



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

Département : Biologie Animale

قسم : علم الحيوان

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 préventif de la quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par la rifampicine et l'isoniazide

Présenté et soutenu par : Chouaib SAHLI

Le : 15/06/2015

Manel RIM

Jury d'évaluation :

Président du jury : Djemila ZAAMA (Professeur à UFM Constantine1).

Rapporteur : Nacera BAALI (MAA à UFM Constantine1).

Examineurs : Youcef ZOUAGHI (MCB à UFM Constantine1).

Nedjewa DEHELI (MAA à UFM Constantine1).

Année universitaire
2014 – 2015

REMERCIEMENT

Au terme de ce travail, nous remercions Allah, le bon Dieu miséricordieux pour nous avoir aidés à réaliser ce travail.

Nous tenons à présenter nos vifs remerciements, les plus sincères à notre encadreur madame N. BAALI Maitre-assistant à l'université des Frères Mentouri, Constantine pour l'aide et le soutien qu'elle nous a apportés, et pour ses précieux conseils qu'elle nous a fournis durant la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier Mme. D. ZAAMA, Professeur à l'Université des Frères Mentouri, Constantine pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury.

Nous remercions Mr. Y. ZOUAGHI, maitre de conférences à l'université des Frères Mentouri, Constantine, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et de faire partie de ce jury. Nous lui exprimons toutes nos gratitude et nos reconnaissances.

Nous remercions également à Mme. N. DEHELI, Mettre assistant à l'Université des Frères Mentouri de Constantine qui aacceptée de juger ce travail.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude à Mme.Amadeh et Mr. Manned, professeurs à l'université des Frères Mentouri, Constantine pour leur précieuse aide, leur soutien, leur patience et leur gentillesse.

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital de Khenchela pour nous avoir permis d'avoir accès au laboratoire.

Nous tenons à remercier tous ceux qui d'une façon ou d'une autre ont contribué à la réalisation de notre mémoire de fin d'étude.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail avec plaisir

À mon cher père pour ses encouragements et ses conseils.

*À ma très chère mère à qui je n'arrive pas à récompenser les sacrifices qu'elle a fait
pour moi, pour sa tendresse et son soutien.*

*À ma sœur Ilhem, pour son aide, ses encouragements et son soutien pendant tous
mes études supérieures.*

À mes frères Midou, Kamza et sa femme.

À mon neveu Yahia, source de bonheur de notre maison.

À mon binôme Manel qui m'a aidé à compléter ce mémoire.

*À ma bien aimée Kana, source de bonheur et de douceur dans ma vie, son soutien
moral et ses encouragements ont été d'une aide précieuse.*

À mes chères amies Kouda, Radia et Souheila.

*À fidèle ami Salah Eddine « Salas » pour sa précieuse aide, son temps consacré à
moi et sa patience.*

*À mon très cher ami Adem de cœur, frère et confident qui a été toujours là pour moi
dans les moments les plus difficiles.*

À mes amis Oussama, Maroua, Soumia, Loubna, Ibtissem

À tous ceux que j'aime.

SALIM Chouaib

A mes très chers parents, à la mémoire de mon grand-père, à
ma très chère grand-mère, ma famille, mes amis et tous ceux
qui m'aiment...

RLM Manel

Abréviations

A : Absorbance

AcétylCoA : Acétylcoenzyme A

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

ALT : Alanine aminotransferase

ARN : Acide ribonucléique

AST : Aspartate aminotransférase

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

CAT : Catalase

CYP450 : Cytochromes P450

DEA : Diethanolamine

DTNB : Dithiobis nitrobenzoïque

EMB : Ethambutol

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion

GSSG : Glutathion oxydé

GST : Glutathion transférase

H₂O : Molécule d'eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IL : Interleukine

INH : Isoniazide

IV : Intraveineuse

LDH : Lactate déshydrogénase

M : Mycobacterium

MDA : Malonalaldéhyde

MDH : Malate déshydrogénase

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide H

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate H

NAT : N-acétyltransférases

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAL : Phosphatase alcaline

PUFA : Acides gras polyinsaturés

PZA : Pyrazinamide

RMP : Rifampicine

RNS : Espèces réactives de l'azote

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

Se-GPx : Glutathion peroxydase est une sélénocoenzyme

SOD : Superoxyde dismutase

TBA : Acide Thiobarbiturique

TCA : Acide Trichloroacétique.

TGO : Oxaloacétate de glutamate

TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique

TNB : Acide thionitrobenzoïque

TNF : Facteur de nécrose tumorale

UI : Unité internationale.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

Liste des figures

Figure 1 : Les 22 pays les plus touchés par la Tuberculose.

Figure 2 : Mode d'action des antituberculeux.

Figure 3 : Métabolisme hépatique de l'Isoniazide.

Figure 4 : Anatomie et vascularisation hépatique.

Figure 5 : Différentes cellules du foie.

Figure 6 : Voies possibles de l'hépatotoxicité par d'un médicament.

Figure 7 : Métabolisme hépatique de l'isoniazide.

Figure 8 : Les réactions en chaîne de la peroxydation lipidique.

Figure 9 : Origine des différents radicaux libres impliqués en biologie.

Figure 10 : Coopération fonctionnelle entre les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

Figure 11 : Classification des polyphénols.

Figure 12 : Principe du dosage du malondialdéhyde.

Figure 13 : Principe de dosage du glutathion.

Figure 14 : Effets de traitements sur l'activité des AST, ALT et ALP.

Figure 15 : Effets du traitement sur le taux de l'albumine.

Figure 16. Effets du traitement sur le taux de la peroxydation lipidique et de GSH et l'activité de la catalase au niveau du foie.

Figure 17 : Micrographies du tissu hépatique (HE, X100).

Liste de tableau

Tableau 1. Médicaments antituberculeux de première ligne et leurs effets indésirables.

Sommaire

Introduction	1
 Partie bibliographique	
 Chapitre 1 : Tuberculose et antituberculeux	
1. Tuberculose.....	3
2. Facteurs favorisant la tuberculose	3
3. Symptômes et diagnostic	6
4. Traitement antituberculeux	6
4.1. Traitement de première ligne	7
4.1.1. Rifampicine (RMP)	7
4.1.2. Isoniazide (INH)	8
4.2. Traitement de deuxième ligne	10
4.3. Autres traitements pharmacologiques	10
5. Pharmacocinétique de la RMP et l'INH.....	10
5.1. Pharmacocinétique de la RMP	10
5.2. Pharmacocinétique de l'INH	11
 Chapitre 2 : Foie et hépatotoxicité	
1. Foie.....	15
1.1 Anatomie	15
1.2. Organisation histologique	15
1.3. Fonctions hépatiques	19
2. Mécanismes d'hépatotoxicité par l'INH et RMP	19
2.1. Formation des métabolites toxiques	21
2.2. Stress oxydant	23

2.3. Interactions médicamenteuses	25
2.4. Réaction immunitaire	25
Chapitre 3 : Antioxydants et quercétine	
1. Antioxydants.....	26
1.1. Antioxydants primaires	26
1.2. Antioxydants secondaires.....	28
2. Quercétine	28
2.1. Métabolisation et biodisponibilité	30
2.2. Effet antioxydant	30
2.3. Effet anti-inflammatoire	31
2.4. Effet anti thrombotique	31
2.5. Effet Antibactérien et antiviral	32
2.6. Action anticancéreuse	32
Partie pratique	
Chapitre 1 : Matériels et méthodes	
1. Animaux expérimentaux	33
2. Induction de la toxicité	33
3. Prélèvement du sang et de foie	33
3.1. Dosages Biochimiques	34
3.1.1. Transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO)	34
3.1.2. Transaminase glutamo-pyruvique (TGP)	35
3.1.3. Dosage de la phosphatase alcaline (ALP)	35
3.1.4. Dosage de l'Albumine	36
3.2. Les Paramètres de stress oxydatif.....	37
3.2.1. La Peroxydation lipidique.....	37

3.2.2. Dosage de glutathion hépatique (GSH)	37
3.2.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)	39
3.3. Etude histologique du foie.....	39
4. Etude statistique.....	39
Chapitre 2 : Résultats	
1. Effet des antituberculeux et de la quercétine sur la fonction hépatique	41
2. Effet des antituberculeux et de la quercétine sur certains paramètres du stress oxydatif dans le foie	43
3. Analyse histologique	45
Chapitre 3 : Discussion.....	47
Conclusion et perspectives	51

Introduction

La toxicité des médicaments constitue un problème de santé majeur. La contribution hépatique, sans être la plus fréquente, est importante à prendre en considération par sa gravité. En effet, les atteintes hépatiques représentent la première cause de mortalité liée à la prise de médicaments et la principale cause de retrait de ceux-ci du marché pharmaceutique. De très nombreux médicaments causent chez tels ou tels patients des atteintes hépatiques, souvent qualifiées, par commodité de langage, d'hépatites. Hépatotoxicité par les antituberculeux représente une préoccupation majeure de la santé publique (Perriot *et al.*, 2011). La tuberculose est une maladie contagieuse provoquée par le bacille tuberculeux *Mycobacterium tuberculosis*, qui touche le plus souvent les poumons. Elle se transmet lors de l'expectoration de gouttelettes de sécrétions bronchiques par des personnes atteintes de tuberculose-maladie (Perriot *et al.*, 2010).

