



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie et Santé

Intitulé :

***Effet de la supplémentation du fer sur les paramètres
hématologiques chez les rats de la souche Wistar Albinos***

Présenté et soutenu par :

Loucif Fatima zohra

Madi Lilia

Le : 02/07/2015

à 9:00H

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Zama Djamila (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : Zouaghi Youcef (MCA- UFM Constantine).

Examinatrice : Dehili Nedjwa (MA- UFM Constantine).

Examinatrice : Baali Nacera (MA- UFM Constantine).

***Année universitaire
2014 - 2015***

DÉDICACE

**JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À MA CHÈRE MÈRE
QUE DIEUX LES GARDE ET LES PROTÈGE ET MON FRÈRES
AMINE ET MON GRAND PÈRE ,À TOUT MES PROCHES DE
LA FAMILLE AINSI QUE MES COLLÈGUES À ANOUAR À MES
AMIES FATIMA ZOHRÀ ,ASMA ,NESRINE ,SARA,,HANANE
KANAZA,BASMA .**

j'aime Lilia.

DÉDICACE

**JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À MA CHÈRE MÈRE QUE
DIEUX LES GARDE ET LES PROTÈGE ET MON PÈRE GRAND
ÉCOLE DE MON ENFANCE MES SŒURS ASMA ,FARAH ET MON
FRÈRE MIDOU À MON MARI MAHMOUD QUI MA DONNÉ LA
FORCE ET LE COURRAGE,À MA COUSINE OUMAIMA À MES
AMIES LILIA ,ASMA ,NESRINE ,SARA,,HANANE
KANAZA,BASMA .À TOUT MES PROCHES DE LA FAMILLE
AINSI QUE MES COLLÈGUES .**

j'aime Fatima zohra .

REMERCIEMENTS

En prime abord, nous remercions Dieu le tout puissant, qui nous à donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Nous exprimons notre grande considération et nos remerciements au professeur Zama Djamila qui a fait honneur de présider notre jury d'évaluation.

C'est avec très grande plaisir que nous remercions infiniment Mme Dehili N ,d'avoir accepté juger notre travail .

Nous voudrions exprimes également notre sincère reconnaissance à Mme Baali Nacera qui nous fait honneur d'accepter évaluer notre travail.

Nous tenons à remercier l'équipe de toxicologie professeur Lalaoui krrichi responsable de parcours toxicologie et santé et particulier professeur Mme Ameddah souad responsable de parcours de licence physio-Toxicologie

Au professeur Mm Nacib Merci de m'avoir aidée à réaliser des statistiques. Veuillez accepter mes sincères remerciements. Au Mm Laila ,Rym , Karima et Amar ,Merci pour l'aide à l'accès aux données du laboratoire.Veuillez accepter mes sincères remerciements.

Enfin je vous remercie mes professeures, à tout mes amies Merci à tout ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail Veuillez accepter mes sincères remerciements.

merci

Sommaire

Introduction	1
Première partie:Etude bibliographique.....	2
Chapitre I : Le fer dans l'organisme.....	2
I.1. Généralités sur le fer.....	2
I.2. Propriétés physico-chimiques du fer	2
I.3.Quantité de fer dans l'organisme.....	2
I.4. Distribution du fer dans l'organisme.....	3
I.4.1. Fer héminique.....	3
I.4.2.Fer non héminique.....	4
I.4.2.1 Formes de réserves.....	4
I.4.2.2. Formes de transport.....	5
I.4.2.3.Enzymes à fer non héminique.....	5
I.5. Les apports recommandés et besoins en fer	5
I.6. Métabolisme de fer.....	6
I.6.1. Absorption.....	6
I.6.2. Transport plasmatique du fer.....	7
I.6.3.Stockage.....	8
I.6.4. Excrétion.....	8
I.7.Homéostasie martiale	8
I.7.1. Le rôle de l'hepcidine.....	9

I. 7. 2. Le recyclage du fer héminique.....	10
I.7.3. La Régulation intracellulaire par le système IRE-IRP.....	11
I. 8. Conséquences d'un déséquilibre de l'homéostasie du fer.....	12
I. 8. 1. La carence martiale.....	12
I. 8. 2. La surcharge en fer.....	13
I.9. Le rôle du fer dans l'organisme.....	13
I.9.1. Le rôle dans la respiration.....	13
I.9.2 Le rôle dans l'immunité.....	14
I.9.3. Le rôle dans la multiplication cellulaire.....	14
I.9.4. Le rôle dans l'érythropoïèse.....	14
I.9.5.La synthèse de l'hème.....	15
Chapitre II : Le risque oxydatif de l'excès en fer.....	17
II. 1. Mécanisme d'action du fer.....	17
II.2. Rôle de l'acide ascorbique.....	20
II.3. Excès du fer et pathologie.....	20
Chapitre III : Hémogramme et Numération de la Formule Sanguine (NF).....	22
III.1.Définitions et rappels.....	22
III.2. Les constituants de l'hémogramme et les paramètres érythrocytaires	22
III.3. réalisation de l'hémogramme.....	23
III.4. Valeurs usuelles des constituants et paramètres de l'hémogramme.....	23
II.4.1. Hémogramme de référence.....	23

III.5. Indications de l'hémogramme.....	25
Deuxième partie : étude expérimentale	26
I. Matériel et méthode.....	26
I.1.Model animal	26
I.2.Alimentation	26
I.3.Constitution des lots	26
I.4 .Prélèvements sanguins	27
I.5.Dosage	28
I.6 :étude statistique	30
II. Résultats et discussions	31
II.1.Symptômes de la supplémentation en fer.....	31
II.2.Numération hématologique	33
II.2.1.Lignée leucocytaire	33
II.2.2.Les plaquettes	35
II.2.3.Lignée érythrocytaire	36
III.Conclusion	39
Résumé	40

Liste des abréviations

ALA : δ -Aminolevulinate.

ALAS : δ -Aminolevulinate synthase.

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

CS : Coefficient de saturation.

CTF : Capacité totale de fixation.

Cyt p450 : Cytochrome P450.

DMT 1 : Di métal transporteur 1.

EDTA : Acide éthylène-diamino-tétraacétique.

EPO : Erythropoïtine.

Fl : Fentolitres.

FNLT : Fer non lié à la transferrine.

GB : Globules Blanc.

GR : Globule Rouge.

HB : Hémoglobine.

HCT : Hématocrite.

HFE : De l'anglais High et du symbole de l'élément de fer (Fe) est la protéine de l'hémochromatose humaine codées par le gène HFE.

IRE : Iron Responsive Élément.

IRO : Intermédiaire Réactifs de l'oxygène.

IRP : Iron Regulatory Protein.

IRP: Iron Regulatory Proteins.

LPI : Labile Iron Pool.

NADH : Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique.

NFKB : Nuclear factor Kappa B.

NFS : Numération Formule Sanguine.

ROS : Réactive oxygen species.

RTf : Récepteur à la transferrine.

TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.

TDM : Transporteur Membranaire des Ions Dimérique.

VGM : Volume globulaire moyen.

Liste des figures

Figure 01: Structure chimique d'hémoglobine.

Figure 02: Absorption intestinale du fer par les anthérocytes duodénaux.

Figure 03: Modèle pour les fonctions de régulation de l'hepcidine.

Figure 04: Érythrophagocytose et recyclage du fer héminique.

Figure 05: Réponses homéostatiques aux apports de fer par interactions IRE-IRP.

Figure 06: Le rôle du fer dans la biosynthèse de l'hème.

Figure 07: Action oxydative du fer in vivo.

Figure 08: Génération de radicaux organique catalysé par le fer.

Figure 09: génération de radicaux de l'oxygène catalysée par l'hème par l'intermédiaire de l'oxoferryl.

Figure 10: Interaction directe du fer avec l'oxygène.

Figure 11: Rats de laboratoire de race Rattus norvegicus (souche Wistar).

Figure 12: Prélèvement du sang par ponction du sinus rétro-orbitaire.

Figure13: Automate compteur modèle BC 2800.

Figure 14: Les réactifs de dosage (M-30R rinse , M-30D diluant ,M-30C FL lyse ,M-30E E-Z cleaner).

Figure 15: La prise moyenne d'aliment par jour.

Figure16: L'évolution pondérale des rats durant la période d'expérimentation.

Figure 17: Numération leucocytaire (globules blancs, lymphocytes, granulocytes)* $P < 0.05$.

Figure 18: Les taux des plaquettes au 21^{ème} jours de l'expérimentation.

Figure19: Numération érythrocytaire (globules rouges, hémoglobine, hématocrite).

Figure20: Les constante érythrocytaires (VGM ,TCMH,CCMH).

Liste des tableaux

Tableau 01: Les apports recommandés et besoins en fer.

Tableau 02: Hémogrammes de rats Wistar mâles et femelles âgés de 6 à 34 semaines.

Introduction

Divers fonctions cellulaires nécessitent la présence du fer, c'est en particulier le cas du transport, du stockage et de l'utilisation de l'oxygène, principalement au niveau de l'hémoglobine et de la myoglobine ; ainsi qu'au niveau de processus de transport de l'électrons de la chaîne respiratoire. Le fer participe aussi comme cofacteur dans l'activité enzymatique parmi les quelle la catalase (1,2).

Si le fer se trouve en petite quantité liée à des protéines de transport dans ce cas il est nécessaire pour la division et la respiration cellulaire et important pour l'amélioration des paramètres hématologiques .Mais s'il se trouve à l'état libre non lié dans ce cas il devient toxique est participe à la production des radicaux libres. En effet, le fer libre, métal de transition déplacé de ces formes de stockage peut être un pro-oxydant. Il participe à la réaction de fenton et au cycle d'Haber-Weiss en générant des radicaux hydroxyles très agressifs pour la cellule (3).

La supplémentation de fer est appliquée souvent chez les personnes atteintes par l'anémie martiale et les femmes enceintes pour amélioré leurs bilan hématologique (3).Vue les études très rare sur la supplémentation en fer chez les femmes non enceintes et les personnes non anémiques en a proposé d'effectuer une étude expérimental sur des rats de souche Wistar dans le bute d'évaluer les conséquences de la supplimentation en fer sur :

- la numération leucocytaire
- la numération érythrocytaire

Première partie: Etude bibliographique

Chapitre I: Le fer dans l'organisme

I.1. Généralités sur le fer

Le fer occupe le quatrième rang des éléments par ordre d'importance (5%) dans la croûte terrestre après l'oxygène, le silicium et l'aluminium et le premier parmi les métaux lourds (4). Il est très largement utilisé dans l'industrie métallurgique. En agriculture il est commercialisé sous forme de sulfate de fer utilisé pour la destruction des mousses. L'utilisation pharmaceutique de sels ferreux est indiquée dans les anémies ferriprives. Le Fe^{55} et le Fe^{59} sont utilisés comme traceurs. Le fer est un élément essentiel à tous les organismes vivants, il participe au transport de l'oxygène et joue un rôle primordial dans la biodisponibilité de ce dernier (4).

I.2. Propriétés physico-chimiques du fer

Le nombre atomique de l'élément fer est 26, sa masse atomique relative 55,85. On le rencontre dans la nature sous 3 états d'oxydation :

- Fer (0) ou fer métallique : Fe
- Fer (II) ou fer ferreux : Fe^{+2}
- Fer (III) ou fer ferrique : Fe^{+3}

Le fer ferreux et le fer ferrique forment des complexes avec de nombreux ligands. En l'absence de ligand, l'oxygène de l'air oxydera facilement le fer ferreux en fer ferrique. Certains ligands, assez rares, peuvent stabiliser le fer ferreux, pour assurer le transfert inoffensif du fer entre les compartiments métaboliques (4). C'est un métal qui présent sous plusieurs formes allotropiques dans les conditions normales de pression et de température, c'est un solide cristallin de structure cubique centré à partir de 912 C° il redevient cubique centré (4).

I.3. Quantité de fer dans l'organisme

Un organisme adulte contient 3 à 5 g de fer. Chez les individus sains, la quantité de fer est d'environ 35 mg/kg de poids corporel chez la femme adulte et 45 mg/kg chez l'homme. Le fer est essentiel à la vie cellulaire et à l'érythropoïèse. La moelle osseuse est le plus grand consommateur de fer (20 mg par jour) pour assurer la production d'érythrocytes. Environ 65% du fer de l'organisme est transporté dans l'hémoglobine des globules rouges en circulation, tandis que 10%

est incorporé dans la myoglobine, les enzymes héminiques (ex : catalases, peroxydases, cytochrome), les protéines à centre fer-soufre, ou circule dans le plasma lié à la transferrine (5).

I.4. Distribution du fer dans l'organisme

Le fer est incorporé dans des protéines ferro-dépendantes héminiques et non héminiques. Ses fonctions biologiques sont basées sur sa capacité à former une variété de complexes avec différents ligands organiques et son potentiel redox favorable à commuter entre l'état ferreux et ferrique.

I.4.1. Fer héminique

La majorité du fer fonctionnel est incorporé dans l'hème de l'hémoglobine. Les autres protéines héminiques sont la myoglobine, les catalases, ainsi que les peroxydases qui jouent un rôle protecteur vis-à-vis des radicaux libres et les différents cytochromes, impliqués dans la respiration cellulaire ou le métabolisme cellulaire (6).

a) Hémoglobine

Quatre molécules d'hème s'unissent à 4 chaînes de globine pour former l'hémoglobine. La globine (partie protéique de l'hémoglobine) est formée de 4 chaînes polypeptidiques α et β , identiques deux à deux. Chaque chaîne contient un hème localisé dans une poche hydrophobe. L'hème est issu de l'union d'une molécule de protoporphyrine et d'un atome de fer divalent, situé au centre de la molécule, fixé sur les 4 azotes des noyaux pyrroles de la protoporphyrine.

Au final, l'atome de fer est hexacoordonné, formant un octaèdre (7).

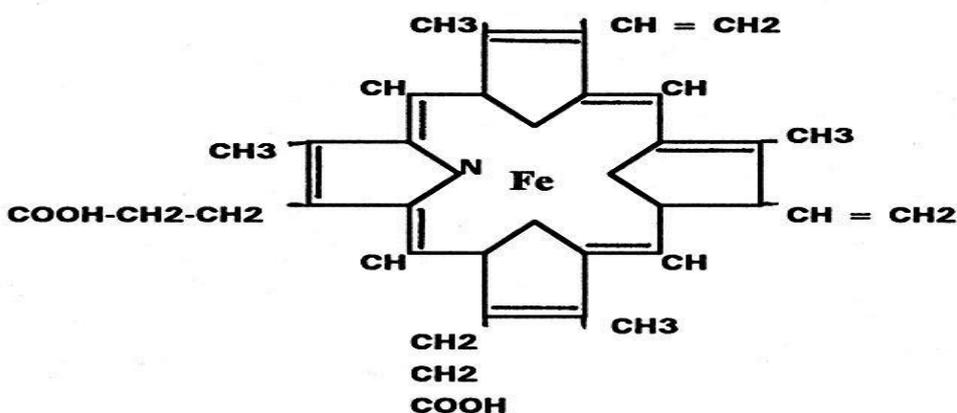


Figure 01 : structure chimique d'hémoglobine (7).

