ou disparaît à des doses croissantes et une hyposensibilité qui pourrait être observée dans les cellules CD4⁺. L'affinité du nickel à se lier aux constituants biologiques est fonction de la dose et de la durée d'exposition. Le potentiel néphrotoxique semble être plus important par rapport aux autres organes. L'exposition orale au sulfate de nickel dans l'eau ne provoque pas de dommages très sévères dans les différents organes, car les études histologiques n'ont rien révélé de significatif. Le rein serait de même adapté à des administrations répétées de la substance toxique, c'est-à-dire que la réponse rénale à une exposition subchronique peut entraîner une réponse réversible ou une tolérance. L'accumulation semble être en relation avec la toxicité. C'est-à-dire que la toxicité et la bioaccumulation du sulfate de nickel vont de paire.

Pour mieux apprécier les effets de la spéciation du nickel sur sa toxicité et sur sa bioaccumulation, il faudrait exposer les rats dans les mêmes conditions aux autres composés de nickel. Toutefois, on peut prédire une toxicité plus sévère et une bioaccumulation plus

importante pour les composés insolubles, car les composés hydrosolubles comme le sulfate de nickel sont rapidement éliminés.

Cette étude devrait améliorer notre connaissance sur le risque toxique associé au NiSO_4 susceptible d'être rencontré en milieu professionnel et non-professionnel et dans l'environnement.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE:

Amador, E., Dorfman, L.E. and Wacker, W.E.C. 1963. Serum lactatic dehydrogenase: An analytic assessment of current assays. Clin.Chem. **9**:391.

Ambrose, A.M., Larson, P.S., Borzelleca, J.R. and Henniga, G.R.Jr. 1976. Long-term toxicologic assessment of nickel in rats and dogs. J. Food. Technol. **13**: 181-187.

Anke, M.,Groppel, B., Kronemann,H. And Grun, M. 1984. Nickel an essential element. In: Nickel in the human environment, Proceedings of a Joint Symposium, Lyon, France, 8-11 March, 1983, Lyon, International Agency for Research on Canccer, IARC Scientific Publications. **53** : 339-365.

Asato, N., Van Soestbergen, M. And Sunderman, F.W.Jr. 1975. Binding of ⁶³Ni(II) to ultrafilterable constituents of rabbit serum *in vivo* and *in vitro*. Clin. Chem. **21**: 521-527.

Benson, J. M., Cheng, Y-S., Eidson, A.F., Hahn, F.F., Henderson, F.R., and Pickrell, J.A. 1995. Pulmonary toxicity of nickel subsulfide in F344/N rats exposed for 1-22 days. Toxicology. **103**: 9-22.

Benson, J. M., Burt, D.G., Carpenter, R.L., Eidson, A.F., Hahn, F.F., Haley, P.J., Hanson, R.L., Hobbs, C.H., Pickrell, J.A. and Dunnick, J.K. 1988. Comparative inhalation toxicity of nickel sulfate to F344/N rats and B6C3F1 mice exposed for twelve days. Fund. Appl. Toxicol. **10**: 164-178.

Benson, J. M., Burt, D.G., Cheng,Y.S., Hahn, F.F., Haley, P.J., Henderson, R.F., Hobbs, C.H., Pickrell, J.A. and Dunnick, J.K. 1989. Biochemical responses of rat and mouce lung to inhaled nickel compounds.Toxicology. **57**: 255-266.

Benson, J. M., Burt, D.G., Carpenter, R.L., Eidson, A.F., Hahn, F.F., Haley, P.J., Hanson, R.L., Hobbs, C.H., Pickrell, J.A. and Dunnick, J.K. 1987. Comparative inhalation toxicity of nickel subsulfide to F344/N rats and B6C3F1 mice exposed for twelve days. Fund. Appl. Toxicol. **9**: 251-265.

Benson, J. M., Henderson, R.F., McClellan, R.O., Hanson, R.L. and Rebar, A.H.1986. Comparative acute toxicity of four nickel compounds to F344/N rats lung. Fund. Appl.Toxicol. **7**: 340-347.

Bingham, E., Barkley, W., Zerwas, M., Stemmer, K. and taylor, P.1972. Response of alveolar macrophages to metals. Arch. Environ. Health **25**: 406-414.