Cette maladie infectieuse devenue aujourd'hui curable moyennant un traitement médicamenteux bien conduit. Si l'efficacité des médicaments actuellement disponibles est indéniable, leur mauvaise tolérance constitue souvent la rançon de leur succès thérapeutique. L'isoniazide (INH), la rifampicine (RMP), le pyrazinamide (PZA), l'éthambutol et la streptomycine représentent les médicaments les plus importants dans la pharmacopée des malades tuberculeux. La connaissance des effets indésirables inhérents à ces médicaments est importante pour l'identification du médicament responsable et l'établissement d'une démarche pratique envers cette situation clinique. Les neuropathies périphériques et la cytolyse hépatique constituent les effets indésirables les plus fréquents de l'isoniazide (Aouam K *et al.*, 2006).

Les antituberculeux responsables des atteintes hépatiques sont l'isoniazide (INH), le pyrazinamide (PZA), la rifampicine (RMP), et c'est leur association qui augmente le risque d'hépatotoxicité. Le pyrazinamide et l'INH sont les plus incriminés (Hmamouche *et al.*, 2007). Au niveau hépatique, l'INH subit une acétylation pour donner le N-acétylisoniazide. Ce dernier est hydrolysé en acétylhydrazine, qui subit par la suite une bioactivation par le cytochrome P450 pour donner le radical acétyle, une espèce réactive détoxiquée par le glutathion. Le mécanisme exact par lequel ce métabolite réactif induit des dégâts hépatocytaires reste à élucider, de même que les raisons de l'augmentation de l'incidence d'hépatotoxicité quand la thérapie de combinaison (INH et RMP) est utilisée. Cependant, il a été trouvé que l'hépatotoxicité s'est accrue par association avec la RMP. Ce dernier, joue le rôle d'un d'inducteur enzymatique (Perriot *et al.*, 2011). Lorsque la quantité ou la puissance du toxique produit dépasse les capacités métaboliques du foie, il attaque et détruit les cellules hépatiques : c'est l'**hépatite toxique**. Cette toxicité se traduit par une élévation relativement fréquente des transaminases et une situation de stress.

Afin de se protéger contre cette production accrue des métabolites toxiques, le foie est doté d'un système de protection endogène (enzymes antioxydantes et le glutathion réduit). Le renforcement de ce système nécessite l'utilisation de molécules anti oxydantes d'origine végétale. La quercétine, une molécule, appartenant à la classe des phytopigments hydrosolubles appelés flavonoïdes. On la trouve naturellement

dans une grande variété d'aliments incluant les oignons, les pommes, les baies, le thé noir, certaines graines et des fruits oléagineux. La quercétine a fait l'objet de douzaines de rapports scientifiques au cours de ces trente dernières années. Elle semble avoir de multiples effets bénéfiques sur la santé de l'homme, incluant une protection cardiovasculaire, une activité anticancéreuse, des effets antiulcéreux, ainsi qu'une activité antiallergique, antivirale et anti-inflammatoire. En fait, il semble que plusieurs des effets biologiques de la quercétine puissent être expliqués par son activité antioxydante. Des études ont révélé que la quercétine est la plus puissante des flavonoïdes en terme de stabilisatrice de radicaux libres et de espèces réactives de l'oxygène (Haenen *et al.*, 2008). Il semblerait que ce potentiel antioxydant soit dû au groupement catéchol ainsi qu'aux nombreux groupements hydroxyles de la quercétine (Plouffe, 2010). D'une façon générale, on ne dispose que de peu de données sur le rôle de la quercétine dans la protection hépatique contre la toxicité aux antituberculeux. De ce fait, le présent travail est consacré à l'étude de l'effet préventif de la quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par une combinaison de l'INH et la RMP.

Cette étude a pour objectif principal : Evaluation de l'effet protecteur de la quercétine sur la variation de bilan biochimique et de paramètres du stress oxydative pour aboutir finalement une analyse histologique du foie. Ce manuscrit est composé de 2 parties dont la première est une étude bibliographique qui est divisée en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une revue de la tuberculose, son traitement par les antituberculeux et leurs effets indésirables.

- Le second chapitre est consacré à l'hépatotoxicité induite par l'INH et la RMP.

- Le troisième chapitre est consacré aux données bibliographiques sur le stress oxydatif, les antioxydants et de façon plus détaillée les effets biologiques de la quercétine.

- La deuxième partie décrit les matériels et les méthodes utilisées lors de l'expérimentation, expose les résultats obtenus et la discussion. Et finalement, une conclusion et perspectives.

1. Tuberculose

En 1882, Koch R. isole un bacille tuberculeux d'où son nom Bacille de Koch ou BK. Il pense qu'il n'existe qu'un seul et même bacille induisant la tuberculose de l'homme, des bovins, du lapin, du singe, du cobaye et de la poule (Donnen, 2011). A partir de 1889, selon les caractères retrouvés après la mise en culture in vitro et la virulence des bacilles, on distingue (Donnen, 2011) : *Mycobacterium tuberculosis* (humain), *Mycobacterium avium* (aviaire) et *Mycobacterium bovis* (bovin mais transmissible à l'homme). Les mycobactéries se présentent sous la forme de bacilles fins, légèrement incurvés. Leur longueur varie entre 2 et 12 µm, les bacilles les plus allongés étant observés par exemple pour *M. xenopi*, et leur diamètre est compris entre 0,2 et 0,3 µm. La température de croissance varie de 30 °C à 45 °C selon l'espèce. Le temps de génération varie entre 2 et 20 heures en milieu de culture semi-synthétique, d'où un délai d'apparition des colonies entre 2 et plus de 8 jours. Des activités enzymatiques sont retrouvées pour chaque espèce, servant de base aux tests d'identifications biochimiques (Botella *et al.*, 2011).

Au début du XIX^e siècle, Laennec individualise la tuberculose. Entre 1908 à 1920, Calmette et Guérin préparent le BCG, la première vaccination ayant lieu en 1921. Cette vaccination a pour but principal de protéger les jeunes enfants des formes graves de la tuberculose précoce. Waksman découvre en 1944 la streptomycine, premier antibiotique actif sur *M.tuberculosis*. En 1952 arrive l'isoniazide et, en 1967, la rifampicine. La tuberculose polypharmaco-résistante survient quand les bactéries tuberculeuses sont résistantes au moins à l'isoniazide et la rifampicine, les deux médicaments antituberculeux de première ligne les plus puissants (Donnen, 2011).

2. Facteurs favorisant la tuberculose

Selon le dictionnaire médical "La Rousse", la tuberculose est une maladie infectieuse contagieuse due à une bactérie, le *mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) ou bacille de Koch (OMS, 2015, Zhang *et al.*, 2009). Elle atteint principalement les poumons et se propage par des gouttelettes exhalées qui diffusent dans l'air d'une personne malade à une personne saine. Un seul bacille inhalé suffit à établir l'infection. Cependant, cela ne provoque pas nécessairement la maladie, et on estime qu'un tiers de la population mondiale est infecté de façon latente par *M. tuberculosis*, représentant ainsi un immense réservoir du pathogène. Chez 5 à 10% des porteurs sains, il se produit une réactivation de la forme latente vers la forme active de la maladie, entraînant ainsi des dommages au niveau des poumons, ces personnes deviennent alors contagieuses. Eventuellement l'infection peut disséminer vers d'autres organes (plèvre, ganglions lymphatiques, colonne vertébrale, articulations, voies génito-urinaires, système nerveux, os, abdomen, etc. dans ce cas on l'appelle tuberculose extra-pulmonaire (Botella, 2011).