L'hémoglobine assure le transport de 2 gaz : l'oxygène et dioxyde de carbone. Les hématies se chargent en hémoglobine au cours de leur maturation dans la moelle osseuse. La membrane des érythrocytes est rompue par des enzymes lysosomiales permettant une libération de l'hémoglobine, qui une fois coupée et oxydée par l'hème oxygénase, va libérer le fer. Ce fer sera récupéré et transporté par la transferrine plasmatique jusqu'à la moelle osseuse pour la synthèse de nouvelles molécules d'hémoglobine. Il en résulte que 15 à 25mg de fer sont recyclés par jour **(6)**.

b) Myoglobine

La myoglobine est une molécule contenant du fer identique à celui de l'hémoglobine. C'est un pigment respiratoire musculaire permettant le stockage de l'oxygène dans le muscle. Elle a aussi la capacité d'augmenter la vitesse de diffusion de ce gaz à travers les cellules du muscle squelettique. Le fer de la myoglobine représente 4 à 5% environ du pool total du fer **(6)**.

c) Enzymes

L'activité de nombreuses enzymes héminiques jouent un rôle dans le métabolisme oxydatif.

-Cytochromes participant à la chaîne respiratoire

-Cytochromes intervenant dans la biotransformation des xénobiotiques : cyt p450

Les cytochromes sont des protéines transporteuses d'électrons. Le cytochrome **c** fournit à la cellule l'énergie dont celle-ci a besoin pour vivre. Ces enzymes qui renferment du fer se situent dans les mitochondries. À l'apoptose, les mitochondries évacuent cette enzyme; elles ne peuvent donc plus alimenter en énergie la cellule, qui finit par mourir. Les catalases et peroxydases sont localisées dans les peroxysomes **(7)**.

I.4.2.Fer non héminique

I.4.2.1 formes de réserves

Les réserves en fer représentent 25% du fer total et sont stockées au niveau du système réticuloendothélial du foie, de la rate, la moelle osseuse et des muscles squelettiques. Le fer de réserve se répartit dans les tissus entre 2 protéines de stockage une fraction soluble aisément mobilisable, correspondant à la ferritine une fraction insoluble correspondant à l'hémosidérine **(10)**.

I.4.2.2. formes de transport

Le fer circulant ne représente qu'un très faible pourcentage du fer total (0,1%) mais il joue un rôle majeur. Le fer circule dans le plasma lié à la transferrine et plus modestement à la lactoferrine.

I.4.2.3. enzymes à fer non héminique

Le fer non héminique participe à la structure de différentes enzymes, la plupart contenant 4 atomes de fer par molécule. C'est le cas des flavoprotéines présentes dans certains tissus de l'organisme en quantité minime mais participant aux mécanismes de respiration cellulaire. Le fer non héminique intervient également dans l'activité d'enzymes impliquées dans le métabolisme de divers acides aminés, médiateurs chimiques et hormonaux. Les principales protéines non hémiques sont les protéines fer-soufre (Fe-S), les enzymes ferrodépendantes telles que la propylhydroxylase (biosynthèse du collagène et donc de la matrice extracellulaire), la ribonucléotide réductase (synthèse de l'ADN) et la xanthine oxydase (oxydation des purines en acide urique et réoxydation de la céruléoplasmine), ainsi que la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase, impliquées dans la synthèse des eicosanoïdes **(8)**.

I.5. Les apports recommandés et besoins en fer

Les besoins nutritionnels en fer varient selon le sexe et l'âge des personnes; les enfants en bas âge ou plus âgés et les femmes en âge de procréer sont les plus exposés à des carences en fer. Les apports nutritionnels recommandés indiquent que les hommes adultes ont besoin de 9 mg de fer par jour, les femmes en âge de procréer, de 16 mg et les femmes post-ménopausées, de 8 mg. En cas de grossesse Les besoins en fer sont considérablement augmentés durant cette période à cause de L'augmentation physiologique de la masse de globules rouges, (environ 500 mg de fer). La constitution des tissus du fœtus (environ 290 mg de fer) La constitution du placenta (environ 25 mg de fer). et Plus les pertes basales (220 mg pour l'ensemble de la gestation). Au total, c'est de plus de 1 g de fer dont la femme enceinte a besoin pour assurer sa balance en fer au cours de la grossesse, ce qui correspond à des besoins journaliers de 3,6 à 6 mg/j en fonction du niveau des réserves en fer au début de la gestation. Si les besoins augmentent (**Tableau01**), les capacités de l'absorption intestinale du fer augmentent aussi au cours de la grossesse. Elle concerne aussi bien le fer

hémérique que le fer minéral. Cette adaptation devrait permettre de faire face aux besoins supplémentaires, notamment en deuxième partie de grossesse où ils atteignent 3 à 6 mg/j (9).

Tableau 01 : Les apports et besoins en fer (10).

Populations	Besoins (mg/j)	Apports (mg/j)
Nouveaux né	0.8 -0.6	3.5
Enfants	0.3	6
Adolescents	0.7	13
Adolescentes	0.4	16
Hommes	2-1	9
Femmes	4-2	16-14
Femmes Enceintes	6 -3.6	35-25 en dernier trimestre
Femmes allaitantes	3	10 .9.5
Femmes ménopausées	0.9	8

I.6. Métabolisme du fer

I.6.1. Absorption

Absorption du fer est très variable et dépend de la quantité et de la forme chimique du fer dans le régime. L'absorption varie entre 1 et 70 % durant la première année de vie et se stabilise vers 10 % chez les jeunes enfants. En moyenne, les adultes absorbent 6,5 % du fer (soit entre 3 et 10%) et les femmes en absorbent jusqu'à quatre fois plus que les hommes. L'absorption intestinale du fer est maximale au niveau du duodénum.

L'absorption est assurée par les anthérocytes matures présents au sommet de la villosité. Le fer est absorbé au niveau apical et adressé au pôle baso-latéral de l'anthérocyte puis exporté vers le plasma. L'absorption intestinale du fer dépend de sa forme chimique. Le fer ionisé et le fer hémique (hémoglobine, myoglobine) sont très bien absorbés. Le fer hémique représente les 2/3 du fer absorbé alors qu'il ne constitue que 1/3 des apports (**Figure02**) (7,11,12).

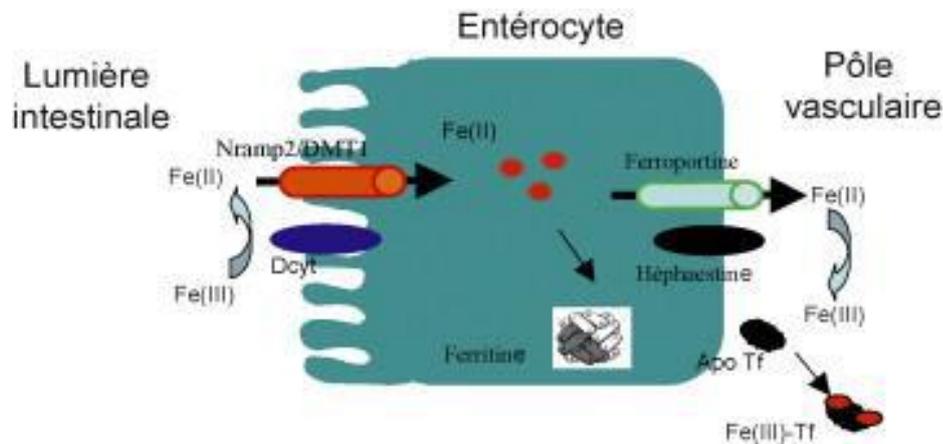


Figure02: Absorption intestinale du fer par les anthérocytes duodénaux (13).

Au pôle apical, le fer non hémique est réduit en fer ferreux $\text{Fe(II}^+)$ et transporté à travers les membranes par DMT1. Dans l'anthérocyte, le fer est soit stocké dans la ferritine, soit transporté vers le pôle vasculaire. Il sort de l'anthérocyte grâce à la ferroportine ; il est alors oxydé en fer ferrique $\text{Fe(III}^+)$ par l'héphaestine et pris en charge par la transferrine (13).

I.6.2. transport plasmatique en fer

Le fer provenant des anthérocytes (5%) et le fer provenant de l'hémolyse (95%) sont pris en charge par la transferrine (ou sidérophiline). Cette molécule transporteuse distribue le fer vers les lieux d'utilisation (moelle osseuse surtout) ou de stockage (foie surtout) (14).

La transferrine est une glycoprotéine de PM 76000 synthétisée par l'hépatocyte. Chaque molécule peut transporter deux molécules de fer à l'état ferrique. Physiologiquement les molécules de transferrine sont saturées au tiers avec un coefficient de saturation (CS) à 33 % et une capacité totale de fixation (CTF) de 45 à 75 micromoles/l .

la pénétration du fer dans Les cellules ce fait par la captation du transferrine ,ce dernier ce fixe sur ces récepteurs formant un complexe qui pénètre dans la cellule via des vésicules provenant de

l'invagination de la membrane plasmique. Le récepteur à la transferrine (RTF) est un dimère de deux sous-unités identiques de PM de 95 kDa, liés par des ponts disulfure. Il existe deux récepteurs à la transferrine : RTf1 et RTf2. L'ARNm de RTF2 est particulier, limité principalement au foie. L'affinité de la transferrine pour RTF2 est 30 fois plus faible que pour RTF1. Les précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse peuvent exprimer jusqu'à 1 million de molécule de RTf1 à leur surface. La fixation de la transferrine sur son récepteur induit la formation d'une vésicule d'endocytose et la réduction du fer qui favorise la dissociation du fer de sa liaison avec la transferrine **(7,11)**.

I.6.3. Stockage

Le fer des réserves est de 30 à 40 mg/kg, essentiellement sous forme de ferritine (95%). La ferritine est une protéine constituée de 2 sous-unités formant une coquille pouvant refermer jusque 4500 atomes de fer. L'autre molécule de stockage, l'hémosidérine, serait une forme dégradée de la ferritine. Les réserves en fer sont parenchymateuses et macrophagiques. Le foie est le principal organe de réserves (hépatocytes et cellules de Kupffer) **(7,11)**.

I.6.4. Excrétion

L'élimination du fer est très faible, principalement digestive, par desquamation des anthrocytes est assurée par la ferroprotéine, exporter membranaire du fer. La sortie de fer de l'organisme se fait essentiellement par desquamation cellulaire en particulier des cellules intestinales et au niveau du rein (à un niveau très faible). Les pertes dans l'urine sont négligeables, la quantité de fer dans les fèces correspond sensiblement à l'apport de fer dans le régime alimentaire. Moins de 1 mg par jour de fer endogène est perdu par la peau, les fèces et l'urine **(15,16)**.

I.7. Homéostasie martiale

Au niveau de l'organisme, la donnée nouvelle est représentée par le rôle crucial de l'hépcidine comme régulateur de l'absorption digestive et de la libération macrophagique du fer en fonction des besoins de la moelle osseuse.

I.7.1. Le rôle de l'hepcidine

a) l'hepcidine

L'hepcidine est un élément-clé du contrôle de l'homéostasie du fer. C'est un petit peptide hormonal produit par le foie (« hep » pour hépatocyte et « idine » pour son activité antimicrobienne), distribué dans le plasma et excrété dans les urines. C'est un régulateur négatif de l'absorption intestinale du fer et du recyclage du fer hémique par les macrophages(17).

En cas de besoin en fer (alimentation pauvre en fer, hémorragie, hypoxie, hémolyse, etc.), la synthèse d'hepcidine est fortement réprimée, l'absorption intestinale et la mobilisation des réserves de fer provenant des macrophages sont stimulées. À l'inverse, les situations inflammatoires (arthrite, infections chroniques, certains cancers) entraînent le plus souvent une hausse de la synthèse d'hepcidine entraînant la diminution de l'absorption intestinale du fer et un blocage du recyclage du fer par les macrophages (17).

b) mode d'action

L'hepcidine empêche l'export du fer des entérocytes, site de l'absorption intestinale du fer alimentaire, et des macrophages, site de recyclage du fer de l'hémoglobine. Pour cela, l'hepcidine se lie à la ferroportine, en induisant son internalisation et sa dégradation, et inhibe ainsi le passage du fer vers le compartiment sanguin. La ferroportine, le seul exportateur de fer connu est présent à la surface des entérocytes, des macrophages et des hépatocytes. Elle contrôle la quantité de fer libérée dans le plasma. La ferroportine possède un domaine de liaison à l'hepcidine. Ce domaine permet à l'hepcidine d'interagir avec la ferroportine à la surface membranaire de manière à limiter l'incorporation de fer (18).

c) Régulation de la synthèse d'hepcidine

La baisse de l'hepcidine peut s'observer dans 2 tableaux totalement opposés : Un abaissement primitif est responsable d'une surcharge martiale, alors que l'anémie et l'hypoxie entraînent une diminution secondaire de l'hepcidine. L'élévation primitive (hyper expression du gène de l'hepcidine) est responsable d'une anémie ferriprive sévère, tandis que les anémies inflammatoires et les surcharges secondaires en fer s'accompagnent d'une augmentation de l'hormone (19).

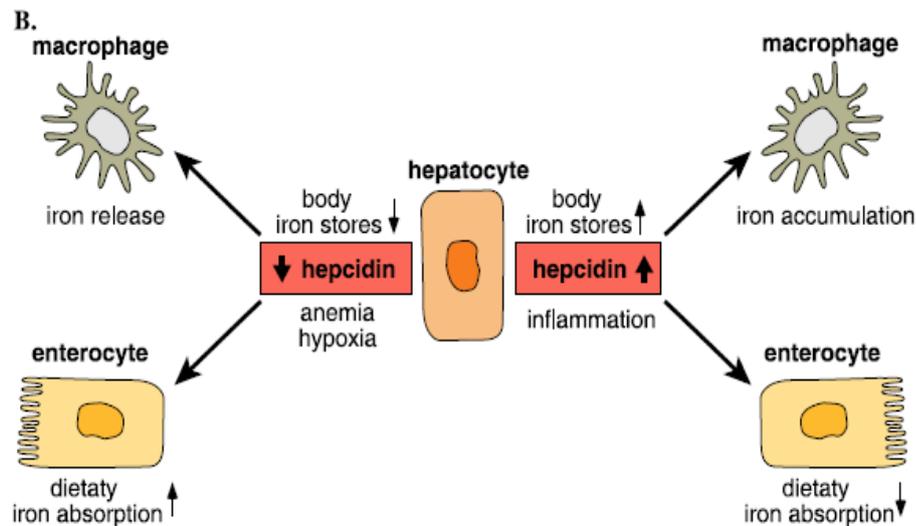


Figure03 : Modèle pour les fonctions de régulation de l'hépcidine (19).