BIBRA (British Industrial research Association toxicology Internal). 1992. Unpublished report prepared under contract for the Environmental Health Directorate, Department of National Health and Welfare Canada, Ottawa.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. **72**:248-254.

Braun, J.B., Rico, A.G., Bernard, P., Burgat-Sacaze, V., Eghbali, B. and Godfrain, J.C. 1978. La gamma-glutamyltransférase urinaire en toxicologie rénale chez le rat. Bases de son utilisation-intérêt lors de néphrite aiguë mercurielle. Toxicology. **11**: 73-82.

Boussiquet, L.C., Durand, C.G., Herlin, K. Holder, D. 1995. Evaluation of lymphocyte proliferation by immunohistochemistry in the local lymph node assay. J. Appl. Toxicol. **15**: 465-475.

Bowers, G.N.Jr. and McComb, R.B. 1966. A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. Clin. Chem. **12**: 70.

Carroll, J.J., Smith, N. and Babson, A.L. 1970. A colorimetric Serum Glucose Determination Using Hexokinase and Glucose-6-phosphate Dehydrogenase. Biochem. Med. **4**: 171-180.

Castranova, V., Bowman, L., reasor, M.J. and Miles, P.R. 1980. Effects of heavy metal ions on selected oxidative metabolic processes in rat alveolar macrophages. Toxicol. App. Pharmacol. **53**:14-23.

Chausmer, A.B. 1976. Measurement of exchangeable nickel in the rat. Nutr. Rep. Int. **14**: 323-326.

Clary, J.J. 1975. Nickel chloride-induced metabolic changes in the rat and guinea-pig. Toxicol. Appl. Pharmacol. **31**: 55-65.

Christie, N. T. 1989. The Synergistic Interaction of Ni (II) and DNA Damaging agents. Toxicol. Environ. Chem. **22**: 51-59.

Dierickx, P.J. 1981. Urinary Gamma Glutamyl Transferase as an indicator of Acute Nephrotoxicity in rats. Arch. Toxicol. **47**: 209-215.

Dieter, M.P., Jameson, C.W., Tucker, A.N., Luster, M.I., French, J.E., Hong, H.L. and Boorman, G.A. 1988. Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in drinking water. J. Toxicol. Environ. Health. **24**:357-372.

Dunnick, J.K., Benson, J.M., Hoobs, C.H., Hahn, F.F., Cheng, Y.S. and Eidson, A.F. 1988. Comparative toxicity of nickel oxide, nickel sulfate hexahydrate, and nickel subsulfide after 12 days of inhalation exposure to F344/N rats and B6C3F1 mice. Toxicology. **50**:145-156.

Dunnick, J.K., Elwell, M.R., Benson, J.M., Hobbs, C.H., Hahn, F.F., Haly, P.J., Cheng, Y.S. and Eidson, A.F. 1989. Lung toxicity after 13-week inhalation exposure to nickel oxide, nickel subsulfide, or nickel sulfate hexahydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice. Fund. Appl. Toxicol. **12**: 584-594.

FDRL (Food and Drug Research Laboratories). 1983. Acute oral LD₅₀ study in rats. FDRL study N0. 7684B (cited in UK HSE, 1987).

Friberg, L., Nordberg, G.F. and Vouk, V.B. 1986. Handbook on the Toxicology of metals. Second edition, volume II: Specific metals. Technical and administrative editor: Elisabeth Kessler, New York.

Fullerton, A., Anderson, J. R., Hoelgaard, A. and Menné, T. 1986. Permeation of nickel salts through human in vitro. Contact Dermatitis. **15**: 177-183.

Fullerton, A., Hoelgaard, A. and Menné, T. 1989. Patch testing with nickel chloride in hydrogel. Contact Dermatitis. **20**: 17-20.

Gilman, J.P.W. 1964. Analgesic nephrotoxicity: A pharmacological analysis (ed.) Amer. J. Med. **36**: 117-173.

Haley, P.J., Shopp, G.M., Benson, J.M., Cheng, Y.S., Bice, D.F., Luster, M.I., Dunnick, J.K. and Hobbs, C.H. 1990. The immunotoxicity of three nickel compounds following 13-week inhalation exposure in the mouse. Fund. Appl. Toxicol. **15**: 476-487.