La tuberculose est l'une des maladies dues à un agent infectieux unique les plus meurtrières au monde ; elle se situe en seconde position juste après le VIH/sida. En 2013, 9 millions de personnes ont développé la tuberculose et 1,5 million en sont mortes. Plus de 95 % des décès par tuberculose se produisent dans les pays à revenu faible et intermédiaire, et la maladie est l'une des cinq principales causes de décès chez les femmes âgées de 15 à 44 ans (OMS, 2015) (**Figure 1**). En Algérie, plus de vingt mille nouveaux cas dont 10.000 cas de tuberculose contagieuse sont enregistrés annuellement. Les plus forts taux sont observés à Oran, Blida, Mostaganem, Relizane et Mascara. Dans les Hauts Plateaux, il s'agit de 26,4 % de l'ensemble

des cas de tuberculose, soit une incidence de 47,9 cas pour 100 000 habitants. La maladie est par contre rare dans la région sud avec une incidence de 27,08 cas. La tuberculose pulmonaire prédomine chez l'homme avec 61 %. Elle est une maladie peu fréquente chez l'enfant. La tranche d'âge la plus touchée par cette affection est entre 25 et 34 ans, selon les statistiques fournies par les Services de la Direction de Santé Publique (Gassem, 2015) Certains facteurs peuvent être reliés à la résurgence de la tuberculose, facteurs dont le dénominateur commun est l'affaiblissement du système immunitaire (Botella, 2011) :

-Facteurs sociaux de l'incidence de la tuberculose : La pauvreté et la surpopulation font partie des principaux facteurs de risque. En effet, la malnutrition et des conditions de vie insalubres qui leur sont liées sont propices au développement de la maladie.

-Facteurs endogènes de l'incidence de la tuberculose : Dès le 18ème siècle, l'observation de la variabilité inter individuelle dans le devenir de l'infection par *M.tuberculosis* et le fait que plusieurs cas de tuberculose apparaissaient au sein d'une même famille ont mis sur la voie de causes héréditaires dans le développement de la tuberculose.

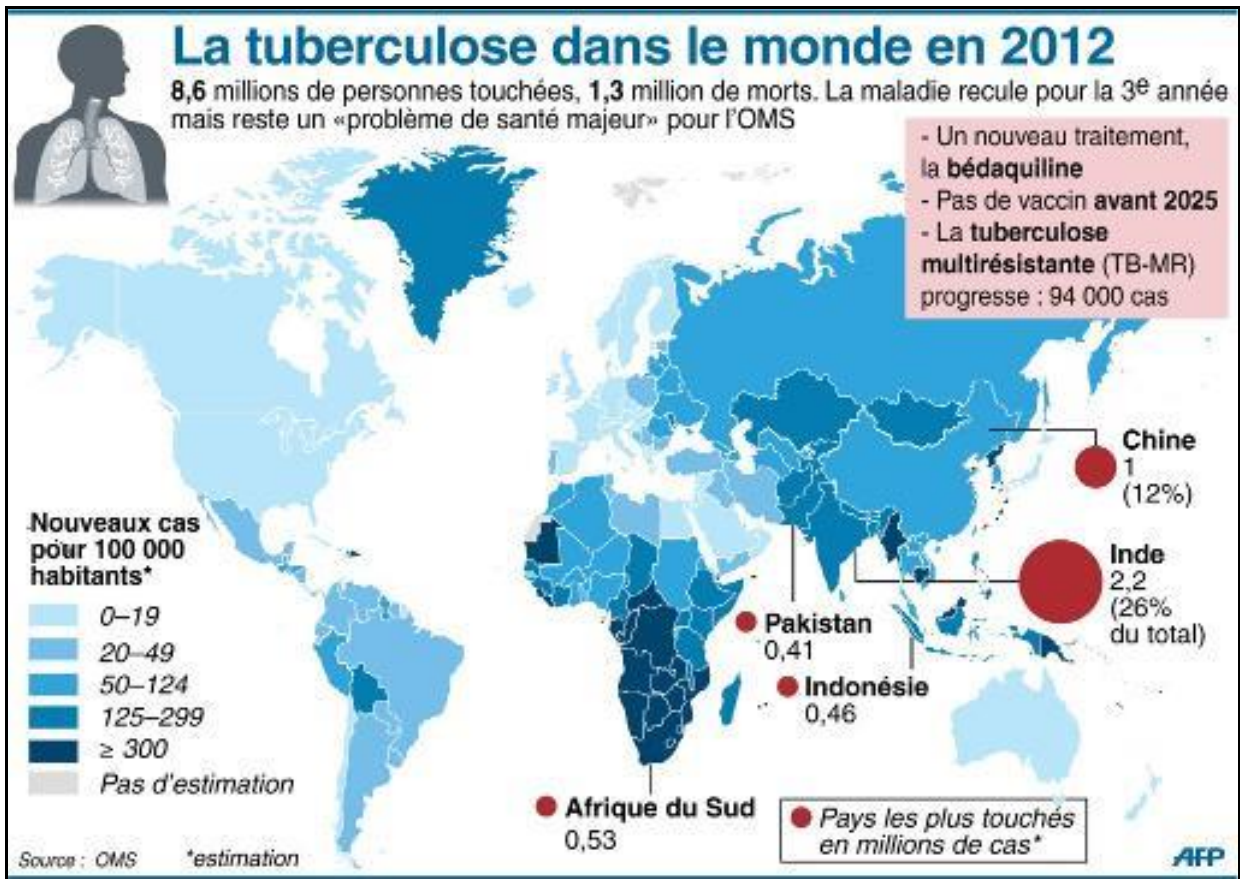


Figure 1 : Les 22 pays les plus touchés par la Tuberculose (OMS, 2012)

3. Symptômes et diagnostic

Les symptômes courants de la tuberculose pulmonaire évolutive sont une toux accompagnée d'expectorations parfois teintées de sang, des douleurs dans la poitrine, une faiblesse générale, une perte de poids, de la fièvre et des sueurs nocturnes. De nombreux pays ont toujours recours à une méthode utilisée de longue date consistant en un examen microscopique des frottis d'expectoration pour diagnostiquer la tuberculose. Des techniciens de laboratoire qualifiés examinent les échantillons de crachat au microscope afin de détecter la présence du bacille tuberculeux. Moyennant 3 de ces tests, le diagnostic peut être fait en une journée, mais le test ne permet pas de détecter les nombreux cas de formes de tuberculose moins infectieuses.

Il peut être plus complexe de diagnostiquer la tuberculose multirésistante. Un nouveau test dont les résultats sont disponibles en moins de 2 heures et qui s'est avéré hautement efficace pour diagnostiquer la tuberculose ainsi que la présence d'une résistance aux médicaments, est désormais mis en place dans de nombreux pays (OMS, 2015).

4. Traitement antituberculeux

La tuberculose est une maladie qui peut être soignée et guérie. Le traitement de la tuberculose évolutive sensible aux médicaments consiste en un schéma thérapeutique standard de 6 mois associant 4 antimicrobiens qui sont fournis aux patients sous la supervision d'un agent de santé ou d'un bénévole qualifié qui apportera information et soutien. Sans cette supervision et ce soutien, l'observance du traitement peut être difficile et la maladie peut se propager. La grande majorité des cas de tuberculose peuvent être guéris à condition que les médicaments soient fournis et pris correctement. La combinaison des médicaments antituberculeux depuis les années 1950 ont permis de diminuer radicalement les taux de mortalité (Meyssonnier, 2012). Le traitement antituberculeux a plusieurs objectifs, définis par l'OMS (Botella, 2011) :

- guérir le patient et restaurer la qualité de vie et la productivité
 - empêcher la mort due à une tuberculose active ou à des séquelles de la tuberculose
 - empêcher une rechute
 - réduire la transmission aux tiers
- empêcher le développement et la transmission de la résistance aux antibiotiques.

4.1. Traitement de première ligne

Traitement quotidien de 6 mois en deux phases comprenant (HAS, 2007) :

- Durant la première phase de 2 mois, l'association de 4 antibiotiques : isoniazide (INH), rifampicine (RMP), pyrazinamide (PZA) et éthambutol (EMB).
- Puis durant la deuxième phase de 4 mois, l'association isoniazide et rifampicine.