Une diminution des taux plasmatiques d'hépcidine, à la suite de la réduction des réserves de fer de l'organisme, l'exigence pour l'érythropoïèse ou une hypoxie, favorise l'absorption du fer alimentaire et la libération du fer par les macrophages. Une augmentation des niveaux plasmatiques d'hépcidine en réponse à la surcharge en fer ou de l'inflammation inhibe l'absorption du fer alimentaire et la libération du fer par les macrophages (19).

I. 7. 2. Le recyclage du fer hémique

L'essentiel du fer utilisé pour la production quotidienne des globules rouges (GR) provient du recyclage du fer libéré par les GR sénescents. Ce processus, appelé érythrophagocytose, permet de recycler efficacement le fer hémique et contribue largement aux apports en fer nécessaires à l'érythropoïèse. Le fer libéré est ensuite stocké associé à la ferritine, ou recyclé vers le plasma par la ferroportine et réoxydé par la céruloplasmine avant d'être fixé par la transferrine (figure04). La majorité du fer plasmatique est distribuée aux précurseurs hématopoïétiques de la moelle osseuse. Ce mécanisme permet de fournir les 25 à 30 mg de fer nécessaires à l'érythropoïèse journalière (13). Plus de 60% du fer de l'organisme se situent dans les érythrocytes. Le recyclage, par les macrophages, du fer hémique résultant de l'érythrophagocytose des érythrocytes sénescents, est donc primordial pour le maintien de l'homéostasie du fer (20). Après dégradation de l'hémoglobine, le fer est libéré de l'hème sous l'effet de l'hème-oxygénase dans les phagosomes des macrophages. Celle-ci est présente en quantité importante dans les macrophages tissulaires du foie, de la rate et de la moelle osseuse (21).

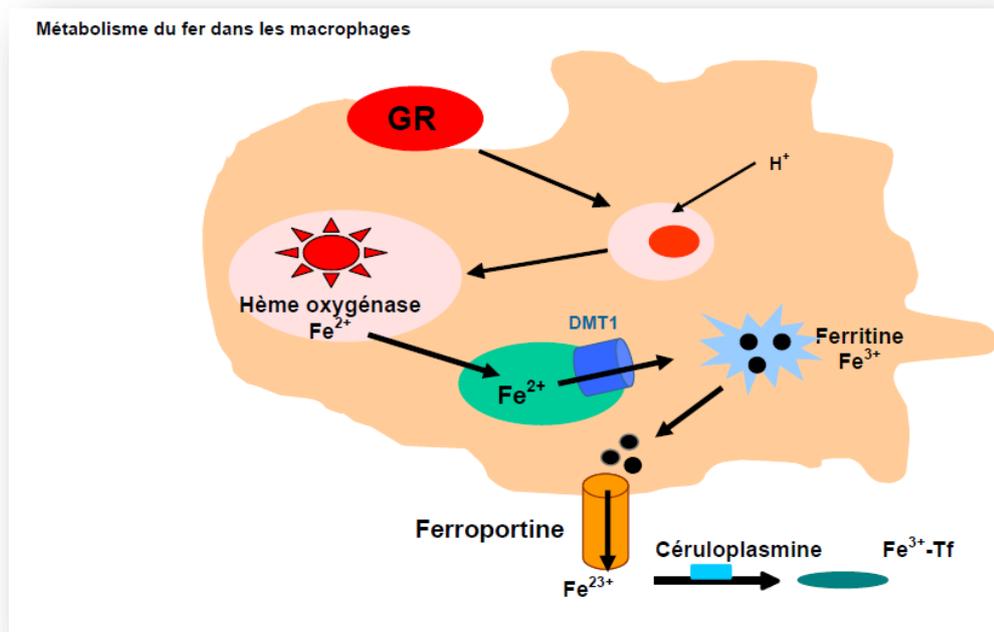


Figure04 : Érythrophagocytose et recyclage du fer hémique(13).

I.7.3. Régulation intracellulaire par le système IRE-IRP

Le contrôle de la quantité de fer repose avant tout sur la maîtrise de l'entrée du fer dans la cellule et sur ses capacités de stockage(**Figure05**). Au niveau intracellulaire, l'homéostasie du fer est assurée par le système **IRE** (Iron Responsive Element) – **IRP** (Iron Regulatory Proteins) :

L'IRE est une séquence nucléotidique qui peut être retrouvée sur des zones non traduites de certains ARNm de la ferritine et du récepteur de la transferrine. L'IRP est une protéine à centre fer-soufre qui a capacité à interagir avec l'IRE en fonction de la quantité de fer. Lorsque le statut cellulaire en fer est trop bas, l'IRP se lie à l'IRE. Ainsi, la cellule, en augmentant l'expression du récepteur de la transferrine pour accroître la captation de fer, et en diminuant la synthèse de ferritine qui n'est plus nécessaire, s'adapte à la carence cellulaire relative en fer. A l'inverse, en cas d'élévation du taux de fer intracellulaire, et particulièrement du LIP (*Labile Iron Pool*), l'IRP ne se lie plus à l'IRE. La cellule s'adapte donc en réduisant la synthèse de récepteur de la transferrine et en majorant la synthèse de la ferritine. Ce mécanisme de régulation post-transcriptionnel par le fer permet à la cellule d'adapter sa capacité d'acquisition du fer à ses besoins immédiats et de limiter l'effet toxique du fer dès que le fer cytosolique augmente (**22,23**).

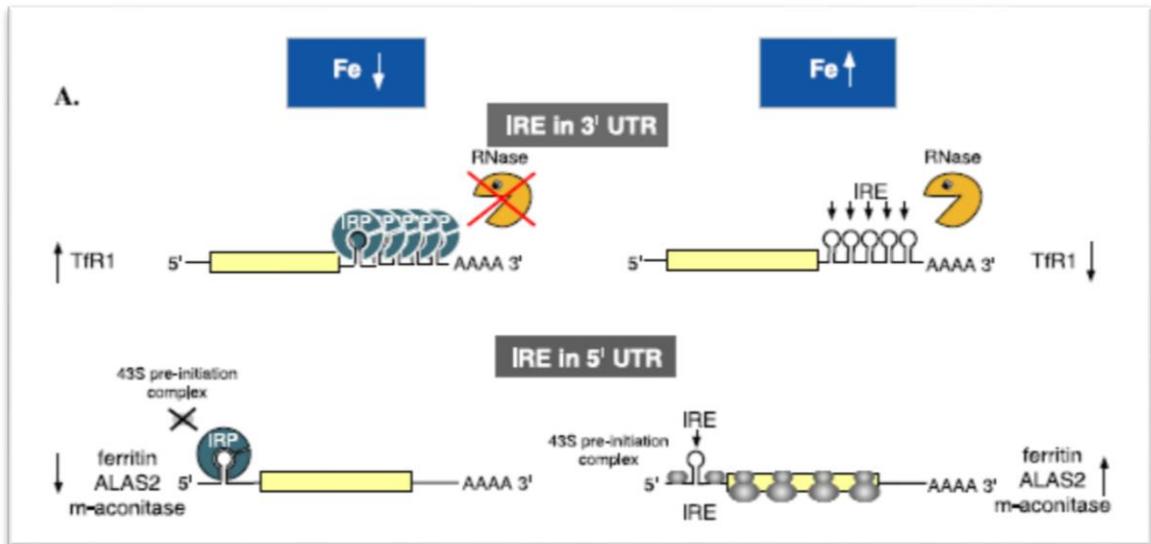


Figure05: Réponses homéostatiques aux apports de fer par interactions IRE-IRP(19).

Un apport de fer diminué active la liaison de l'IRP à l'IRE, entraînant ainsi une stabilisation de l'ARNm de TfR1 et l'inhibition de la traduction de l'ARNm codant pour la ferritine. A l'inverse, les IRP ne se lient pas aux IRE apparentés dans les cellules chargées en fer, permettant la dégradation de l'ARNm de TfR1 et la traduction de la ferritine(19).

I. 8. Conséquences d'un déséquilibre de l'homéostasie du fer

I. 8. 1. La carence martiale

Tout déséquilibre entre le fer disponible dans l'organisme et les besoins de ce dernier pour la production des érythrocytes peut aboutir à une anémie par carence en fer. L'apparition de l'anémie peut durer plusieurs mois durant lesquels plusieurs paramètres biologiques seront touchés :

- baisse de la ferritinémie
- augmentation du récepteur soluble de la transferrine
- diminution de la saturation de la transferrine
- diminution du volume globulaire moyen (VGM) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

Les signes cliniques de l'anémie sont une asthénie, une dyspnée d'effort ainsi qu'une pâleur cutanéomuqueuse (24).

I. 8. 2. La surcharge en fer

Les effets d'une surcharge en fer au sein de l'organisme s'expliquent par la réactivité du fer non lié à la transferrine, ou fer libre. Cette réactivité peut entraîner la formation de radicaux libres par la réaction de Fenton. Globalement, les surcharges en fer exposent à un risque métabolique (diabète, hypertension) et hépatique (cirrhose et hépatocarcinome) accru. La toxicité du fer en excès sera décrite dans **le chapitre II**.

I.9. le rôle du fer dans l'organisme

Bien que présent en très faibles quantités dans l'organisme (0.005% du poids corporel), le fer joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions biologiques. Il intervient dans la constitution de l'hémoglobine, pigment respiratoire qui assure l'échange de l'oxygène et du gaz carbonique avec le milieu extérieur, de la myoglobine qui est la protéine de liaison du tissu musculaire reliant le fer et l'oxygène (forme de réserve de l'oxygène du muscle) et d'enzymes jouant un rôle capitale dans de nombreuses réactions métaboliques) (25,26).

I.9.1. Le rôle du fer dans la respiration

Le fer agit comme un moyen de transport pour les électrons à l'intérieur des cellules sous la forme de cytochromes des composants d'enzymes renfermant du fer, c'est-à-dire qu'il provoque des réactions d'oxydoréduction produisant de l'énergie et fait partie intégrante des réactions enzymatiques dans divers tissu à l'intérieur de la cellule et, précisément, dans les mitochondries (27,28).

I.9.2. Le rôle du fer dans l'immunité

Le fer intervient toujours dans le fonctionnement normal du système immunitaire. Il est nécessaire pour la régénération de nouveaux lymphocytes et le maintien des processus cytolitiques des cellules T cell (36). Il assure aussi des mécanismes de défense de l'hôte contre l'infection et aux variations de la réaction immunitaire à médiation cellulaire (30).

I.9.3. Le rôle du fer dans La multiplication cellulaire

Le fer est également nécessaire pour la division cellulaire qui est un processus indispensable pour la croissance et le développement des tissus et pour l'entretien des tissus à travers le renouvellement cellulaire (La fortification en fer, nécessaire pour le fonctionnement du corps humain).

I.9.4. le rôle du fer dans l'érythropoïèse

L'érythropoïèse est permanente, c'est l'ensemble des étapes physiologiques qui aboutissent à la formation, la multiplication et la mise en circulation des hématies. Environ 200 milliards de globules rouges matures doivent être produits chaque jour par la moelle osseuse pour compenser la destruction des globules rouges sénescents par les macrophages tissulaires.

L'érythropoïèse comporte 2 processus:

-la multiplication : en vue d'amplifier le nombre de cellules produites à partir d'une petite quantité de pro-géniteurs.

-la différenciation et la maturation : en vue d'aboutir à des cellules circulantes matures aptes à accomplir leurs fonctions.

L'érythropoïèse normale dure de 5 à 6 jours. A partir d'un proérythroblaste, on obtient en théorie, 16 hématies; en fait, au cours des divisions successives, 5 à 10% des cellules meurent (c'est l'érythropoïèse inefficace). Les constituants nécessaires à une érythropoïèse normale sont: le fer, constituant de l'hème de l'hémoglobine, la vitamine B12 et les folates, nécessaires à la synthèse des bases puriques de l'ADN. Le premier signal qui stimule l'érythropoïèse est l'EPO, un facteur de croissance stimulant la prolifération des cellules souches précurseurs des globules rouges dans la moelle osseuse et donc l'augmentation du nombre de globules rouges dans le sang. La stimulation de l'érythropoïèse est concomitante avec une diminution des réserves fer hépatiques et tissulaires.

Cette production est contrôlée principalement par le taux de EPO et par la disponibilité du fer dans le plasma. Les besoins en fer sont très importants au cours de l'érythropoïèse, principalement pour assurer la synthèse d'hème et la formation de l'hémoglobine. Lorsque l'apport de fer fait défaut, il existe un excès de protoporphyrine qui ne peut être intégré dans la molécule d'hème. Les précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse, qui ne peuvent acquérir leur fer que sous forme de complexes fer-transferrine, expriment un très grand nombre de récepteurs à la transferrine à leur surface. Après son export dans le cytosol, la majorité du fer de l'érythroblaste est adressée à la mitochondrie et incorporé dans la protoporphyrine IX pour former la molécule d'hème. Cette réaction est catalysée par la ferrochélatase, la dernière enzyme de la chaîne de biosynthèse de l'hème. Dans l'érythropoïèse normale, les réticulocytes deviennent progressivement des globules rouges matures dans le sang périphérique, perdant à la fois leur ARN et leur TfR (**11,31**).

I.9.5. La synthèse de l'hème

La synthèse de l'hème est partagée dans deux compartiments de la cellule le cytosol et la mitochondrie. La première étape a lieu dans la mitochondrie : à partir de la glycine et la succinyl-coA, l'ALA (δ -aminolevulinate) synthase forme l'ALA. Cette enzyme est présente sous deux formes érythroïde, ALAS1 ou ALAS2 et une forme ubiquiste ALAS1. L'expression génique est réprimée par l'hème. Cette étape est l'étape limitant de la biosynthèse de l'hème. L'ALA est ensuite exporté de la mitochondrie. L'assemblage de tetrapyrrole et la décarboxylation des chaînes auxiliaires ont lieu dans le cytosol. Les étapes finales de synthèse de l'hème déroulent dans la mitochondrie avec notamment l'incorporation du Fe^{2+} par la ferrochélatase (**32**).