Henderson, R.F., Rebar, A. H. and Denicola, D.B. 1979a. Early Damage Indicators in Lungs. III. Biochemical and Cytologic Response of the Lung to Lavage with Metals Salts. Toxicol. Appl. Pharmacol. **50**: 123-136.

Henderson, R.F., Rebar, A. H. and Denicola, D.B. 1979b. Early Damage Indicators in Lungs. IV. Biochemical and Cytologic Response of the Lung to Lavage with Metals Salts. Toxicol. Appl. Pharmacol. **51**: 129-135.

Henderson, R.F., Rebar, A. H., Denicola, D.B., Henderson, T.R. and Damon, E.G. 1981. The utilisation of pulmonary washings as a probe to detect lung injury. Chest. **80**: 12-15.

Henderson, R.F., Damon, E.G. and Henderson, T.R. 1978. Early Damage Indicators in Lungs. I. Lactate dehydrogenase activity in the airways. Toxicol. Appl. Pharmacol. **44**: 291-297.

Henderson, R.F., Benson, J.M., Hahn, F.F., Hoobs, C.H., Jones, R.K., Mauderly, J.L., McClellan, R.O. and Pickrell, J.A. 1985. New approaches for evaluation of pulmonary toxicity: Bronchoalveolar Lavage Fluid Analysis. Fund. Appl. Toxicol. **5**: 451-458.

Hirano, S., Shimada, T., Osugi, J., Kodama, N. and Suzuki, K.T. 1994. Pulmonary clearance and inflammatory potency of intratracheally instilled or acutely inhaled nickel sulfate in rats. Arch. Toxicol. **68**: 548-554.

Hook, J.B. 1981. Toxicology of kidney. Raven Press. New York. 276 pp.

Houk, R.S. 1986. Mass Spectrometry of Inductively Coupled Plasmas. Anal. Chem. **58**: 97-105.

Horak, E. and Sunderman, F. W. Jr. 1980. Nephrotoxicity of nickel carbonyl in rats. Ann. Clin. Lab. Sci. **10**: 425-431

IARC. 1990. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human. Volume 49. Chromium, Nickel and Welding. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

IPCS (International Programme on Chemical Safety). 1990 Environmental Health Criteria 108 Nickel. World Health Organization, Geneva, 1990.

IPCS (International Programme on Chemical Safety). 1991. Environmental Health Criteria 108 Nickel. World Health Organization, Geneva, 1991.

Itskova, A.I., Elakhovskaya, N.P., Kolbasova, O.V. et al. 1969. The toxicity of soluble nickel compounds taken by mouth. Pharmacol. Toxicol. **32**: 102-105

Kasprzak, K.S., Gabriel, P. and Jarczewska, K. 1983. Carcinogenicity of nickel (II) hydroxides and nickel (II) sulfate in Wistar rats and its relation to the in vitro dissolution rates. Carcinogenesis. **4**: 275-279.

Kinkead, E.R., Limmel, E.C., Wall, H.G., Conolly, R.B. and Kutzman, R.S. 1990. Subchronic inhalation studies on polychlorotrifluoroethylene (3.1 oil). Inhal. Toxicol. **2**: 433-451.

Klonne, D.R., Burleigh-Flayer, H.D., Dodd, D.E. and Losco, P.E. 1993. Acute and 2-week aerosol inhalation studies on 970 and 1700 molecular weight ethylene oxide/propylene oxide (EO/OP) polymers. Inhal. Toxicol. **5(2)**:189-201.

Kluwe, W.M. 1981. Renal function tests as indicators of kidney injury in subacute toxicity studies. Toxicol. Appl. Pharmacol. **57**:414-424.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. **193**: 265-275.