Les formes galéniques combinées sont recommandées afin de favoriser l'observance et réduire le risque de résistance aux médicaments. L'INH et la RMP sont de puissants bactéricides actifs contre tous les types de mycobactéries tuberculeuses (complexe *M. tuberculosis*). L'EMB est un bactériostatique. Le PZA est actif en milieu acide et agit efficacement contre les bacilles intracellulaires (Arazola *et al.*, 2010).

4.1.1. Rifampicine (RMP)

La RMP est le deuxième médicament antituberculeux mais aussi le plus important de la première ligne. Ce médicament fait partie des antibiotiques du groupe des rifomycines ayant une activité bactéricide. Son mécanisme d'action se traduit par l'inhibition de l'activité ARN polymérase qui synthétise l'ARN messager à partir de son modèle ARN (**Figure 2**). Il présente un effet bactéricide précoce contre les *M. tuberculosis* métaboliquement actifs et une excellente action stérilisante tardive contre les courtes bouffées d'activité métabolique des micro-organismes en état de semi-dormance. Alors que la mono-résistance à l'INH est courante, la mono-résistance à la RMP est rare. La résistance à la RMP apparaît le plus souvent dans des souches qui sont déjà résistantes à l'INH, de sorte que la résistance à la RMP peut être utilisée comme marqueur de multi résistance de remplacement (HAS, 2007).

La molécule RMP est un puissant inducteur enzymatique microsomal, provoquant d'importantes interactions médicamenteuses, en particulier avec les oestroprogestatifs, les anticoagulants oraux. La rifampicine colore les excréta (larmes, urines, sperme) en rouge orange et peut aussi induire des phénomènes immuno-allergiques (thrombopénie), surtout lors des prises discontinues du médicament (Perriot *et al.*, 2010).

4.1.2. Isoniazide (INH)

L'INH est l'un des traitements les plus importants de la première ligne. Il est un pro-médicament qui doit être activé dans les espèces myco-bactériennes qui y sont sensibles. L'activation de l'INH produit un certain nombre de composés fortement réactifs capables de léser la paroi des cellules mycobactériennes. Il est impliqué dans l'inhibition de la biosynthèse des acides mycolitiques qui sont les constituants importants de la paroi cellulaires mycobactérienne (**Figure 2**). Comme les acides mycolitiques ne se retrouvent que dans les mycobactéries, cette action pourrait expliquer le degré élevé de sélectivité de l'activité antimicrobienne de l'isoniazide. L'association entre cette enzyme et l'activation de l'INH a été démontrée quand le gène de la catalase-peroxydase mycobactérienne (*katG*) a été cloné et séquencé. Des mutations de ce gène ont été observées dans 70 à 80 % des isolats cliniques hautement résistants à l'INH (Zhang *et al.*, 2009 ; Van Vooren.,2010) .

L'INH est actif sur les bacilles des cavernes et à un moindre degré sur les bacilles intramacrophagiques mais il n'a pas d'activité sur les bacilles du caséum solide. Les principaux effets secondaires : nausées, simple élévation des transaminases ou hépatite médicamenteuse dose-dépendante, polynévrites sensitivo-motrices (surtout en cas de carence en vitamine B6), troubles neuropsychiques, névralgies cervico-brachiales (syndrome épaule-main) et syndromes rhumatoïdes. La supplémentation en pyridoxine (vitamine B6) est recommandée pour limiter la toxicité neurologique de l'INH chez le patient dénutri (Perriot *et al.*, 2011).

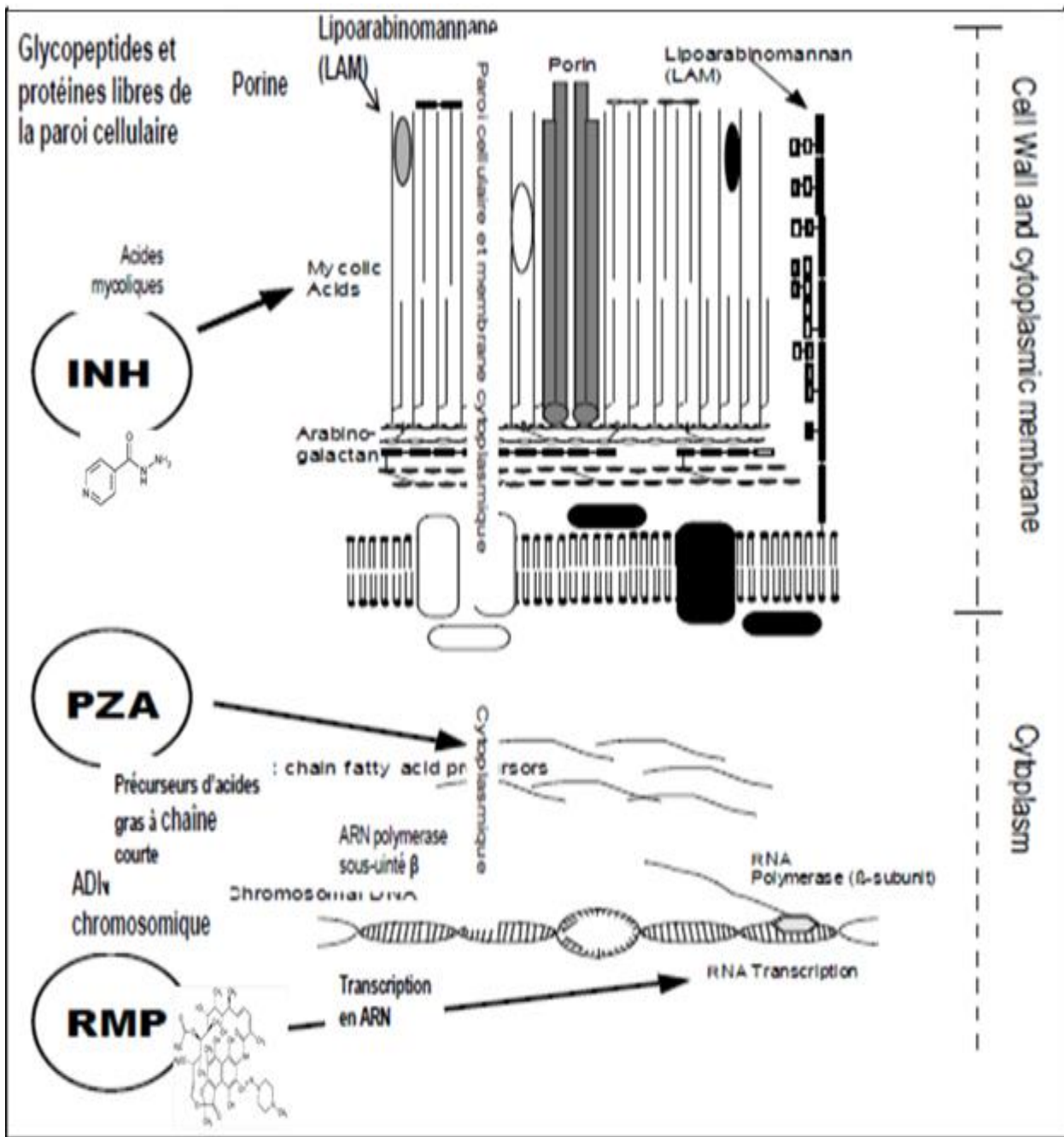


Figure 2 : mode d'action des antituberculeux (Van Vooren, 2010).

4.2. Traitement de deuxième ligne

Ces médicaments sont prescrits uniquement après avis spécialisé pour des formes multi-résistantes ou particulières de la maladie ; certains sont obtenus dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation délivrée par l'Afssaps: Streptomycine, Amikacine, Capréomycine, Éthionamide, Protionamide, Levofloxacin, Moxifloxacin, Cyclosérine, Acide para-amino-salicylique, Linézolide, Thioacétazone (HAS, 2007).

4.3. Autres traitements pharmacologiques

Il existe d'autres traitements pharmacologiques contre la tuberculose tels que (HAS, 2007) :

-Corticothérapie : discutée en cas de péricardite, méningite, miliaire, tuberculome cérébral et obstruction bronchique chez l'enfant.

- Vitamine B6 : prévention systématique de la neuropathie périphérique causée par l'isoniazide chez les patients à risque (grossesse, alcoolisme, dénutrition, neuropathie préexistante, insuffisance rénale, infection par le VIH).

5. Pharmacocinétique de la RMP et de l'INH

5.1. Pharmacocinétique de la RMP

-Résorption : Bonne par voie orale. Pic sanguin en 2 à 4 heures, si elle est absorbée à jeun et à distance des repas, sinon la résorption est retardée.