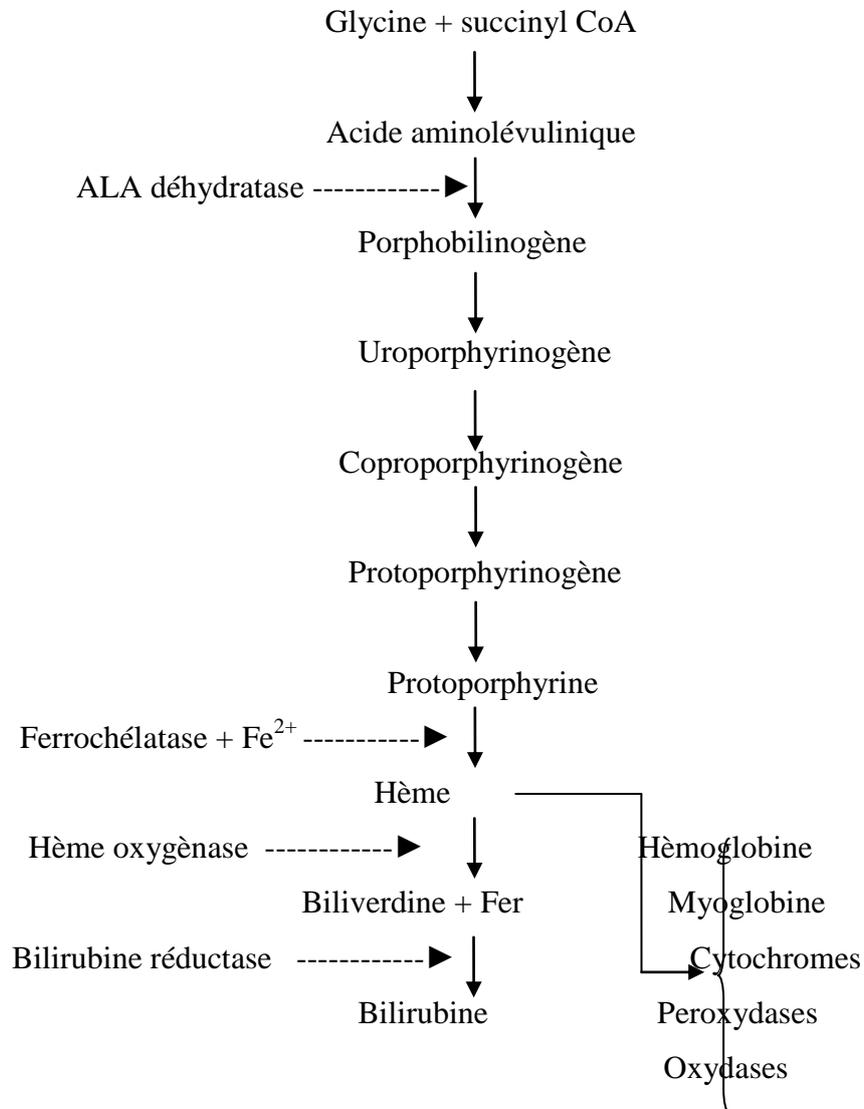


Figure 06 : Le rôle du fer dans la biosynthèse de l'hème (33).

Chapitre II: Le risque oxydatif de l'excès en fer

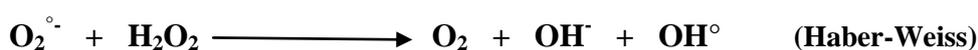
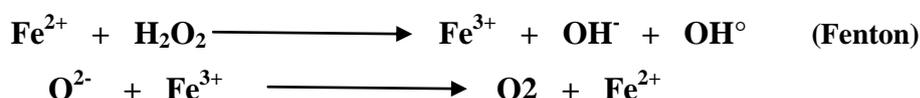
Le fer est très toxique quand il n'est pas maintenu dans les cellules ou lié à des protéines. Le danger du fer libre est dû à sa capacité à générer des radicaux libres. Ces espèces hautement réactives de l'oxygène peuvent interagir rapidement et avec une forte affinité avec presque chaque molécule des cellules vivantes. Le fer peut réagir directement avec les acides gras insaturés et donc provoquer la mort cellulaire. En raison de ces effets délétères, le fer est suspecté pour jouer un rôle important dans la carcinogenèse, la pathogenèse de l'athérosclérose, et des désordres neurodégénératifs (34).

II. 1. Mécanisme d'action du fer

La toxicité du fer est en grande partie basée sur les réactions chimiques de Fenton et Haber-Weiss, où des quantités catalytiques de fer sont suffisantes pour produire des radicaux hydroxyles, de superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, collectivement connue sous le nom d'intermédiaire réactifs de l'oxygène (ROI). Les ROIs sont des sous-produits inévitables de la respiration aérobie et émerge par la réduction incomplète du dioxygène dans les mitochondries. Le fer est élément de transition biochimiquement dangereux par sa participation dans la réaction de Fenton pour produire un radical OH° du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).



Quand un atome de fer est libéré en présence d'un superoxyde et son dérivé OH^- , l' OH° est formé chimiquement par la réaction d'Haber-Weiss.



In vivo ; la participation du fer est résumé selon la (figure 07). L' OH° généré dans la réaction par le Fe^{2+} ou Cu^+ avec le H_2O_2 est initiateur de la peroxydation lipidique d'où résulte une destruction tissulaire (35). La réaction la plus importante dans l'être vivant est celle de la dismutation de l'anion OH° qui produit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). C'est une réaction

Première Partie : Etude Bibliographique

relativement lente en solution neutre mais dans la cellule vivante, elle est extrêmement rapide car elle est catalysée par la superoxyde dismutases (SOD) (36).

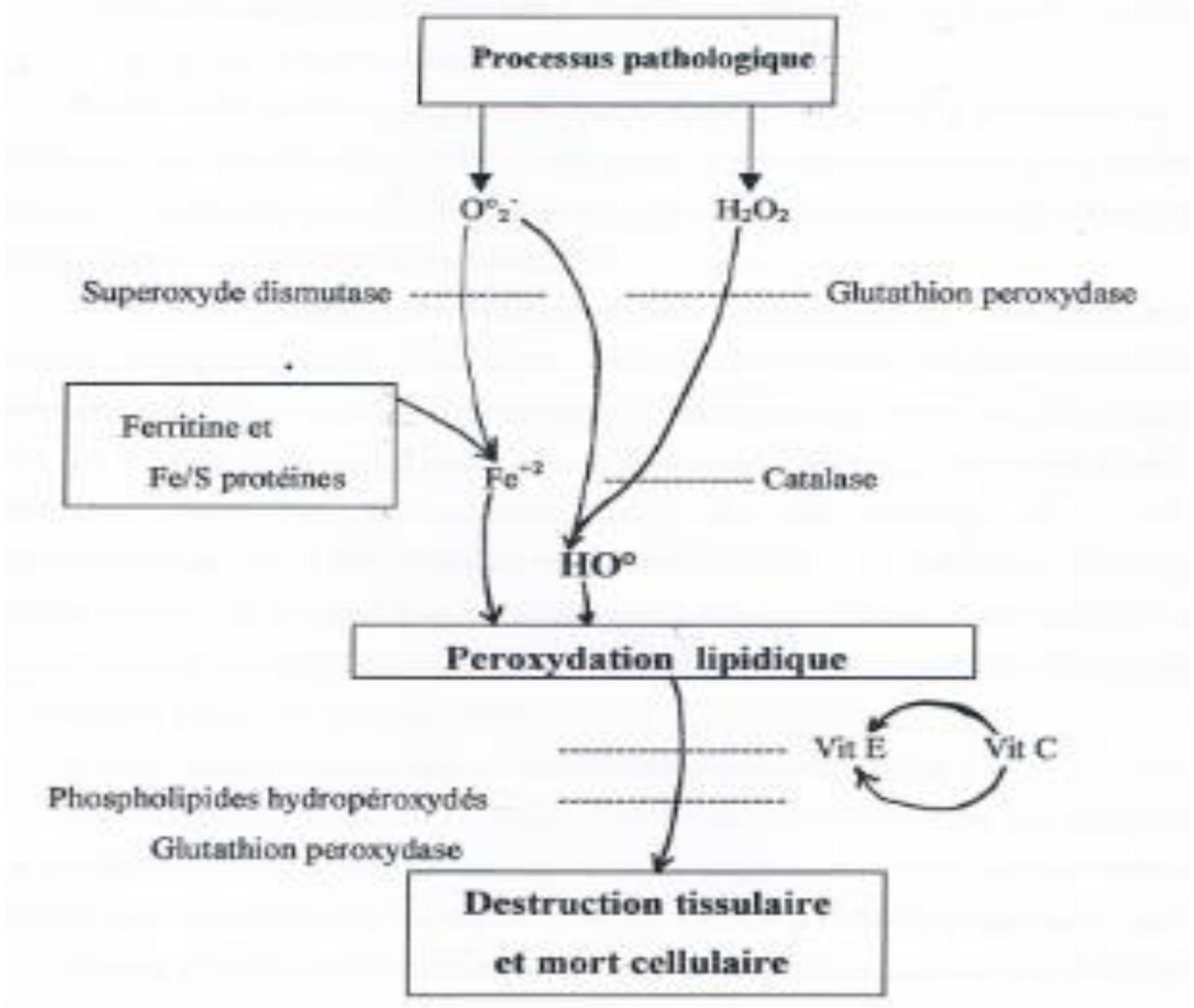


Figure 07 : l'action prooxydative du fer in vivo (37).

Le fer a un potentiel d'oxydoréduction qui catalyse non seulement la production de radicaux hydroxyles(OH°), mais aussi des espèces organiques réactives, tels que peroxyde(ROO°), alkoxy(RO°), thiyl, ou radicaux thiyl-peroxy (RS°) (**Figure 08**) (38).

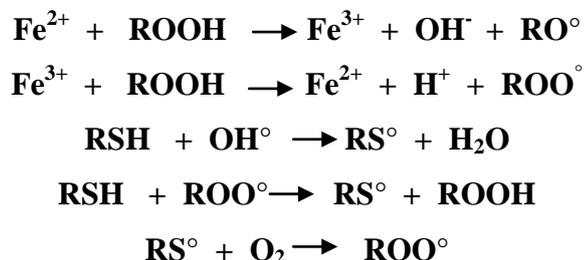


Figure08 : génération de radicaux organiques catalysée par le fer(39).

Le fer héminique peut également catalyser la formation de radicaux, via la formation d'intermédiaires oxoferryl (38).

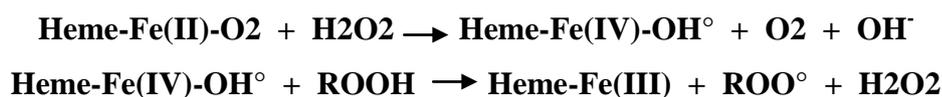


Figure09 : génération de radicaux de l'oxygène catalysée par l'hème par l'intermédiaire de l'oxoferryl (39).

Enfin, le fer ferreux peut également contribuer en tant que réactif, plutôt que comme un catalyseur, à la génération de radicaux libres par une interaction directe avec l'oxygène, par l'intermédiaire du fer ferryl ou perferryl (38).

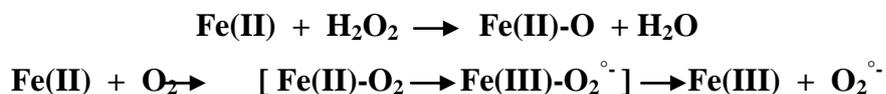


Figure 10: interaction direct du fer avec l'oxygène (39).

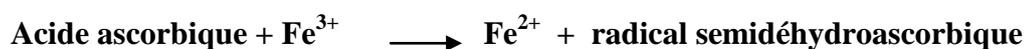
Le fer non lié à la transferrine (FNLT)

Dans les conditions physiologiques, le fer extracellulaire est exclusivement lié à la transferrine alors incapable de s'engager dans les réactions de Fenton/Haber-Weiss. Chez les individus sains, seulement 30% de la transferrine circulante se lie au fer. Dès que la saturation de la transferrine dépasse 45% on retrouve du fer circulant dans le sérum(19). Le fer non lié à la transferrine ou FNLT sera finalement internalisé par des mécanismes mal définis, ce qui entraîne des lésions tissulaires. Le foie capte très avidement le FNLT sans régulation, même lorsque la cellule est surchargée en fer. Lorsque le taux de saturation de la transferrine dépasse 75%, apparaît une composante spéciale du fer non liée à la transferrine, appelée « labile plasma iron » (LPI). Le LPI semble correspondre à la fraction toxique du FNLT. L'expansion du LPI dans les cellules humaines est corrélée avec le stress oxydatif (19).

La liaison du fer à des protéines n'apporte qu'une protection relative. Une fois saturée en fer, les protéines ne sont plus protectrices. Toute situation d'hémolyse ou de saignement est donc associée à une libération plasmatique ou tissulaire de complexes de fer pro-oxydants (19).

II.2. Rôle de l'acide ascorbique

La présence de l'acide ascorbique et d'autres agents réducteurs tel que le NADH en milieu intra et extracellulaire contribue à la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} qui est à l'origine des dommages causés par le fer (40).



II.3. Excès du fer et pathologie

Le fer a été associé à des pathologies à travers sa capacité à provoquer un stress oxydant par le biais du radical OH° formé dans la réaction de Fenton. La peroxydation lipidique est impliquée dans le mécanisme des maladies cardiovasculaires et la dégradation d'ADN(38). Plusieurs études montrent le lien des maladies graves avec la surcharge en fer tel que l'infarctus du myocarde, le cancer, le diabète, l'arthrite, l'ostéoporose et autres(40). Dans les maladies causées par une surcharge en fer tel que l'hémochromatose ou l'hémosidérose polytransfusionnelle, la destruction tissulaire est attribuée surtout à la peroxydation des acides gras polyinsaturés des membranes

cellulaires, qui peut entraîner une dégradation et un dysfonctionnement membranaire et finalement une mort cellulaire **(41)**.

Hémochromatose héréditaire

C'est une surcharge en fer de l'organisme d'origine génétique (hémochromatose primitive, rôle des mutations du gène HFE) à distinguer des surcharges secondaire à différentes causes, l'alcoolisme chronique étant la principale. L'hémochromatose primitive est une des maladies génétiques les plus fréquentes dans l'organisme, génératrice de maladies, malgré un apport nutritionnel normal en fer : l'hémochromatose héréditaire se caractérise par le dépôt de fer dans le foie et d'autres tissus, dû à une faible absorption intestinale du fer sur de nombreuses années . Si elle n'est pas traitée, cette accumulation de fer dans les tissus peut entraîner une altération de la fonction hépatique (cirrhose), un diabète, des dommages du muscle cardiaque ou des articulations (arthrite) **(42)**.

Chapitre III : Hémogramme et Numération de la Formule Sanguine (NFS)

III.1. Définitions et rappels

L'hémogramme, ou hématogramme, est l'étude cytologique quantitative et qualitative du sang circulant. Il s'agit donc d'un diagramme sanguin qui analyse le nombre, la proportion, la morphologie et les variations des éléments figurés du sang (43). L'Hémogramme ou numération Formule Sanguine (NFS) est un examen essentiel pour apprécier un éventuel dysfonctionnement de la moelle osseuse ou des perturbations dites "périphériques". Il apporte des renseignements sur les organes hématopoïétiques, sur les lignées sanguines, sur les processus de défense et sur l'hémostase. Il permet de révéler un grand nombre de pathologies : anémies, augmentation des globules blancs en réponse à une attaque de l'organisme, problème de coagulation et consommation des plaquettes(44).