- Lu, F.C.** 1991. Basic Toxicology. Fundamentals, Target organs, and Risk Assessment. Second Edition, New York.
- Lucassen, M. And Sarkar, B.** 1979. Nickel (II)-binding constituents of human blood serum. J. Toxicol. Environ. Health. **5**: 897-905.
- Maibach, H.I. and Menné, T.** (Eds). 1989. Nickel in the skin: Immunology and Toxicology. CRC Press. Boca Raton, FL .
- Manca, D., Ricard, A.C., Trottier, B. and Chevalier, G.** 1991. Studies on lipid peroxidation in rat tissues following administration of low and moderate doses of cadmium chloride. Toxicology. **67**:303-323.
- Martin, F.M. and Witschi, M.P.** 1985. Cadmium induced lung injury: cells kinetics and long-term effects. Toxicol. Appl. Pharmacol. **80**:215-227.
- Maruhn, D.** 1976. Rapide Colorimetric Assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in Human urine. Clin. Chim. Acta. **73**: 453-461.
- Mastromatteo, E.** 1986. Nickel. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. **47**:589-601.
- Mastromatteo, E.** 1967. Yant memorial lecture: Nickel: A review of its occupational health aspects. J. Occup. Med. **9** (3):127-136.
- Mathur, A. K., Agarwal, C. , Singh, A. And Gupta, B. N.** 1988. Effect of sodium lauryl sulphate and nickel alone and in combination on the skin of guinea-pigs. Toxicol. Lett. **42**: 249-256.
- Mathur, A. K., Datta, K.K., Tandon, S.K.** and Dikshith, T.S.S. 1977a. Effect of nickel Sulfate on male rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **17**: 241-248.
- Mathur, A. K., Chandra, S. V.,Behari, J. and Tandon, S.K.** 1977b. Biochemical and morphological changes in some organs in rats in intoxication. Arch. Toxicol. **37**:159-164.
- Mathur, A. K., and Tandon S.K.** 1981. Effect of nickel (II) on urinary and plasma concentrations of α -amino acids in rats. Toxicol. Lett. **9**: 211-214.
- McNelly, M.D., Nechay, M.W. and Sunderman, F.W.Jr.** 1972. Measurements of nickel in serum and urine as indices of environmental exposure to nickel. Clin. Chem.**18**:992-995.
- Menné, T., Borgan, O. and Green, A.** 1982. Nickel allergy and hand dermatitis in a stratified example of the Danish female population: an epidemiological study including a statistic appendix. Acta Dermato-venerologica (Stockholm). **62**: 35-41.

Menné, T., Mikkelsen, H.I. and Solgaard, P. 1978. Nickel excretion in urine after aoral administration. Contact Dermatitis. **4**: 106-108.

Menné, T., Christopherson, J. and Green, A. 1989. Epidemiology of nickel Dermatitis. In: Maibach, H.I. and Menné eds. Nickel and the skin: immunology and toxicology. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp. 109-115.

Mowat A McL. 1987. The regulation of immune responses to dietary protein antigens. Immunol. Today **8**: 93-98.

Mushak, P. 1980. Metabolism and systemic toxicity of nickel. In: J.O. Nriagu (Ed.), Nickel in the Environment. Wiley, New York. pp.499-523

Nieboer, E. and Nriagu, J.O. 1992. Nickel and Human Health: Current Perspectives. Vol 25. Advances in Environmental Science and Technology. John Wiley & Sons, Inc. NewYork.

Nomoto, S., Mcneeley, M.D. and Sunderman, F.W.Jr. 1971. Isolation of a nickel α 2-macroglobulin from rabbit serum. Biochem. **10**:1647-1651.

Nomoto, S. and Sunderman, F.W.Jr. 1989. Presence of nickel in alpha2-macroglobulin isolated from human serum by high performance liquid chromatography. Ann. Clin. Lab. Sci. **18**: 78-84.

Nomoto, S. and Sunderman.F.W. Jr. 1970. Atomic Absorption Spectrophotometry of nickel in serum urine, and other Biological Materiels. Clin. Chem. **16**: 478-493.

Nriagu, J.O. (ed.).1980. Nickel in the Environment. John Willey and Sons, Toronto.833 pp.

Norgaard, O. 1957. Investigations with radioactive nickel, cobalt and sodium on the resorption through the skin in normal and in nickel-hypersensitive persons. Acta Dermatovenereol. **37**: 440-445.

Norgaard, O. 1955. Investigations with radioactive Ni57 into the resorption nickel through the skin in normal and in nickel-hypersensitive persons. Acta Dermatovenereol. **35**: 440-445.