-Diffusion : Sa fixation aux protéines plasmatiques est de 75%. La diffusion est excellente, sauf dans les organes riches en lipides (système nerveux central) et dans les épanchements, mais elle est bonne dans le poumon, suffisante dans le liquide céphalorachidien.

-Biotransformation : La rifampicine est un puissant inducteur enzymatique du système microsomal oxydatif hépatique, elle induit son propre métabolisme. Sa demi-vie passe de 6 heures le premier jour d'administration à 3-4 heures au septième jour. Elle peut augmenter le catabolisme hépatique de certains médicaments associés et compromettre leur efficacité.

Élimination : La RMP subit une élimination biliaire et un cycle entérohépatique, elle est contre-indiquée en cas d'obstruction complète des voies biliaires. Elle est donc éliminée par les fèces, l'urine (20%), la salive, les larmes, tous colorés en rouge orangé (Hmamouche *et al.*, 2007).

-Posologie : Per os : 8 à 12 mg/kg/24h (sans dépasser 600 mg/j) chez l'adulte, 10 à 20 mg/kg/20h chez l'enfant, en une seule prise journalière à distance du repas.

-Contre-indications : Grossesse (1er trimestre) -Insuffisance hépatique sévères.

-Effets indésirables : La rifampicine est à éviter en cas de grossesse débutante pendant les 3 premiers mois, en raison d'effets tératogènes observés chez l'animal. Autres incidents tels que les manifestations immuno-allergiques cutanées, les leucopénies et thrombopénies, les céphalées ou vertiges, possibilité de maladie allergique avec malaises, frissons, myalgies, néphrite aiguë et présence d'anticorps sériques antirifampicine. Les accidents hépatiques sont souvent observés pendant le premier mois de traitement par

simple modification biologique (augmentation des transaminases) ou ictère important (les signes digestifs donnent l'alarme).

5.2. Pharmacocinétique de l'INH

-Résorption : Résorption orale très bonne, taux sériques maximum atteints entre 1 à 2 heures, des concentrations plasmatiques entre 1 et 5 µg/ml sont largement efficaces et une seule prise par jour à distance des repas semble être suffisante.

-Diffusion : La petite taille de la molécule facilite leurs diffusion dans les liquides biologiques (pleural, céphalo-rachidien...), dans tous les organes (foie, rein, cerveau, poumon..) et dans toutes les cellules (Perriot *et al.*, 2011).

-Biotransformation : Elle est réalisée dans différents organes mais essentiellement au niveau du foie par acétylation, le dérivé acétylé est inactif. L'acétylation est variable selon chaque individu et dépend du polymorphisme des *N*-acétyltransférases (NAT). Ces enzymes sont une famille unique d'enzymes de la phase II de biotransformation des xénobiotiques, qui acétylent les composés arylamines, arylhydrazines et arylhydroxylamines, en utilisant l'acétylcoenzyme A (acétylCoA) comme cofacteur (**Figure 3**). Deux isoenzymes des NATs, NAT1 et NAT2, ont été identifiées chez l'homme. Elles agissent comme des enzymes importantes dans la voie métabolique des amines primaires, des hydrazides et hydrazines (Benhamou *et al.*, 1998). Le polymorphisme des *N*-acétyltransférases représente l'un des exemples de variation pharmacogénétique décrits les plus documentés, depuis sa découverte au début des années 1950, en même temps que celle de la grande efficacité de l'INH dans le traitement de la tuberculose (Perriot *et al.*, 2011).

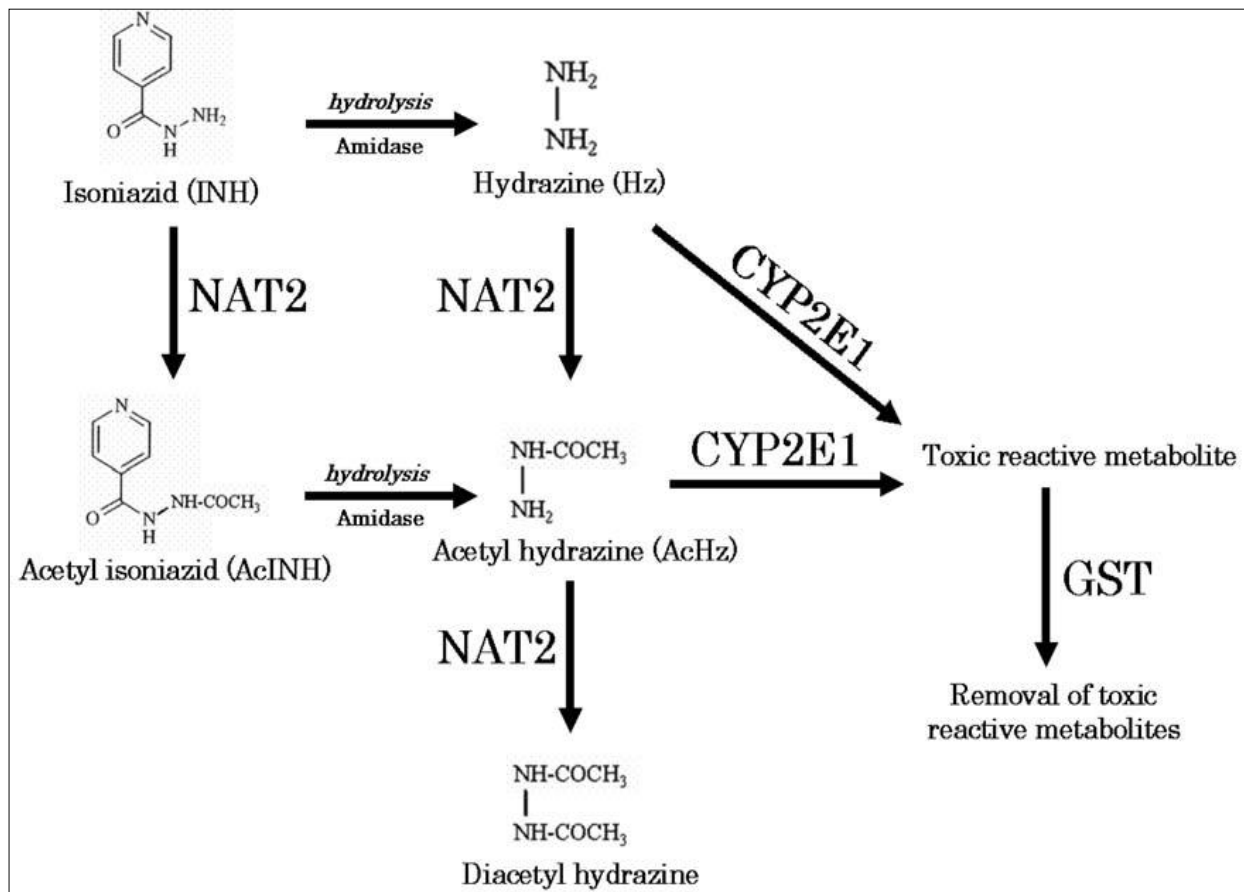


Figure 3 : Métabolisme hépatique de l'Isoniazide (Sotsuka *et al.*, 2011)

Il a été démontré, suite à l'administration d'INH, que si de nombreux patients excrétaient rapidement des dérivés d'INH sous forme de métabolites conjugués inactifs, d'autres conservaient plus longtemps une concentration plasmatique plus élevée non transformée, en relation avec l'élimination moins efficace du médicament. Des études quantitatives, par le calcul du rapport entre métabolites conjugués et métabolites non conjugués, ont vite montré que les populations étudiées se divisaient en 2 groupes d'individus en ce qui concerne la vitesse d'élimination de l'INH : les uns dits acétyleurs rapides, les autres dits acétyleurs lents de l'INH (Sotsuka *et al.*, 2011). La posologie peut être adaptée selon la vitesse d'acétylation.

-Élimination : Cette étape se fait par la voie urinaire (de 10 à 30% sous forme active) et par la voie biliaire (sous forme métabolisée).

-Posologie : En règle générale, chez l'adulte, une posologie de 5 mg/kg (sans dépasser 300 mg/jour) est recommandée. Chez l'enfant la dose communément admise est de 10 mg/kg/jour. La posologie peut être adaptée selon la vitesse d'acétylation du patient afin d'éviter un surdosage.