III.2. Les constituants de l'hémogramme et les paramètres érythrocytaires

Il comprend d'abord les numérations absolues érythrocytaire, leucocytaire et plaquettaire. On établit ensuite pour les globules blancs la formule leucocytaire donnant les pourcentages des différents types de leucocytes : granulocytes neutrophiles, granulocytes éosinophiles, granulocytes basophiles, lymphocytes et monocytes (les granulocytes sont parfois appelés polynucléaires). A côté de la formule leucocytaire on peut évaluer le nombre d'érythroblastes présents sur le frottis. Ce nombre est exprimé en pourcentage du nombre total de globules blancs. Les globules rouges sont aussi caractérisés par les paramètres numériques érythrocytaires suivants:

- L'hématocrite (**HCT**) est le pourcentage du volume sanguin occupé par les globules rouges.
- Le volume globulaire moyen d'un érythrocyte (**VGM**) est exprimé en fentolitres (fl).
- La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (**TCMH**) correspond à la charge moyenne en hémoglobine d'une hématie est exprimée en picogrammes (pg). C'est le rapport de la concentration en hémoglobine sur la numération érythrocytaire.
- La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (**CCMH**) correspond à la charge en hémoglobine pour 100 ml de sang. C'est le rapport de la concentration en hémoglobine sur l'hématocrite. Elle est exprimée en g/100ml ou en pourcentage.

- Le taux de réticulocytes correspond au pourcentage de réticulocytes par rapport au nombre total de globules rouges circulants.

- La concentration en hémoglobine [HB] est déterminée classiquement par spectrophotométrie.

Un autre paramètre érythrocytaire caractérisant une population donnée d'hématie est parfois fourni par certains automates comme le Technicon ou le Coulter S plus. Il s'agit de la courbe de distribution des globules rouges (Red Cell Width) établie en fonction de leur taille (donc du VGM) et qui permet d'apprécier le degré d'anisocytose de l'échantillon (43,47). Enfin l'hémogramme contient aussi des appréciations qualitatives sur la morphologie des cellules sanguines qui sont toutes aussi importantes que les paramètres chiffrés.

III.3. réalisation de l'hémogramme

En pratique, cet examen est réalisé sur sang veineux (chez l'adulte) ou capillaire (chez le petit enfant) prélevé sur anticoagulant sec (EDTA). Lors du prélèvement, le tube doit être agité pour éviter la formation de micro caillots. De plus, pour avoir une analyse cytologique correcte et une numération plaquettaire exacte, l'examen doit être réalisé rapidement (<2h) après le prélèvement. La numération et la formule sanguine sont maintenant réalisées sur des automates de façon suffisamment fiable. Cependant, ces appareils ne détectent pas les cellules dont la présence dans le sang est anormale (cellules malignes par exemple). En conséquence, en cas d'anomalie quantitative ou qualitative détectée par l'automate, une étude morphologique du frottis de sang est indispensable. Elle est réalisée par étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre et coloration au May-Grünwald-Giemsa. L'analyse microscopique permet au biologiste :

- d'étudier la morphologie des globules rouges, des leucocytes, des plaquettes,
- d'établir une formule leucocytaire avec détection d'éventuelles cellules anormales non identifiées par l'automate (blastes, myélémie, cellules lymphomateuses),
- d'apprécier la présence d'éventuels agrégats plaquettaires permettant de détecter une fausse thrombopénie.

III.4. Valeurs usuelles des constituants et paramètres de l'hémogramme

III.4.1. Hémogramme de référence

La littérature ne manque pas de références sur les paramètres hématologiques du rat. Cependant, il peut y avoir de grandes variations d'une étude à l'autre et il semblait a priori difficile d'établir un hémogramme de référence pour l'espèce *Rattus norvegicus*. En effet il existe un très grand nombre de facteurs de variation, parmi lesquels on peut déjà citer le sexe, l'âge, le site de ponction, la lignée, le statut médical, et bien sûr la méthode d'étude de ces paramètres sanguins, manuelle ou

Première Partie : Etude Bibliographique

automatisée. Tous ces facteurs ne peuvent pas être contrôlés de manière semblable par tous les laboratoires et pour toutes les expérimentations. C'est pourquoi ne seront exposées dans ce paragraphe que les valeurs usuelles de l'hémogramme du rat Wistar, car c'est la souche la plus étudiée actuellement dans nos laboratoires (**Tableau02**).

Tableau 02: Hémogramme de rats Wistar mâles et femelles âgés de 6 à 34 semaines (45).

Age (mois)	6 – 8 semaines		19 – 21 semaines		32 – 34 semaines	
Nombre	170	170	30	29	15	15
Sexe	M	F	M	F	M	F
GR ($10^{12}/l$)	6.46 5.79-7.14	6.92 6.2-7.64	8.31 7.37-9.25	7.81 6.86-8.75	8.4 7.74-9.72	7.8 6.92-8.78
Ht (%)	36 32-40	38 34-42	41 36-46	40 35-44	42 39-48	40.7 35-44
Hb (g/dl)	13.5 12.2-14.8	14.1 12.9-15.3	16 14.4-17.6	15.6 14.1-17.1	15.5 14.7-18	16.3 15.2-19.3
VGM (fl)	56 53-59	55 52-59	50 47-52	53 49-56	50.1 48-53	52.4 50-57
TCMH (pg)	20 18-22	20 19-21	19 17-21	20 18-22	18.6 17-20	21 18-23
CCMH (g/dl)	37 33-41	36 34-39	39 35-43	38 34-42	37 34-38	40.3 36-45
Plaquettes ($10^9/l$)	700 estimé	700 estimé	700 estimé	700 estimé	700 estimé	700 estimé
GB ($10^9/l$)	8.66 5.1-12.1	6.96 4.19-9.73	9.37 6.19-12.55	8.43 4.77-12.08	7.8 5.29-10.8	6 4.6-13
Neutrophiles (%)	12 2-22	13 1-25	15 1-29	17 1-32	18 12-34	23 10-40
Lymphocytes (%)	85 76-98	84 74-89	82 70-99	80 67-98	80 65-86	75 59-90
Eosinophiles (%)	1 0-3	1 0-3	1 0-3	1 0-3	2 0-3	2 0-6
Monocytes (%)	2 0-6	2 0-6	2 0-6	2 0-6	0 0-0	0.1 0-1
Basophiles (%)	0 0-2	0 0-2	0 0-2	0 0-0	0 0-0	0 0-0
GR nucléés pour 100GB	0 0-2	0 0-2	0 0-2	0 0-0	0 0-1	0 0-0

Les valeurs principales sont les moyennes de chaque échantillon sous lesquelles sont indiqués les intervalles de confiance correspondants, sauf pour les plaquettes pour lesquelles il s'agit d'une estimation (46).

III.5. Indications de l'hémogramme

De façon générale, l'hémogramme est indiqué dans les cas suivants :

- pour confirmer une donnée ou une impression clinique ; par exemple, une diminution de l'hémoglobine devant une suspicion d'anémie ou une augmentation des polynucléaires neutrophiles devant une angine possiblement bactérienne.

- Pour rechercher une possible anomalie devant un tableau clinique peu parlant ou sans signe clinique sans orientation ; par exemple une asthénie avec amaigrissement inexplicables ou une splénomégalie isolée :

- pour quantifier une anomalie connue ; par exemple, suivre l'évolution de la blastose d'une leucémie aiguë en phase initiale de traitement

- pour surveiller un malade en rémission. L'hémogramme est le plus souvent prescrit dans une situation diagnostique qui ne comporte pas de caractère d'urgence, mais il doit être prescrit en urgence devant des symptômes pouvant faire craindre :

- un taux très bas d'Hb (anémie aiguë) : asthénie majeure avec pâleur, polypnée, tachycardie, voire souffle systolique, céphalées, "mouches volantes" et soif intense ,

- une granulocytopenie majeure : fièvre, syndrome infectieux, surtout accompagnés d'angines et/ou d'ulcérations buccales.

- une thrombopénie : syndrome hémorragique avec purpura. La constatation d'une anémie sévère (<7g/dl) ou d'une neutropénie majeure (<200/F1) ou d'une thrombopénie à risque (<20 000/F1) doit faire discuter la prise en charge en urgence, en milieu spécialisé(43).

Deuxième partie: étude expérimentale

I .Matériels et méthodes

I.1.Model animal

Cette étude a été réalisée sur 12 rates de laboratoire de souche Wistar. Les rats ont été élevés dans l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV) Université des Frères Mentouri Constantine.



Figure 11 : Rats de laboratoire de race *Rattus norvegicus* (souche Wistar)

Les rats utilisés sont des femelles pesant de 150 à 160 g .Ils sont placés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, munies de biberons. Une épaisse couche de copeaux de bois est déposée au fond des cages qui est utilisé comme literie.

I.2. Alimentation

Les rats sont nourris quotidiennement par un aliment standard, sous forme de granulés d'origine commerciale (aliments granulés pour les bovins, production ONAB de Oued Hamla).

I.3. Constitution des lots

Les femelles sont répartit en deux lots, chaque lot est constituer de 6 rats.

-Le premier lot (C) alimenté au cours de l'expérimentation par le régime standard.

-Le deuxième lot (Fe^{+}) alimenté par le même régime et injecté par 8mg Fe /kg de poids corporel (IP) sous forme de chlorure ferreux tetrahydraté $[FeCl_2(H_2O)_4]$.Les animaux ont été nourris tout les jours a heure fixée et ont reçu de l'eau distillée a volonté dans des biberons en plastique . La prise alimentaires a été mesurée quotidiennement dans chaque groupe, tandis que le pesé des rats a été

effectué tout les trois jours .La sciure utilisés comme literie pour les animaux a été renouvelé trois à quatre fois par semaine .

I.4.Prélèvements sanguins

Au 21^{ème} jour de l'expérimentation ou les animaux ont été à jeun depuis 18h. le sang est prélevé par ponction du sinus rétro-orbitaire en utilisant des pipettes pasteur héparinées. Le sang est récupéré sur des tubes de 5 ml contenant de l'EDTA (anticoagulant) (47).

✚ Technique de ponction du sinus rétro-orbitaire

L'animal est maintenu d'une main en décubitus latéral et tenu par la peau du cou, entre le pouce et l'index. La pression du pouce sur le cou, derrière l'angle de la mâchoire, permet de réaliser une compression de la veine jugulaire et donc une stase veineuse vers la tête, favorisant le remplissage du sinus rétro-orbitaire. En effectuant une légère traction sur la paupière supérieure avec l'index, on crée une exophtalmie qui facilite le prélèvement. L'extrémité du tube ou de la pipette est introduite lentement dans l'angle médial ou latéral de l'œil. La progression à travers les tissus est facilitée en imprimant une légère rotation à la pipette. La paroi des vaisseaux est très fragile et dès qu'on atteint le plexus veineux, le sang jaillit dans l'espace périorbitaire et monte par capillarité dans la pipette qu'il faut maintenir horizontale pendant qu'elle se remplit. Il est parfois nécessaire de retirer un peu l'extrémité pour amorcer le flux ou pour obtenir un remplissage plus rapide(48,49).



Figure 12 : prélèvement du sang par ponction du sinus rétro-orbitaire

I.5.Dosage

Les analyses hématologiques ont été réalisées directement (après une heure de prélèvement) afin d'éviter l'autolyse des cellules et obtenir des résultats fiables. Les analyses hématologiques ont été déterminées sur un automate compteur modèle BC 2800. Cet appareil destiné à l'analyse hématologique de manière automatique qui donne des informations sur les globules blancs, les globules rouges, les plaquettes, l'hématocrite (HCT), l'hémoglobine (HB), le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (50).



Figure13: Automate compteur modèle BC 2800



Figure14 : Les réactifs de dosage (M-30R rinse , M-30D diluant ,M-30C FL lyse ,M-30E E -Z cleanser)

Principe de fonctionnement de l'automate

Il s'agit d'un compteur qui aspire une petite quantité du sang total qui va être dilué en solution physiologique ; puis distribuée vers les trois chambres de l'automate :

Chambre RBC :

Permet la numération des GR par impédance [coupure d'électricité après passage des GR entre 2 électrodes] → Comptage des cellules.

Le comptage d'HCT par variation de la tension lors du passage des cellules sanguines dans l'orifice d'un traducteur qui est proportionnel au volume de petites cellules. Les impulsions situées entre 2 niveaux de discrimination donnent le comptage d'HCT multiplié par le taux de dilution.

Chambre WBC :

Le comptage de GB et PLT se fait par le système optique après hémolyse des GR à l'aide d'une solution de lyse approprié.

Chambre HGB

L'Hémoglobine n'est pas stable , la mesure est effectuée à l'aide d'un surfactif qui détruit la membrane des GR pour libérer l'Hb, le fer d'Hb passe de l'état ferreux (Fe^{2+}) à l'état ferrique (Fe^{3+}) pour former la méthémoglobine qui en se combinant avec la cyanure de potassium, donne la cyan méthémoglobine (stable) et peut être dosé par colorimétrie. Après la numération des GR, GB, PLT, et HCT ; l'automate passe pour calculer les constantes hématimétriques (VGM, TCMH, CCMH).

Deuxième Partie: Etude expérimentale

Valeur globulaire moyen (VGM) : correspond au rapport entre l'hématocrite et le nombre d'hématies.

$$\text{VGM} = \text{Hématocrite} / \text{Nb de GR} = \dots \text{ femtolitre -ft}$$

Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (T.C.M.H) : correspond au poids moyen d'hémoglobine contenu dans une hématie (Hb divisé par le nombre d'hématie)

$$\text{TCMH} = \text{Hb} \times 10 / \text{Nb GR} = \dots \text{ pg}$$

Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) : correspond à la concentration moyenne en hémoglobine par hématie (hémoglobine divisé par hématocrite).

$$\text{CCMH} = \text{Hb} \times 100 / \text{HCT} = \dots \%$$

Cet automate, comme la plupart des analyseurs hématologiques, est au départ destiné à l'analyse de cellules humaines. Les limites de précision et le calibrage ne sont pas toujours adaptés à l'animal, et dans ce cas particulier au rat ,plusieurs auteurs recommandent d'ajuster la tension du courant au niveau de l'ouverture, c'est-à-dire d'augmenter le voltage, qui est, pour les automates de médecine humaine, de 150 volts, jusqu'à 175 à 225 volts pour le rat **(50,51)**.