O'Dell, G.D., Miller, W.J., Moore, S.L., King, W.A., Ellers, J.C. and Jurecek, H. 1971. Effect of dietary nickel level on excretion and nickel content of tissues in male calves. J. Anim. Sci. **32**: 769-773.

Oskarsson, A. and Tjälve, H. 1979. An autoradiographic study on the distribution of $^{63}\text{NiCl}_2$ in mice. Ann. Clin. Lab. Sci. **9**(1): 47-59.

Parker, K. and Sunderman, F.W. Jr. 1974. Distribution of ^{63}Ni in rabbit tissues following intravenous injection of $^{63}\text{NiCl}_2$. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. **7**: 755-762.

- Payne, W.W.** 1964. Carcinogenicity of nickel compounds in experimental animals. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **5**:50.
- Pott, F., Ziem, U., Reiffer, F.J., Huth, F., Ernst, H. and Mohr, U.** 1987. Carcinogenicity studies on fibres, metal compounds and some other dusts in rats. *Experiment. Pathol.* **32**: 129-152.
- Santucci, B., Manna, F., Cristaudo, A., Cannistraci, C., Capparella, M.R. and Picardo, M.** 1990a. Serum concentrations in nickel sensitive patients after prolonged oral administration. *Contact Dermatitis.* **22**: 253-256.
- Santucci, B., Cristaudo, A., Cannistraci, C., and Picardo, M.** 1995. Interaction of palladium ions with the skin. *Exp. Dermatol.* **4**: 207-210.
- Santucci, B., Manna, F., Cannistraci, C., Cristaudo, A., Capparella, M.R., Bolasco, A. and Picardo, M.** 1990b. Serum and urine concentrations in nickel sensitive patients after prolonged oral administration. *Contact Dermatitis.* **30**: 90-101.
- Sarkar, B.** 1984. Nickel metabolism. In: *IARC Scientific Publication no. 53*. Lyon, France. International Agency for Research on Cancer, 367-384.
- Sarkar, B.** 1980. Nickel in blood and kidney. In: Brown, S.S. and Sunderman, F.W., Jr., ed. *Nickel Toxicology, Proceedings of the 2nd International Conference on Nickel Toxicology, Swansea, 3-5 september, 1980, London*. New York, Academic Press, pp. 81-84.
- Schroeder, H.A., Balassa, J.J. and Tripton, J.H.** 1962. Abnormal trace metals in man-nickel. *J. Chron. Dis.* **15**: 51-65.
- Severa, J., Vyskocil, A., Fiala, Z. and Cizkova, M.** 1995. Distribution of nickel in body fluids and organs of rats chronically exposed to nickel sulphate. *Hum. Exp. Toxicol.* **14**: 955-958.
- Sikora, J. and Zeromski, J.** 1995. The effect of nickel compounds on mitogen dependent human lymphocyte stimulation. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* **8**: 79-85.
- Smith, H.W.** 1964. *The kidney*. Oxford University Press, New York.
- Smithe, J.C. and Hackley, B.** 1968. Distribution and excretion of nickel-63 administered intravenously to rats, *J.Nutr.* **95**: 541-546.
- Smith, J.H. and Hook, J.B.** 1982. Experimental nephrotoxicity in vivo. In: nephrotoxicity assessment and pathogenesis, éd. Bach, P.H., Bomer, F.M., Budges, J.W., Lock, E.A., Wiley, J. and Sons, New York, pp. 117-127.

Sole, J., Huguet, J., Arola, L. And Romeu, A. 1990. *In vivo* effects of nickel and cadmium in rats on lipid peroxidation and ceruloplasmin activity. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **44**: 686-691.

Soleo, L., Vacca, A., Vimercati, L., Bruno, S., Diloreto, M., Zocchetti, C., Distefano, R., Candilio, G., Lasorsa, G., Franco, G., and Foa, V. 1987. Minimal immunological effects on workers with prolonged low exposure to inorganic mercury. Occup. Environ. Med. **54**:437-442.

Sunderman, F.W. Jr., Dingle, B., Hopfer, S.M. and Swift, T. 1988. Acute toxicity in electroplating workers who accidentally ingested a solution of nickel sulfate and nickel chloride. Am. J. Ind. Med. **14**:257-266.

Sunderman, F.W. Jr., Decsy, M.I. and Meneely, M.D. 1972. Nickel metabolism in health and disease. Am. N Y. Acad. Sci. **199**: 300-312.