-Contre-indications : Le traitement est contre indiqué dans le cas suivants : Hypersensibilité connue à l'INH, insuffisance hépatique majeure et antécédents psychiatriques.

-Effets indésirables : Ils peuvent dépendre en partie de la vitesse d'acétylation et des antécédents du malade. En général, bonne tolérance vu son index thérapeutique élevé. Certains troubles sont signalés lors du traitement par l'INH notamment les troubles digestifs (nausées, vomissements, douleurs épigastriques), troubles hépatiques (élévation relativement fréquente des transaminases : rares hépatites aiguës et certains pouvant être sévères), troubles neurotoxiques (Perriot *et al.*, 2011) et réactions allergiques. D'autres effets des antituberculeux sont reportés sur le **Tableau 1**.

Tableau 1. Médicaments antituberculeux de première ligne et leurs effets indésirables (Arazola *et al.*, 2010).

Médicament	Fréquent	Occasionnel	Rare
Isoniazide (H)		hépatite, réaction cutanée d'hypersensibilité, neuropathie périphérique	vertiges, convulsion, névrite optique, troubles mentaux, anémie hémolytique ou aplastique ou sidéroblastique, agranulocytose, réaction lupique, arthralgie, gynécomastie
Rifampicine (R)		hépatite, réaction cutanée, troubles digestifs, thrombocytopénie, purpura, état fébrile, syndrome grippal*	dyspnée, choc, anémie hémolytique, insuffisance rénale*
Pyrazinamide (Z)	anorexie, nausée, flush	hépatite, vomissement, arthralgie, hyperuricémie, réaction cutanée	goutte, photosensibilisation
Ethambutol (E)		névrite rétrobulbaire, arthralgie	hépatite, réaction cutanée, neuropathie périphérique

* Plus fréquent avec le traitement intermittent qu'en administration quotidienne

1. Foie

1.1 Anatomie

Le foie est un organe vital localisé dans la cavité abdominale au niveau de l'hypochondre droit. Il s'agit d'une glande essentiellement exocrine enveloppée par une capsule conjonctive, la capsule de Glisson, qui s'invagine en sillons délimitant 2 lobes hépatiques (**Figure 4**). Le poids moyen du foie d'environ 1 500 g chez le cadavre est plus élevé chez le sujet vivant : de 2300 à 2600 g. Que ce soit à l'échelle de l'organe, du tissu ou de la cellule, le foie est organisé en trois compartiments : le compartiment hépatocyttaire, le compartiment sanguin et le compartiment biliaire. Le foie est le seul organe qui, après une intervention, peut se régénérer spontanément (Bedossa, 1992). Le foie reçoit 2 systèmes vasculaires afférents (Bedossa, 1992 ; Benhamou., 1998) :

- Veine porte hépatique : transporte le sang du tube digestif et de la rate vers le foie. Le sang du tube digestif est riche en acide aminés, lipides et glucides, celui de la rate est riche en produits de dégradation de l'hémoglobine. Arrivée au foie, la veine porte se divise et donne les branches de la veine porte.

- Artère hépatique : approvisionne le foie de sang oxygéné. Elle donne des branches dans le foie. Les branches de la veine porte et de l'artère hépatique se retrouvent dans un stroma fibreux au niveau de l'espace porte (**Figure 4**). Un espace porte typique comporte toujours 3 éléments et constituent la triade porte (branche terminale de la veine porte, branche terminale de l'artère hépatique, canal biliaire). Les vaisseaux lymphatiques circulent dans l'espace porte mais n'appartiennent pas à celui-ci.

1.2. Organisation histologique

Le tissu hépatique est organisé en lobules hépatiques regroupant des rangées d'hépatocytes. Ces lobules ont une forme hexagonale, sont centrés par une veine dite centro-lobulaire et délimité par six espaces triangulaires riches en tissu conjonctif : les espaces portes ou espaces de Kiernan. Chaque lobule présente un compartiment sanguin, un compartiment biliaire et un compartiment hépatocyttaire (Kierszenbaum *et al.*, 2006). Les plus nombreuses et les importantes cellules sont les **hépatocytes** qui représentent environ 65 % des cellules et riche en organites (**Figure5**). Elles sont organisées sous forme de travées hépatocytaires le long des sinusoides. En moyenne, le long d'une sinusoïde, il y a environ 20 à 30 hépatocytes.

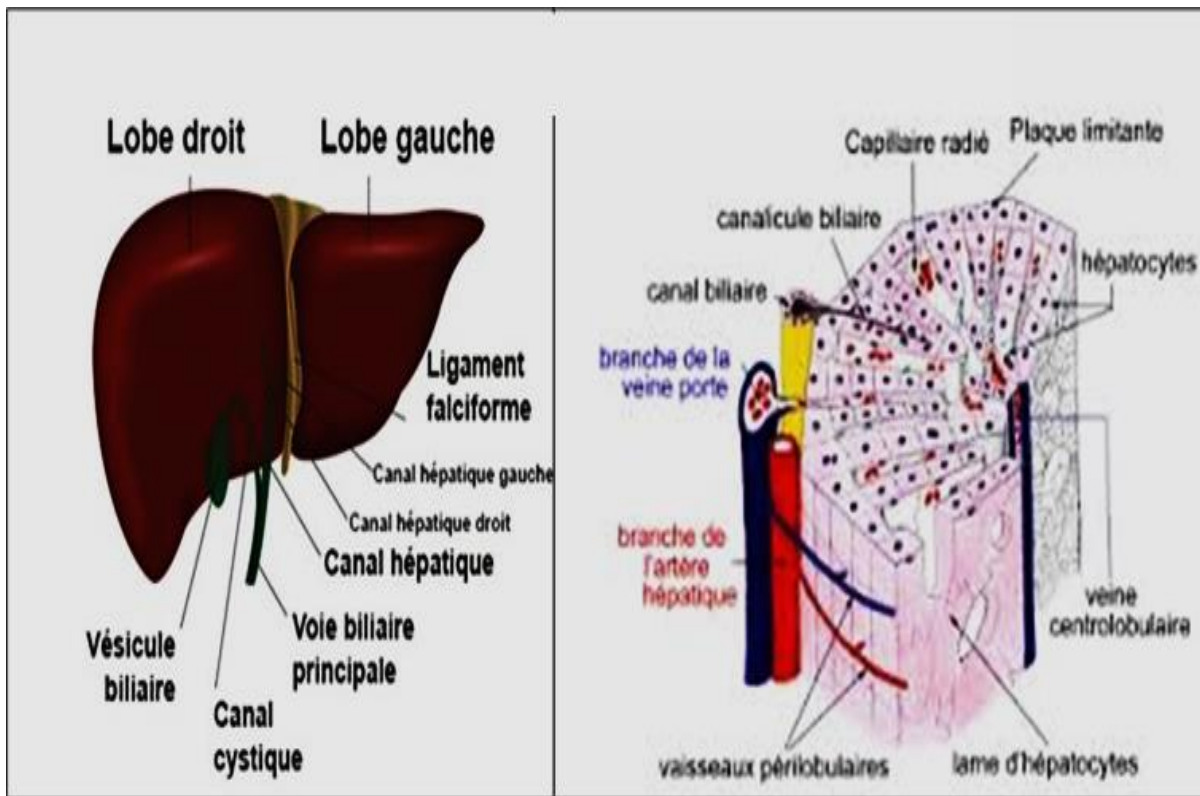


Figure 4 : Anatomie et vascularisation hépatique (Bedossa, 1992).

Les cellules sinusoidales sont des cellules endothéliales et représentent environ 20 % de la totalité des cellules. Elles bordent la paroi d'un vaisseau sanguin. Elles sont caractérisées par rapport à d'autres cellules endothéliales par le fait qu'elles ne reposent pas sur la membrane basale et qu'elles sont lâches : cela favorise les échanges entre le secteur sanguin et les cellules hépatiques (Benahmou, 1993 et Bedossa, 1992).

Les **cellules de Kupffer** représentent environ 10 % des cellules. Ce sont des macrophages résidents (différent des macrophages qui sont dans la circulation sanguine et qui sont transportés entre les différents organes). Elles ont des attaches avec les cellules endothéliales et restent dans la sinusoïde (**Figure 5**). Elles ont un rôle important pour phagocyter un certain nombre d'agents biologiques qui ont traversé la barrière intestinale (Kierszenbaum *et al.*, 2006).