I.6. Etude statistique

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SPSS en utilisant le test de Student (t). Les résultats sont donnés sous forme de moyenne et écart type. Les différences entre les moyennes ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

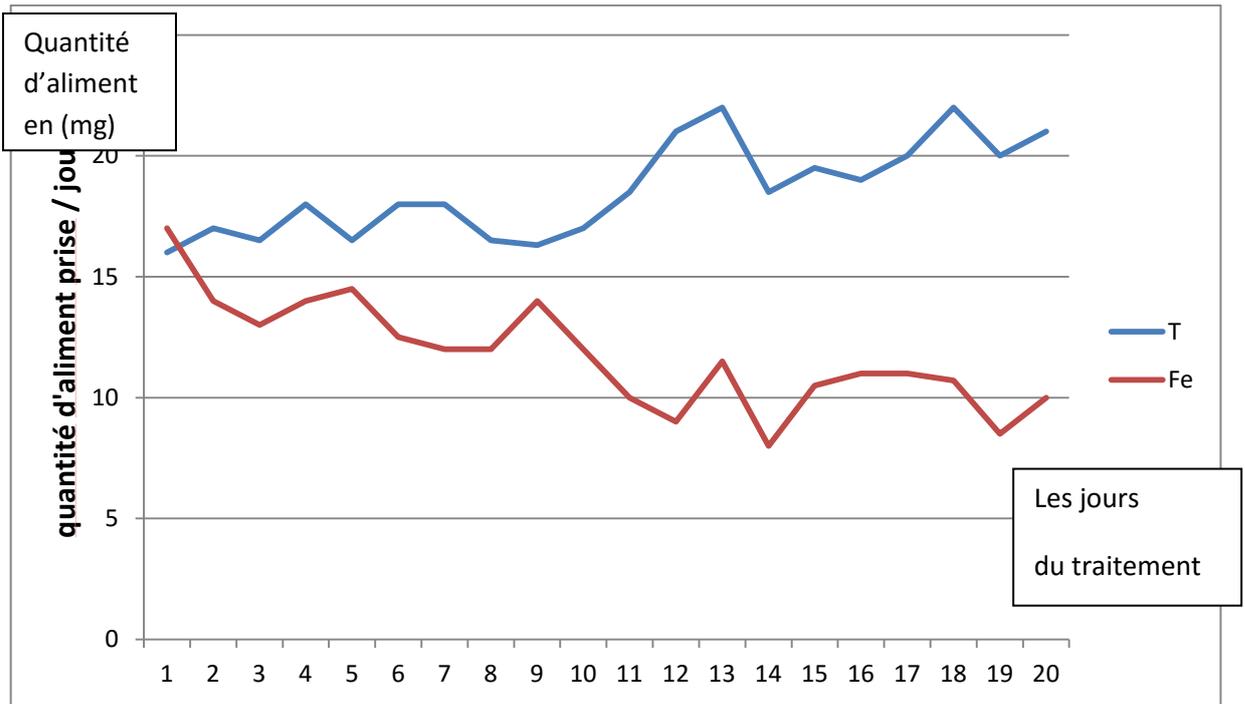
II. Résultat et discussion

II.1. Symptômes de la supplémentation en fer

Parmi les symptômes qui ont été observés au cours de la période de l'expérience l'apparition des troubles de digestion, qui se manifestent dans la diarrhée chez les rats supplémentés en fer. Ainsi on enregistré une diminution de la quantité de nourriture consommée par jour chez les rats traités avec une moyenne de 11,76g contre 18,56g chez les rats témoins **Figure (15)**.

La figure (16) montre l'évolution pondérale des rats durant la période d'expérimentation. On observe que le traitement des rates avec le fer a provoqué une diminution de leur poids par rapport à celles du groupe contrôle. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus dans des études antérieures(**1,55**), Il a été observé chez les enfants qui ne souffrent pas d'anémie, que leur supplémentation en fer a eu un effet négatif sur le poids et la taille des enfants (**15**). Alors qu' une autre étude a montré que la supplémentation en fer n'a pas d'impact significatif sur le poids des rats ou sur la quantité de nourriture consommée (**53**). D'autre part, il a été constaté que le gain de poids chez les rats qui sont alimentés par un régime riche en fer (500 mg Fe / kg d'aliment) a augmenté de façon significative ($p < 0.05$) par rapport à des rats qui ont été alimenté par un régime de la teneur en fer 50 mg / kg d'aliment(**54**).

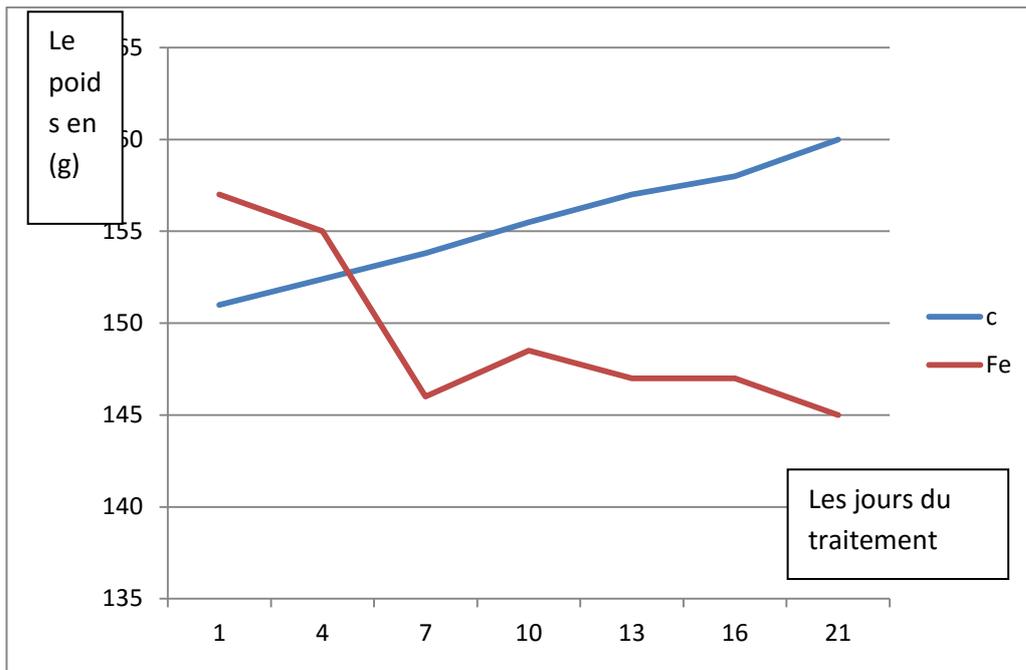
Ces contradictions dans les résultats peuvent être expliquer par plusieurs facteurs tels que la différence des conditions expérimentales, la méthode de supplémentation, la dose prise et la forme chimique du fer fourni. Dans cette étude, le retard de l'évolution pondérale chez les rats supplémentés en fer, peut être due au trouble digestif de type de diarrhées et perte d'appétit qui ont été constatés durant le traitement.



T: les rates temoins

C: les rates traités

Figure 15: La prise moyenne d'aliment par jour.



C: les rates témoins

Fe: les rates traités

Figure16: L'évolution pondérale des rats durant la période d'expérimentation.

II. 2. Numération hématologique

II.2.1. Lignée leucocytaire

La figure (17) représente les résultats de la numération leucocytaire totale moyenne (globules blancs, lymphocytes, granulocytes) . le nombre des globules, des lymphocytes et des granulocytes respectivement a été augmenté significativement ($p < 0.05$, $p < 0.03$, $p < 0.02$) chez les rats supplémentés en fer par rapport au rats témoins. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Dogar et autre en 2013 qui ont trouvé une augmentation significative ($p = 0.00$) des lymphocytes chez les femmes enceintes anémiques qui ont reçu une supplémentation en fer pour une période de trois mois. Cela montre l'importance du fer pour élever le nombre des lymphocytes dans le sang(55).

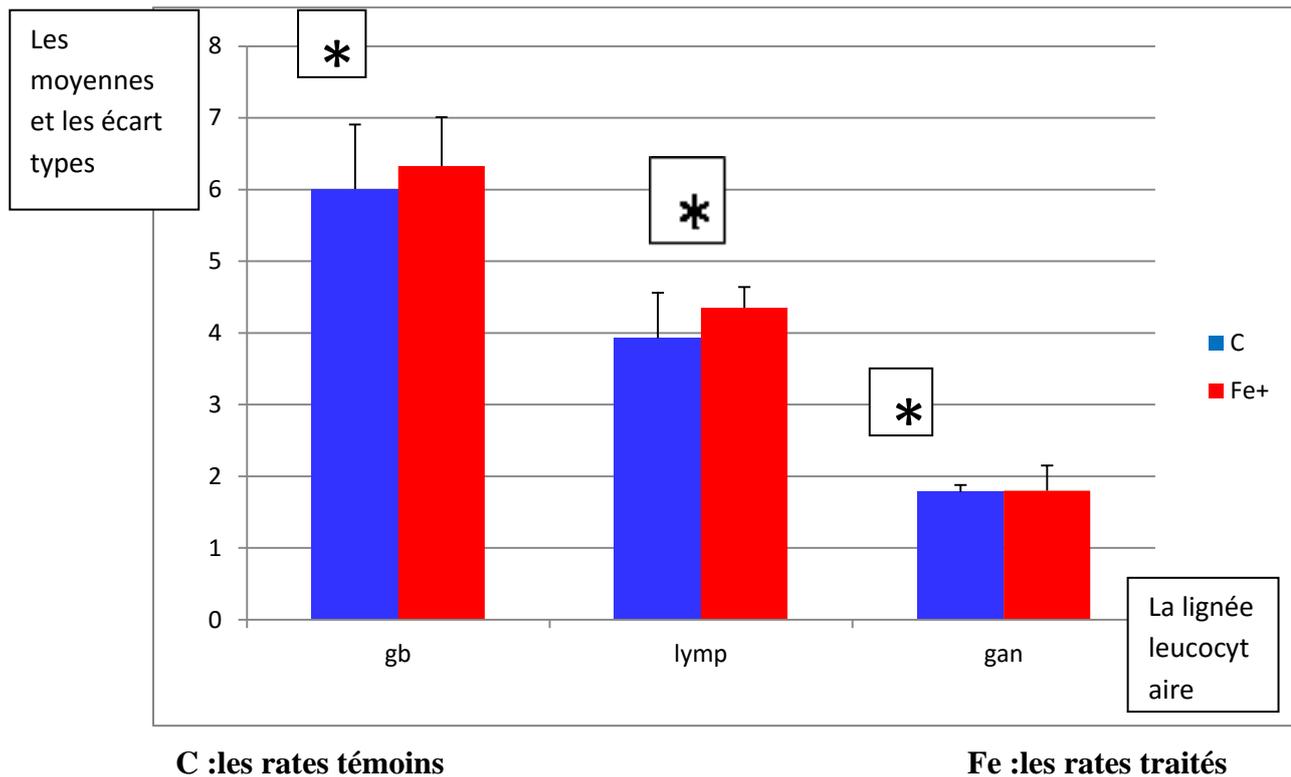


Figure 15: Numération Leucocytaire (globules blancs, lymphocytes, granulocytes) * $P < 0.05$.

La carence en fer entraîne une baisse de la résistance à l'infection en raison du manque d'efficacité du système immunitaire envers les facteurs pathogènes. Les enfants atteints d'anémie souffrent souvent d'infections bactériennes pendant de longues périodes, en particulier au niveau des voies respiratoires(56). Les Leucocytes malgré elles phagocytent les bactéries mais elles ne sont pas capables de les détruire en raison de la baisse d'activité du myéloperoxydase qui est une métalloenzyme renfermant du fer et qui produit des radicaux libres capables de détruire des germes pathogènes(57).

Si le fer renforce l'organisme il peut être exploité par des agents pathogènes pour se développer, c'est pour cela les concentrations excessives en fer dans l'organisme peut avoir un effet anti immunitaire par son utilisation dans la croissance des germes pathogènes. C'est-à-dire que la supplémentation en fer augmente le risque de maladie infectieuse, parce qu'un excès du fer libre facilite la croissance des cellules bactériennes(58).

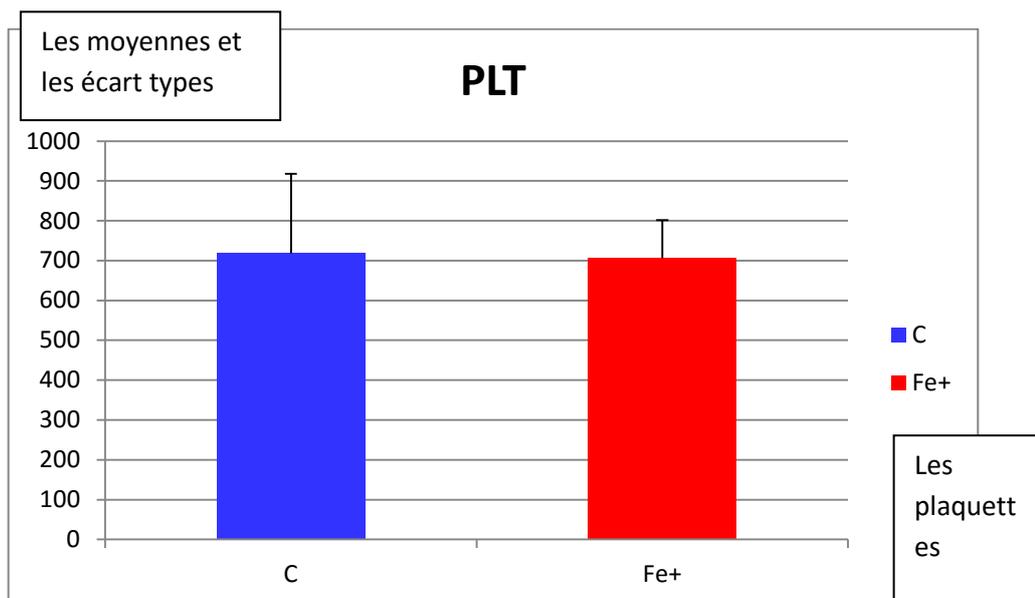
L'accumulation de fer stimule la production des radicaux libres qui jouent le rôle d'un deuxième message en activant les facteurs de la transcription NFKB qui régule le fonctionnement des gènes

participant dans la réaction inflammatoire .donc l'augmentation de nombre des globules rouges indique que le fer a induit la production des cytokines qui déclenche les réaction inflammatoires (1).

Pour d'autres auteurs, la supplémentation en fer a provoqué une diminution des globules blancs (59). Le fer est toxique sur la moelle osseuse (lieu de l'hématopoïèse). Leur destruction libère du fer qui se dépose dans tout les organes ,se ci provoque un retard et mal formation globulaires (60).

II.2.2 Les plaquettes

La figure (18) montre une faible diminution dans le nombre des plaquettes sanguines chez les rats supplémentés en fer mais sans différence significative entre les deux groupes ($p = 0.98$). Ce résultat est similaire à l'étude publiée par Dogar et autre en 2013 ou ils ont trouvé que les chiffres de plaquettes sont restés inchangés après la thérapie de fer(55).



C :les rates témoins

Fe :les rates traités

Figure18: Les taux des plaquettes au 21ème jours de l'expérimentation $P > 0.05$

Deuxième partie : étude expérimentale

Dans une autre expérience exercée sur des personnes atteintes d'anémie martiale qui ont été supplémenté par le fer dextran, il y avait une diminution très légère dans le nombre des plaquettes qui reste non significative ($p = 0.3$) **(61)**.