Sunderman, F.W. Jr. and Selin, C.E. 1968. The metabolism of nickel 63carbonyl. Toxicol. Appl. Pharmacol. **12**:207-217.

Sunderman, F.W. Jr. and Shen, S.K., Mitchell, J.M., Allpass, P.R. and Damjanov, I. 1978. Embryotoxicity and fetal toxicity of nickel in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. **43**(2):381-390.

Sunderman, F.W. Jr. 1977. The metabolism and toxicology of nickel. In Brown, S.S. and Savory, J. Ed. Chemical toxicology and clinical chemistry of metals. Proceeding of the 2nd International Conference, Montréal, 19-22 July, 1983, London, New York, 13lockwell Scientific Publications. Pp 231-259.

Sunderman, F.W. Jr., Hopfer, S.M., Sweeney, K.R., Marcus, A.H., Most, B.M. and Creason, J. 1989. Nickel absorption and kinetics in human volunteers. In Proceedings of the Society for Experimental Biology and medicine. **191**: 5-11.

Sunderman, F.W., Range, C.L., Sunderman, F.W. Jr., Donnelly, A.J. and Lucyszyn, G.W. 1961. Nickel poisoning. XII. Metabolic and pathologic changes in acute pneumonitis from nickel carbonyl. Ann. J. Clin. Pathol. **36**: 477-491.

Valentine, R. And Fisher, G.I. 1984. Pulmonary clearance of intratracheally administered ⁶³Ni3S2 in strain A/J mice. Environ. Res. **34**: 328-334.

Van Hoogstraten I.M.W., Boos, C., Von Blomberg, M.E., Scheper, R.J. and Kraal, G. 1993. Oral Induction of Tolerance to Nickel Sensitization in Mice. J. Invest. Dermatol. **101**: 26-31.

Vyskocil, A., Viau, C., Cizkova. 1993. Chronic Nephrotoxicity of Soluble Nickel in Rats. Hum. Exp. Toxicol. **13**: 689-693.

- Weischer, C.H., Kördel, W. And Hochrainer, D.** 1980. Effects of NiCl₂ and NiO in Wistar rats after oral uptake and inhalation exposure respectively. Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene. **171**: 336-351
- Werner, M., Maruhn, D. and Atoba, M.** 1969. Use of Gelfiltration in Assay of Urinary Enzymes. J. Chromat. **40**: 254-263.
- Whanger, P.D.**1973. Effects of dietary nickel on enzyme activities and mineral contents in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. **25**: 323-331.
- WHO.**1991. Nickel, Nickel Carbonyl, and Some Nickel Compounds. Health and Safety Guide No. 62.
- Wroblewski, F. and Ladue, J.S.** 1956. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. Exp. Biol. **91**: 569.
- Xie, J., Funakoshi, T., Shimada, H. and Kojima, S.** 1996. Comparative Effects of Chelating Agents on Pulmonary Toxicity of Systemic Nickel in mice. J. Appl. Toxicol. **16**: 317-324.
- Zeromski, J. and Jezewska, E.** 1995. Functional alterations of human blood monocytes after exposure to various nickel compounds in vitro: an effect on the production of hydrogen peroxide. Immunol. Lett. **45**: 117-121.
- Zeromski, J., Jezewska, E., Sikora, J. and Kasprzak, K.S.** 1995. The effect of nickel compounds on immunophenotype and Natural Killer of normal human lymphocytes. Toxicology. **97**: 39-48.

ANNEXE

ANNEXE

Liste des communications qui découlent de ce travail

C. Bai, S. Chakrabarti, E. Obone, A.M. Malick, L. Lamontagne and K.S. Subramanian. 1996. Subchronic toxicity study of nickel sulfate (NiSO₄) in the rat. Fund. Appl. Toxicol. Vol. 30, p 177 No. 905. (Résumé)

Obone, É., Bai, C., Malick, A.M., Chakrabarti, S., Lamontagne, L. And Subramanian, K.S. 1997. Effects of subchronic exposure of rat to nickel sulfate on its bioaccumulation and toxicity. Fund. Appl. Pharmacol. Vol. 36, p 278, No. 1412 (Résumé).