Les **cellules stellaires** ou **cellules d'Ito** représentent environ 5 % des cellules. Elles stockent des graisses notamment de la vitamine A et ont une fonction physiopathologique. Quand elles sont activées par un processus inflammatoire, elles fabriquent du tissu fibreux (fibrose) qui au niveau du foie est un indicateur de lésion. Sa progression se traduit par une aggravation de maladie du foie où le stade ultime est la **cirrhose** hépatique. Ces cellules sont dans des espaces compris entre les cellules sinusoidales et les cellules hépatiques appelé **espaces de Disse** (Bedossa, 1992). Toutes ces cellules contrôlent la composition du sang qui quitte les hépatocytes, la captation des nutriments qui sont prélevés, stockés ou utilisés par les hépatocytes. Suite au processus de détoxification et de dégradation, les nutriments vont être sécrétés dans la bile d'abord dans le canalicule puis vers les ductiles. Elles produisent aussi la synthèse des sels biliaires par les hépatocytes. L'ensemble des cellules constituant les tissus hépatiques sont illustrées dans la **Figure 5**.

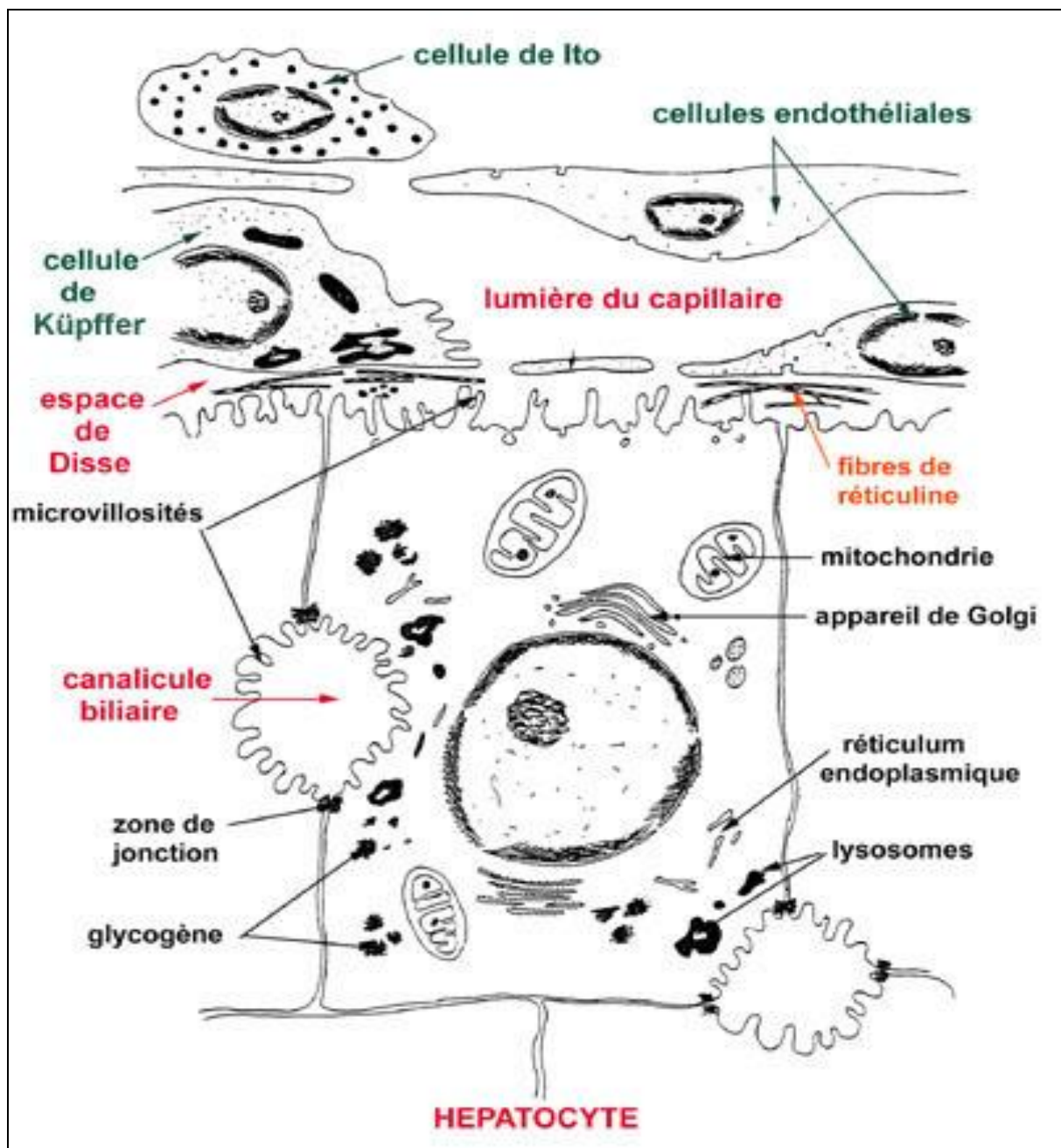


Figure 5 : Différentes cellules du foie (Bedossa, 1992).

1.3. Fonctions hépatiques

Le sang de la veine porte parvient au foie chargé de très nombreuses substances issues de la digestion ou de l'activité des organes du système digestif. Ces molécules sont absorbées par les cellules du foie qui sont dotées d'enzymes spécifiques et permettent leur transformation chimique. Ces modifications effectuées par le foie sont vitales pour l'organisme ; elles ont pour objectifs principaux (Bedossa, 1992, Benhamou *et al.*, 1998, Kierszenbaum *et al.*, 2006) :

- le stockage et la répartition des nutriments issus de la digestion (glycogène)
- la dégradation des substances toxiques (biotransformations des médicaments, hormones,...)
- la synthèse de la plupart des protéines du sang (facteurs de la coagulation)
- la production de la bile.

2. Mécanismes d'hépatotoxicité par l'INH et RMP

Les hépatites médicamenteuses sont l'ensemble des anomalies anatomiques ou fonctionnelles que peut entraîner un médicament et n'ont pas de spécificité clinique, biologique ou histologique. Leur mécanisme est soit le surdosage, la formation d'un métabolite toxique ou un phénomène immuno-allergique ou autre (**Figure 6**) ; elles se présentent selon 3 aspects : cholestatiques, cytolytiques et mixte (El Fetouh *et al.*, 1998 ; Kaplowitz ., 2004).

Seulement dans les années 1970, l'apparition de lésions hépatiques graves comme un effet secondaire de ce médicament a été reconnu, entraînant la mort de certains patients (Teixeira *et al.*, 2013). Une hépatotoxicité induite par INH, RMP et PZA constitue l'effet secondaire le plus fréquent. D'ailleurs, l'hépatotoxicité liée à INH augmente avec la dose, l'âge du sujet (très rare chez le sujet jeune, mais environ 2 % des 50 ans), l'abus d'alcool ainsi que la malnutrition. Elle est plus fréquemment présente chez les patients acétylures lents de la NAT2. RMP potentialise l'hépatotoxicité de INH mais n'est que peu hépatotoxique par elle-même (occasionnellement inductrice de cholestase). PZA peut causer de rares hépatites fulminantes de nature immuno-allergique. Voilà pourquoi il ne convient pas de recourir à nouveau à ce traitement médicamenteux lorsqu'il a été suspect d'être à l'origine de graves troubles de la fonction hépatique lors d'un traitement antérieur (Jurg *et al.*, 2012).