Dans une récente étude, Besarab et autre en 2010. ont signalé que la correction de la carence en fer abaisse les plaquettes. Cela a conduit certains à émettre l'hypothèse que la carence en fer peut produire une thrombocytose relative qui peut contribuer à des événements thrombotiques.. Selon ce point de vue, la carence en fer est un facteur de risque de thrombocytose qui devrait, autant que possible, être évitée. La supplémentation du fer peut éventuellement réduire le risque d'événements cardiovasculaires**(62)**.

Bien que les suppléments de fer sont principalement prises pour augmenter le nombre de globules rouges dans le sang, et non pas les plaquettes, le fer peut avoir un effet sur la fonction plaquettaire. Le fer dans le sang peut générer une classe de molécules appelées radicaux libres, qui peut activer les plaquettes. Une étude a été publiée précédemment dans la a constaté que le fer était en mesure d'interagir avec les plaquettes et les amener à devenir activés.

Bien que le fer puisse aider à activer les plaquettes, il peut aussi affecter leur quantité. Les personnes atteintes de la maladie inflammatoire de l'intestin ont souvent des nombres élevés de plaquettes. Une étude publiée a constaté que la supplémentation en fer pour les patients souffrant d'anémie due à une maladie inflammatoire de l'intestin réduit le nombre de plaquettes dans le sang à des niveaux normaux. Cela suggère que certaines formes d'anémie peuvent conduire à des niveaux élevés de plaquettes, et la supplémentation en fer peut aider à corriger l'anémie et la numération plaquettaire inférieure **(63)**.

III.2.3. Lignée érythrocytaire

La figure (19) représente les résultats de la formulation érythrocytaire. On observe que la supplémentation en fer n'a aucun effet significatif successivement sur le nombre des globules rouges ($p = 0.69$), sur le taux d'hémoglobine ($p = 0.65$) et sur le pourcentage de l'hématocrite ($p = 0.14$). Ce résultat est similaire à l'étude réalisée par Zouaghi en 2011**(1)**.

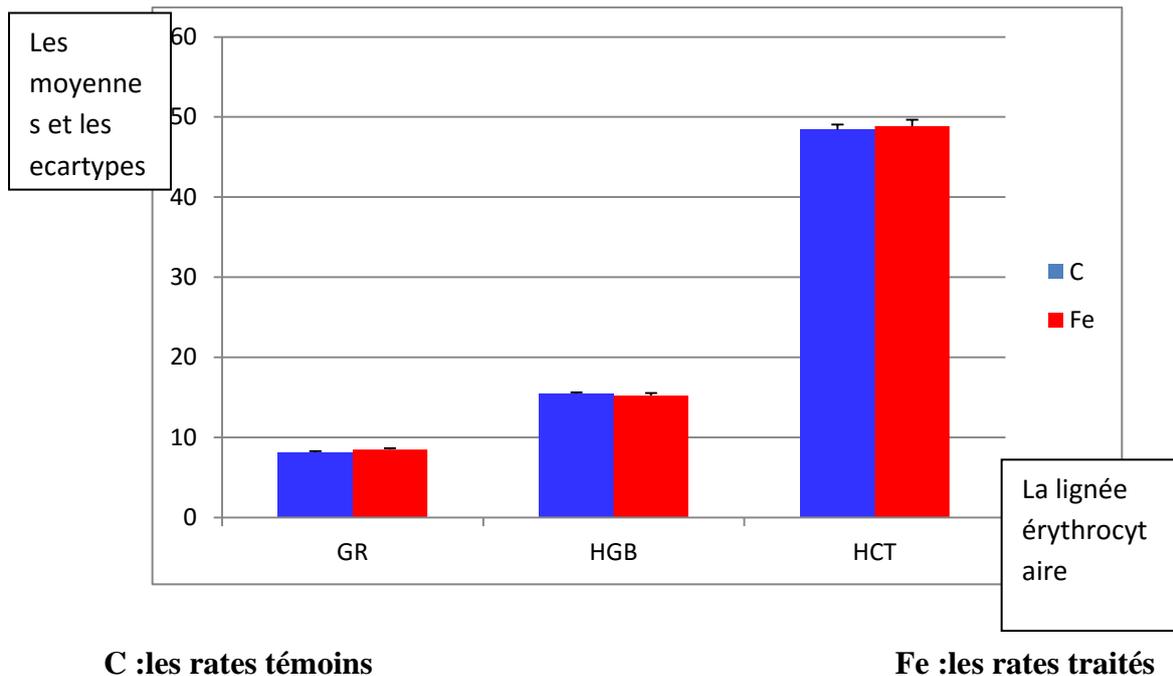


Figure19: Numération érythrocytaire (globules rouges, hémoglobine, hématocrite)

Si la supplémentation en fer améliore les paramètres hématologiques des femmes ayant une anémie, le bénéfice d'une telle démarche n'est pas prouvé chez des femmes ayant un bilan hématologique normal(64), et c'est ce que nous avons observé dans notre étude chez les rats supplémentés en fer qui ne sont pas anémiques. On peut expliquer nos résultats par la quantité de fer qui a été suffisant dans la nourriture.

dans un essai concernant 18 jeunes femmes non anémiques avec une ferritine <math>< 20 \mu\text{g/L}</math>, ont montré des hausses significatives de ferritine, mais aucun effet sur l'HB, après 8 semaines de supplémentation par rapport au Klingshirn L(65). ont également constaté que la supplémentation en fer augmente les valeurs de ferritine chez des femmes non anémiques, appauvri en fer, pratiquant la course à pied, mais ne modifie pas le taux d'hémoglobine(66).

les valeurs du volume globulaire moyen (VGM) et de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) ont été augmenté chez les rats supplémentés en fer par rapport au rats témoins mais restent non significatifs ($P=0.63$, $p = 0.39$). Concernant le taux de concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine (CCMH), il n'a pas été varié significativement entre les deux groupes ($p = 0.43$).

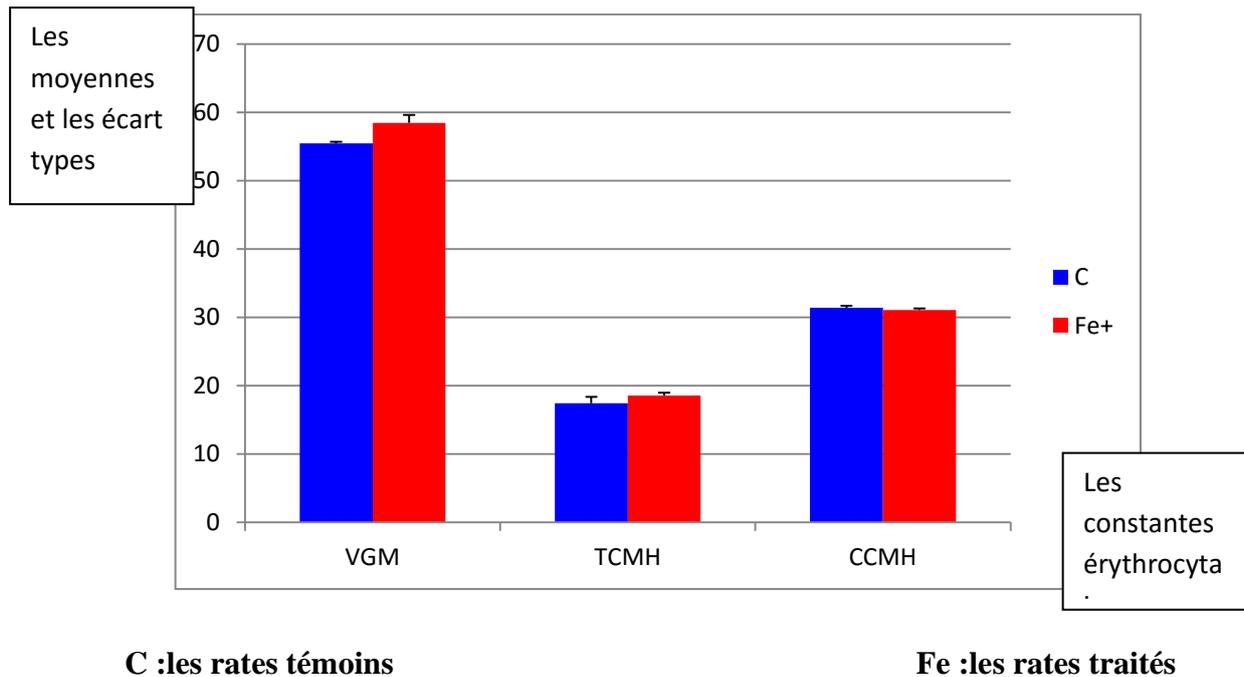


Figure20: Les constantes érythrocytaires (VGM, CCMH, TCMH)

Dans l'anémie ferriprive définie, le volume globulaire moyen (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) sont réduites ; la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) est également basse. Dans des études menées sur des sujets atteints par l'anémie, leur supplémentation en fer a fait augmenter les valeurs de VGM, TCMH et CCMH(55).

Le volume globulaire moyen est une valeur biologique rendant compte de la taille des globules rouges. La valeur du VGM permet souvent de poser le diagnostic étiologique de l'anémie. Le volume globulaire moyen est un élément important de l'exploration des troubles du métabolisme du fer, en permettant de mettre en évidence une microcytose ou une macrocytose(67).

III. Conclusion

Dans cette étude on est arrivé à réaliser un modèle expérimental de l'excès du fer sur les rates albinos de souche Wistar par injection intrapérétoniale d'une dose de 8mg de fer /Kg du poids corporel sous forme de chlorure ferreux tétrahydraté.

La supplémentation en fer a provoqué une baisse de la prise moyenne d'aliment par jour, un retard de l'évolution pondérale chez les rats traités.

Concernant le bilan hématologique, on a enregistré une augmentation significative de nombre de globules blancs, de lymphocytes et de granulocytes chez les rats traités par rapport aux rats témoins. Par contre les globules rouges et les plaquettes n'ont pas changé significativement, la valeur du volume globulaire moyenne (VGM) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) ont augmenté mais restent non significatives.

A partir de ces résultats on conclue que la supplémentation en fer a un effet sur la numération leucocytaire et que l'augmentation en nombres des globules blancs signifie que le que l'excès du fer a une action pro-inflammatoire.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier la toxicité du fer par son effet sur les paramètres hématologiques. On a utilisé des rats femelles de souche Wistar, pesant entre 150g et 160g.

Les femelles sont réparties en deux groupes. Chaque groupe est composé de 6 femelles. Le premier groupe (C) est utilisé comme témoin qui est alimenté au cours de l'expérimentation par un régime standard. Le deuxième groupe (Fe^+) est alimenté par le même régime et injecté à la fois par une dose de fer estimée à 8mgFe/kg de poids corporel sous forme de chlorure ferreux tétrahydraté. Les rats ont été injectés toutes les 72 heures pendant 21 jours.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que la supplémentation en fer a entraîné une diminution dans le gain de poids des rats, et une diminution de la quantité d'aliment prise par jour. Concernant le bilan hématologique, la supplémentation en fer a conduit à une augmentation significative dans le nombre de globules blancs, lymphocytes et de granulocytes. Cependant le taux de plaquettes, de globules rouges, la concentration d'hémoglobine et le pourcentage d'hématocrite, n'ont pas changé significativement. Pour les constantes érythrocytaires; les valeurs de volume globulaire moyen (VGM), La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) ont été augmentées mais restent non significative chez les rats traités par rapport au rats témoins .

En conclusion, la supplémentation en fer a fait augmenter la numération leucocytaire ce qui indique que l'excès du fer a une action pro-inflammatoire.

Mots clés : fer, paramètres, hématologiques, radicaux libres, stress oxydant, hémogramme

Abstract

The objective of this work is to study the toxicity of iron by its effect on hematological parameters. Were used Wistar female rats weighing between 150g and 160g, The females are divided into two groups. Each group consists of 6 females. The first group (C) is used as a control which is fed during the experiment by a standard diet. The second group (Fe^+) is fed with the same diet and injected by both an iron dose estimated 8mgFe / kg body weight in the form of ferrous chloride tetra hydrated. Rats were injected every 72 hours for 21 days.

The results obtained in this study show that iron supplementation led to a decrease in the weight gain of the rats, and a decrease in the amount of food taken daily. Haematological tests for, iron supplémentaion led to a significant increase in the number of white blood cells, lymphocytes and granulocytes. However the platelets, red blood cells, the hemoglobin concentration and the hematocrit percentage did not change significantly. For erythrocyte constants; The corpuscular volume values mayen (MCV), the mean corpuscular hemoglobin (MCH) were not significantly increase but remain in the treated rats compared to control rats.

In conclusion, iron supplementation actually increased leukocyte counts indicating that excess iron has a pro-inflammatory action.

Keywords: iron, parameters, hematological, free radicals, oxidative stress, blood count

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة سمية الحديد و أثرها على المؤشرات الهيماتولوجية, تم اتخاذ جرذان إناث من فصيلة Wistar Albinos يتراوح وزنها ما بين 160 و150 جرام. قسمت الجرذان إلى مجموعتين كل مجموعة تحتوي على 6 جرذان إناث المجموعة الأولى اعتبرت كشواهد (C) حيث تمت تغذيتها براتب غذائي عادي اما المجموعة الثانية

(Fe^{+}) فهي تحتوي على جرذان إناث معاملة ب8 ميليجرام/كيلوجرام من وزنها و هذا في شكل Chloride ferreux tetrahydrate حققت الجرذان 72 ساعة لمدة 21 يوم.

النتائج المحصل عليها من خلال هذا العمل تبين ان التزويد بالحديد تسبب في انخفاض وزن الجرذان كذلك في نقص كمية الغذاء المتناول كل يوم . في ما يخص الحصيلة الدموية التزويد بالحديد يتسبب في ارتفاع معتبر في عدد الكريات البيضاء و الخلايا اللمفاوية , فيما يخص الصفائح الدموية , الكريات الحمراء, تركيز الهيموجلوبين, ونسبة الهيماتكريت قيمها لم تتغير بصفة معتبرة اما الثوابت VGM, TCMH قيمها ارتفعت لكن نسبة التغير ليست معبرة مقارنة بالشواهد .

توصلنا في الأخير إلى أن التزويد بالحديد له دور في ارتفاع نسبة الكريات البيضاء مما يؤدي الى اعراض التهابية حادة

الكلمات المفتاحية : الحديد, المؤشرات الهيماتولوجية, الجنور الحرة, التوتر التاكسدي, الهيموجرام ,

References

- 1. Zouaghi Y.** Effet de la supplémentation de fer sur la peroxydation lipidique chez les rats femelles gestante, these doctorat université mentouri constantantine. 2011.
- 2. Vernet M, Tissier G, Delwaide P, Sies G, Henny J.** Les recepteurs soluble de la transferrine :intérêt en biologie clinique ,biologie prospective .comptes rendu du 9 colloque de pont –à- Mousson . Ed :M-M Galteau , libbe Eurotexte, paris c. Hopital de croix-Rousse laboratoire de biochimie 69004 Lyon ,France . 1997. pp.465-471.
- 3. KadiiSKA M B, Burkitt M J, Xiang Q H, Mason R P.** Iron supplementation generates hydroxyl radical in vivo. The Journal of Clinical Investigation Inc. 1995; 96: 1653- 1657.
- 4. Chappuis p, Favier A.** Société Francophone d'études et de Recherches sur les éléments trace essentiels. les oligoéléments en nutrition et en thérapeutique. Paris, France : Tec et doc .1995 .
- 5. Andrews PA.** Disorders of iron metabolism. N Engl J Med. 27 avr. 2000;342(17):1293.
- 6. Ferraguti L .** Apports en fer par l'alimentation dans la carence martial :conseil et rôle du pharmacien d'officine [Thèse d'exercice : Pharmacie] .[Rennes] : Université européenne de Bretagne. 2010 .
- 7. Omar S, Feki M, Kaabachi N.** Le métabolisme du fer :revue général et récents développements. Ann. Biol .Clin (paris).dec 2006 ;64(6) :523 -534.
- 8. Kautz L.** Rôle de BMP6 et de HFE dans la régulation de l'entrée du fer dans l'organisme . [Internet] [Thèse de doctrat: Physiopatologie moléculaire, cellulaire et intégrée] .Université Toulouse III- Paul Sabotier .2009 ; Disponible sur: <http://thesesups.ups-tlse.fr/757//theseups.ups-tlse.fr/757/>. [20avr 2015].
- 9.** La déficience en fer : un problème d'actualité dans la population française [Internet]. Université Médicale Virtuelle Francophone. 2004 . Disponible sur: http://myrmek.free.fr/pfevr/evian/fer_deficience.pdf ;[13avr 2015].
- 10. Lafond J L , Arnaud J.** Métabolisme du fer. La revue du praticien. 2000, 50 : 945-949.
- 11. Beaumont C.** Actualités du métabolisme du fer. Rev Médecine Interne. décembre 2009;30, Supplement 4:S307-S310.

- 12. Hurrell R F.** Bioavailability of iron. Eur J Clin Nutr.1997 ; 51: 54-58.
- 13. Montalembert M , Bresson J-L, Bronzes C, Ruemmele F-M, Pury H, Beaumont C.** Exploration d'une anémie microcytaire chez l'enfant .Arch. Pédiatrie Organe off . Société Française Pédiatrie. Mars 2012 ;19(3) :295-304 .
- 14. Franziska D B.** Régulation du métabolisme du fer. Forum Med Suisse. 2009 ; 9 (36) :630-3-632.
- 15. Troadec M-B, Loreal O, Brissot P.** Métabolisme du fer [Internet]. Encycl. Médico Chirurgical. Elsevier Masson. 2006. Disponible sur:<http://www.empremium.com/showarticlefile/51303/10-40611.pdf>2001 [25 avr 2015]
- 16. Andrews N C.** Disorders of iron metabolism N Engl J Med. 1999 ; 341: 1986-1995.
- 17. Vulont S.** L'hepcidine , la grande dame du fer. Actual. Néphrologie Jean Hambg. 2006;223 -227.
- 18.Viatte L, Vulons S,** L'hepcidine : une histoire de fer au cœur du foie. Hématologie.2007;13 (3) : 165 -176.
- 19.Papanikolaou G, Pantopoulos K.** Iron metabolism and toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2005;202(2):199-211.
- 20.Poss KD, Tonegawa S.** The heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;95:10919-10924.
- 21.Mckie AT, Marciani P, Rolfs A.** A novel duodenal iron-regulated transporter,IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation Mol Cell . 2000;5:299-309.
- 22.Troadec M-B, Lainé F, Deugnier Y, Brissot P.** Métabolisme hépatique des métaux :exemple du fer et du cuivre [Internet]. Encycl. Médico Chirurgical. Elsevier Masson. 2001. Disponible sur: <http://www.empremium.com/showarticlefile/1400/07-22880.pdf>. [20avr 2015].
- 23. Pantopoulos K.** Iron metabolism and the IRE/IRP regulatory system: an update. Ann.N. Y. Acad. Sci. mars 2004;1012:1-13.
- 24.Thomas.** L'hepcidine. Hormone clé du métabolisme du fer: Fonction et perspectives [Thèse d'exercices] Université de Srasbourg .2011.

- 25. Yip R.** Significance of an abnormally low or high hemoglobin concentration during pregnancy: special consideration of iron nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;72(suppl), 272S-279S.
- 26. Walter T, Olivares M, Pizzaro F, Munoz C.** Iron, anemia, and infection. *Nutrition Reviews* 1997;55, 111-124.
- 27. Hercberg S,** La carence en fer en nutrition humaine ,Editions Médicales internationales, paris. 1988 ;203p.
- 28. Hercberg S ,Galan p,** Iron status ,immune capacity ,and resistance to infections . *Comp. Biochem. Physiol.* 1983; 96C:271-280.
- 29. Muñoz C, Rios E, Olivares J, Brunser O, Olivares M.** Iron, copper and immunocompetence. *Br. J. Nutr.* 98(Suppl. 1) 2007: S24-S28 [CrossRef](#), [Medline](#).
- 30. Cook JD , Lynch, S .**The liabilities of iron deficiency blood. 1986; 68,803-809.
- 31. Zoller H, Vogel W.** Iron supplementation in athletes-first do no harm. *Nutr.* Burbank Los Angeles Cty. Calif. août 2004;20(7-8):615-619.
- 32.** <http://erasmeinfo.ulb.ac.be/globule/Francais/biosynthese.htm>[15 mai 2015].
- 33. Allain, p.** fer – effets (2008)http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Fer_2.php [consulté juill 2015]
- 34. Kehrer JP.** The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology.* 14 août 2000;149(1):43-50.
- 35. Hirayama K, Yasutake A.** Free radicals and trace elements. *J Trace Elem Exp Med.* 1998; 11: 209-217.
- 36. GEISSER P.** Iron therapy with special emphasis on oxidative stresses. *Vifor (International) Inc.* 1998.
- 37. Mc cord JM.** Iron, Free radicals , and Oxidative injury. *Seminars in Hematology.* 1998; 35 (1): 6-12.
- 38. Tuomainen T-P, Loft S, Nyssönen K, Punnonen K, Salonen JT, Poulsen HE.** Body iron is a contributor to oxidative damage of DNA. *Free Radic. Res.* 2007;41(3):324-328.
- 39. Schümann K, Ertle T, Szegner B, Elsenhans B, Solomons NW.** On risks and benefits of iron supplementation recommendations for iron intake revisited. *J. Trace Elem. Med. Biol. Organ Soc. Miner. Trace Elem. Gms.* 2007;21(3):147-168.

- 40.Crawford R.D.** Proposed role for a combination of citric acid and ascorbic acid in production of dietary iron overload: A fundamental cause of disease. *Biochemical and Molecular Medicine*. 1995; 54: 1-11.
- 41.Lehchili B, Isabelle H, Faure H, Arnaud J, Richard M J, Favier A, Roussel A M.** Increased lipid peroxidation in pregnant women after iron and vitamin C supplementation. *Biological Trace Element Research*. 2001;80:1-7.
- 42.Weiss G.** Genetic mechanisms and modifying factors in hereditary hemochromatosis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* janv 2010;7(1):50- 58.
- 43.Scipioni, RL Deters RW, Myers WR, HART,SM.** Clinical and clinicopathological assessment of serial phlebotomy in the Sprague-Dawley rat-Lab. *Anim. Sci.*1997; 47, 3, 293-299.
- 44.Wright JR, Yates AJ, Shah N et al . THIBERT,P.** Hematological characteristics of the BB Wistar rat- *Veterinary Clinical Pathology*,1983, 12, 1, 9-13.
- 45.CRL-Baseline haematology and clinical chemistry values for Charles River Wister rats CRL : (WI) BR as a function of sex and age –CRL Technical Bulletin vol 1 ,Num2. 1982** disponible sur <http://www.eriver.com/tech/docs/82oct-tb/t82tab01.htm>
[05 Juin 2015].
- 46.Barr SI, Rideout CA.** Nutritional considerations for vegetarian athletes. *Nutr.* Burbank Los Angeles Cty. Calif. août 2004;20(7-8):696-703.
- 47. Bva/Frame/Rspca/Ufaw joint workinggroup on refinement -Removal of blood from laboratory mammals and birds- Lab. Anim.** 1993, 27, 1-22.
- 48.Laroche M J, Rousselet F.** Les animaux de laboratoire. *Ethique et bonnes pratiques-Masson*-.1990 ; Chap 7,167-187.
- 49. Weiss J, Taylor G R, Zimmerann F, Nebendahl K.** Collection of body fluids- In: Krinke G J.- *The laboratory Rat, The handbook of experimental Animal-Academic press*-.2000;Chap 25, 485-495.
- 50. Smith C N, Neptun D A , Irons R D.** Effect of sampling site and collection method on variations in baseline clinical pathology parameters in Fisher-344 rats: II. *Clinical hematology- Fundam. Appl. Toxicol.* 1986; 7, 658-663.
- 51. Leonaard R, Ruben Z.** Hematology reference values for peripheral blood of laboratory rat -*Lab. Anim. Sci.* 1986;36, 3, 277-28.
- 52.Gunther T, Hollriegl V.** Lipid peroxidation in mitochondria and microsomes from adults

and fetal rat tissues. Effect of Zn deficiency, Fe, and Salicylate. Biol Trace Elem Res.1989; 22: 165-177.

53.Silvana ML, Ribeitr T, Silva ME, Deoclecio A, Chianca H . Iron overload in hypercholesterolemia rats affects iron homeostasis and serum lipids but not blood pressure. J. Nutr. 2003 January; 133: 15-20.

54.Brandsch C, Ringseis R, Eder K. High dietary iron concentration enhance the formation of cholesterol oxidation products in the liver of adult rats fed salmon oil with minimal effect on antioxidant status.J.Nutr.2002;132 : 2263-2269.

55.Dogar MZ1 , Latif I2 , Saba A2 , Kanwal S2 , Khan AH3 , Khan ZI4 and Ahmad K4. Evaluation of Iron Supplementation Effects on Various Haematological Parameters in Pregnant Anemic Patients of Sargodha Region in Pakistan. 2013 ;3:4

56.Hemminki L, Rimpla U, Yla-outinen A. Iron prophylaxis during pregnancy and infections. J. Vit. Nutr. Res. 1991; 61: 370- 371.

57. Porpo G, D e sousa M. Iron overload. World J Gastroenterol. 2007; 13: 4707-15.

58.Bohie C, Sousa M. Iron overload. World J Gastroenterol. 2011; 13: 4707-15.

59. Delabesse E ,Corre J, Yesbaert L, Lahrrague P, Laurent G. Semiologie hématologique faculté médecine Toulouse -Rangeil DCEM1. 2010 ;68 : 5- 7.

60.Henri M , Michael B . Association Hémochromatose France, La surcharge en fer acquises Livre de France –numéron.2010 ;183 : 335- 338.

61. Neviele R.Dossabhoy ,Rebecca Gascoyme ,Steven ,Turley. interavenous iron repletion dose ,not significantly decrease platelet count in CKD iron deficiency .Anemia /International Journal of Nephrologie .2013Article ID;4: 8780-41.

62.Besarab S. Rayamajhi H. Al-Sharif. Iron repletion decreases platelet counts in nondialysis CKD patients,” American Journal of Kidney Diseases, 2010 ,vol. 55, no. 4, article B44.

63.<http://healthyeating.sfgate.com/iron-supplements-thicken-blood-platelets-8152.html>
anguins. [20avr 2015]

64.Sachet P , Long C. Fer et grossesse : faut-il supplémenter toutes les femmes enceintes . In rapport des x èmes journée de technique avancées en gynécologie obstétrique et périnatalogie , 1995 ; 3 : 655-666.

- 65. Klingshirn LA, Pate RR, Bourque SP, Davis JM, Sargent RG.** Effect of iron supplementation on endurance capacity in iron-depleted female runners. *Med. Sci. Sports Exerc.* juill 1992;24(7):819-824.
- 66. Newhouse IJ, Clement DB, Taunton JE, McKenzie DC.** The effects of prelatent/latent iron deficiency on physical work capacity. *Med. Sci. Sports Exerc.* juin 1989;21(3):263-268.
- 67. Guelfi J.F., Perret D, Doquelou A, et Trucmel C .** Index of anisocytosis in adult dogs. Preliminary observations (abstract). *Vet. Clin. Path.* 2000 ; 29 : 144.

Nom et Prénom: Loucif Fatima Zohra Madi lilia	Date de soutenance: 02/07/2015
Thème: Effet de la supplémentation de fer sur les paramètres hématologique chez les rates de la souche Wistar Albinos	
Nature du diplôme: Master	
<p>Résumé</p> <p>L'objectif de ce travail est d'étudier la toxicité du fer par son effet sur les paramètres hématologiques. On a utilisé des rats femelles de souche Wistar, pesant entre 150g et 160g.</p> <p>Les femelles sont réparties en deux groupes. Chaque groupe est composé de 6 femelles. Le premier groupe (C) est utilisé comme témoin qui est alimenté au cours de l'expérimentation par un régime standard . Le deuxième groupe (Fe⁺) est alimenté par le même régime et injecté à la fois par une dose de fer estimée à 8mgFe/kg de poids corporel sous forme de chlorure ferreux tétra hydraté. Les rats ont été injecté toute les 72 heures pendant 21 jours.</p> <p>Les résultats obtenus dans cette étude montrent que la supplémentation en fer a entraîné une diminution dans le gain de poids des rats, et une diminution de la quantité d'aliment prise par jour. Concernant le bilan hématologique, la supplémentation en fer a conduit à une augmentation significative dans le nombre de globules blancs, lymphocytes et de granulocytes. Cependant le taux de plaquettes, de globules rouges, la concentration d'hémoglobine et le pourcentage d'hématocrite, n'ont pas changé significativement. Pour les constantes érythrocytaires ; les valeurs de volume globulaire moyen (VGM), La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) ont été augmentée mais restent non significative chez les rats traités par rapport au rats témoins .</p> <p>En conclusion, la supplémentation en fer a fait augmenté la numération leucocytaire ce qui indique que l'excès du fer a une action pro-inflammatoire.</p>	
Mot clé : Mots clés: fer, paramètres, hématologiques, radicaux libres, stress oxydant, hémogramme.	
Laboratoire de recherche: Département de Biologie Animale	
<p>Jury :</p> <p>Présidente du jury: Zama Djamil (Professeur - UFM Constantine).</p> <p>Rapporteur: Zouaghi Youcef (MCA- UFM Constantine).</p> <p>Examinatrice: Dehili Nedjwa (MA- UFM Constantine).</p> <p>Examinatrice: Baali Nacera (MA- UFM Constantine).</p>	
Année universitaire 2014-2015	