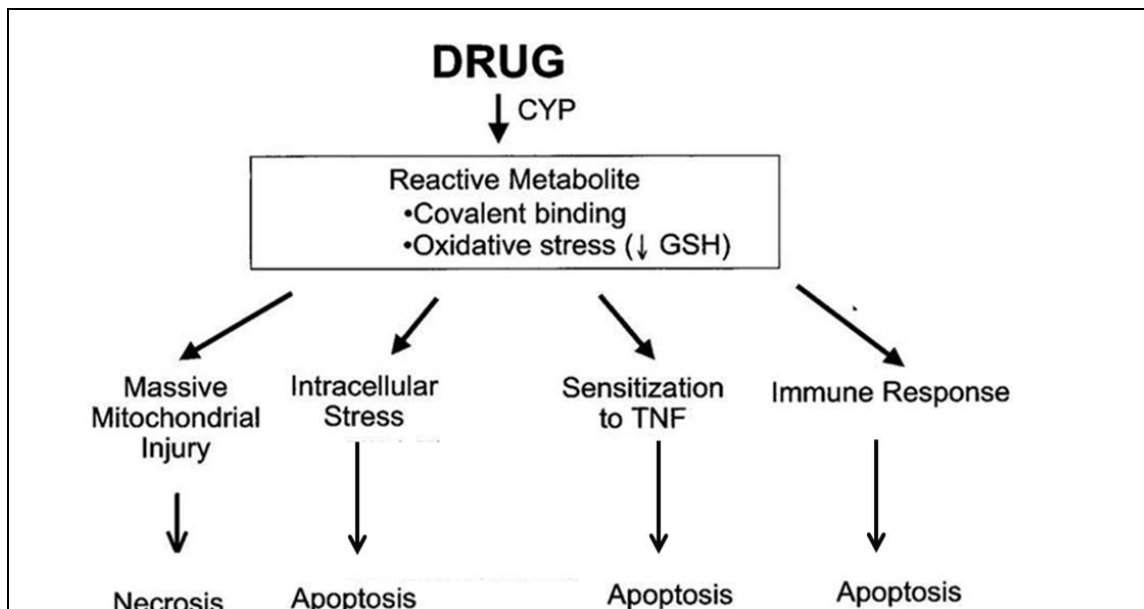


Figure 6 : Voies possibles de l'hépatotoxicité par d'un médicament (Kaplowitz, 2004).

Globalement, INH peut être responsable d'une augmentation des transaminases à 10 % alors que l'hépatite clinique ne dépasse pas 1 %. Cette hépatite apparaît entre le premier et le quatrième mois du traitement avec un maximum d'atteinte dans les 6 premiers mois ; elle se manifeste cliniquement par un ictère précédé de prodromes faits d'asthénie, arthralgies, troubles digestifs, douleurs abdominales avec hépatomégalie et fièvre, alors que biologiquement on a une augmentation de la bilirubine conjuguée, des transaminases et des phosphatases alcalines. Parmi les facteurs favorisants, il y a l'hépatite préexistante active et une médication hépatotoxique.

2.1. Formation des métabolites toxiques

Les antituberculeux responsables des atteintes hépatiques sont l'INH, le PZA, la RMP, et c'est leur association qui augmente le risque d'hépatotoxicité. La réintroduction du traitement antituberculeux est possible après normalisation du bilan hépatique (Bouchenouf *et al.*, 2011). L'ictère, les vomissements et les douleurs abdominales sont souvent révélateurs. L'hépatotoxicité est légère à modérée dans 82 % des cas. Le pyrazinamide et l'isoniazide sont les plus incriminés (Hmamouche *et al.*, 2007). INH subit une acétylation pour donner le N-acétylisoniazide. Ce dernier est hydrolysé en acétylhydrazine, qui subit par la suite une bioactivation par CYP450 pour donner le radical acétyle (**Figure 7**), une espèce réactive détournée par le glutathion. Le mécanisme exact par lequel ce radical réactif induit des dégâts hépatocytaires reste à élucider, de même que les raisons de l'augmentation de l'incidence d'hépatotoxicité quand la thérapie de combinaison est utilisée. Cependant, il a été trouvé que l'hépatotoxicité est accrue par association avec la rifampicine : par un mécanisme d'induction enzymatique (Perriot *et al.*, 2010). Cette toxicité se traduit par une élévation relativement fréquente des transaminases.

Ces métabolites réactifs sont transformés en métabolites réactifs par différents systèmes de protection en particulier la conjugaison au glutathion et les époxydes. Lorsque ces mécanismes sont insuffisants, les métabolites réactifs peuvent se lier de façon covalente sur certains constituants des hépatocytes et entraîner la mort cellulaire ou en déclenchant des réactions immunologiques. Les accidents surviennent soit par formation de métabolites toxiques (accidents hépatiques) soit par un surdosage (Zhang and Yew, 2009).

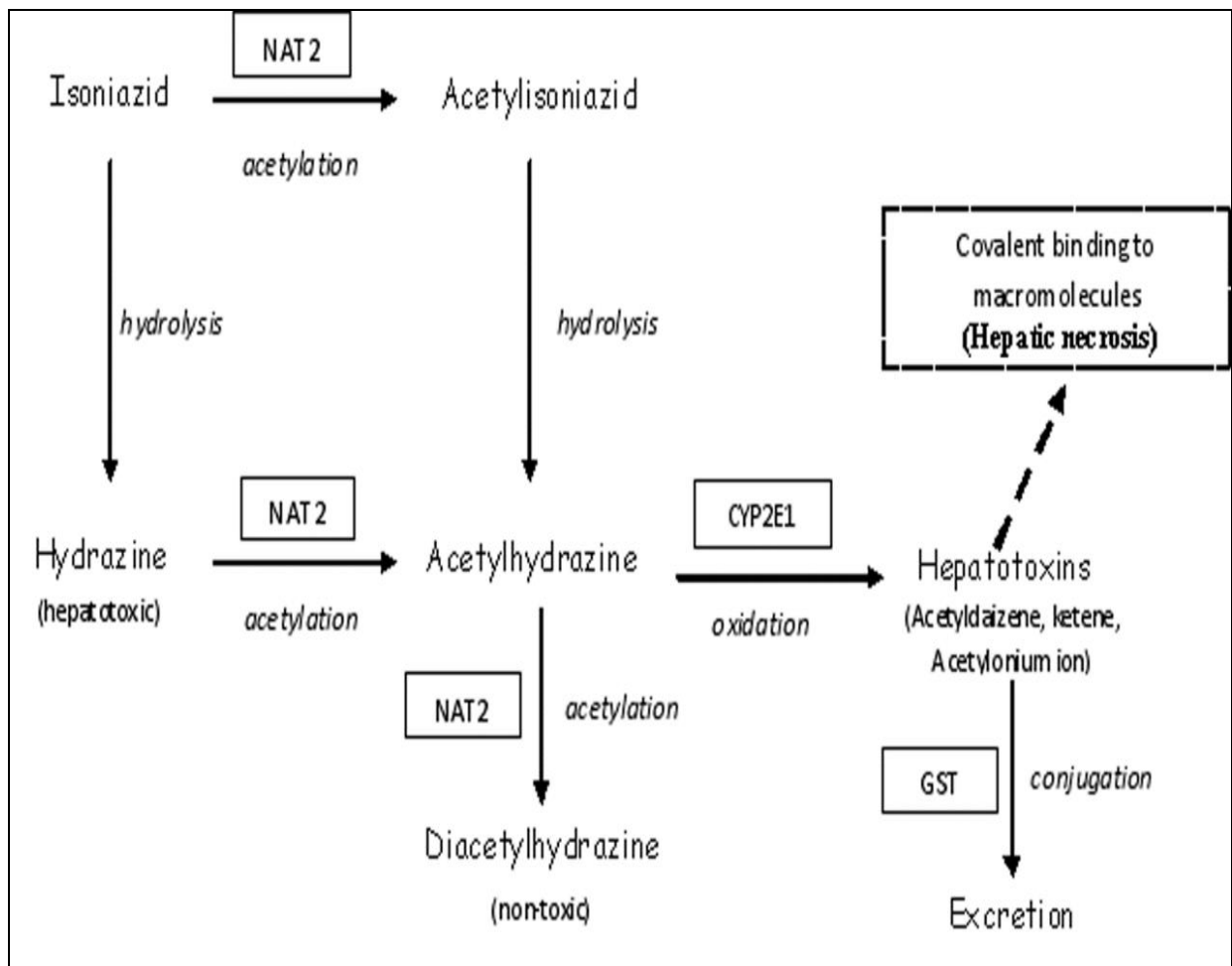


Figure7 : Métabolisme hépatique de l'isoniazide (Teixeira *et al.*, 2013)

2.2. Stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération des radicaux et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies. Dans un souci de prévention, il conviendra donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant chez un individu afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser nos défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres au niveau des macromolécules cellulaires (Haleng, 2007). Les radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitro peroxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Sahnoun *et al.*, 1997 ; Favier., 2003). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Figure 8**). Certain ROS sont produits durant la toxicité par les antituberculeux (Teixeira *et al.*, 2013).

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par les ROS capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (Favier., 2003 ; Sahnoun *et al.*, 1998). Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides, peut libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonanal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes (**Figure9**). La toxicité aux antituberculeux a été attribuée à la formation des ROS, à la peroxydation lipidique et à une déplétion du système anti-radicalaire endogène (Sahnoun *et al.*, 1998 ; Teixeira *et al.*, 2013).

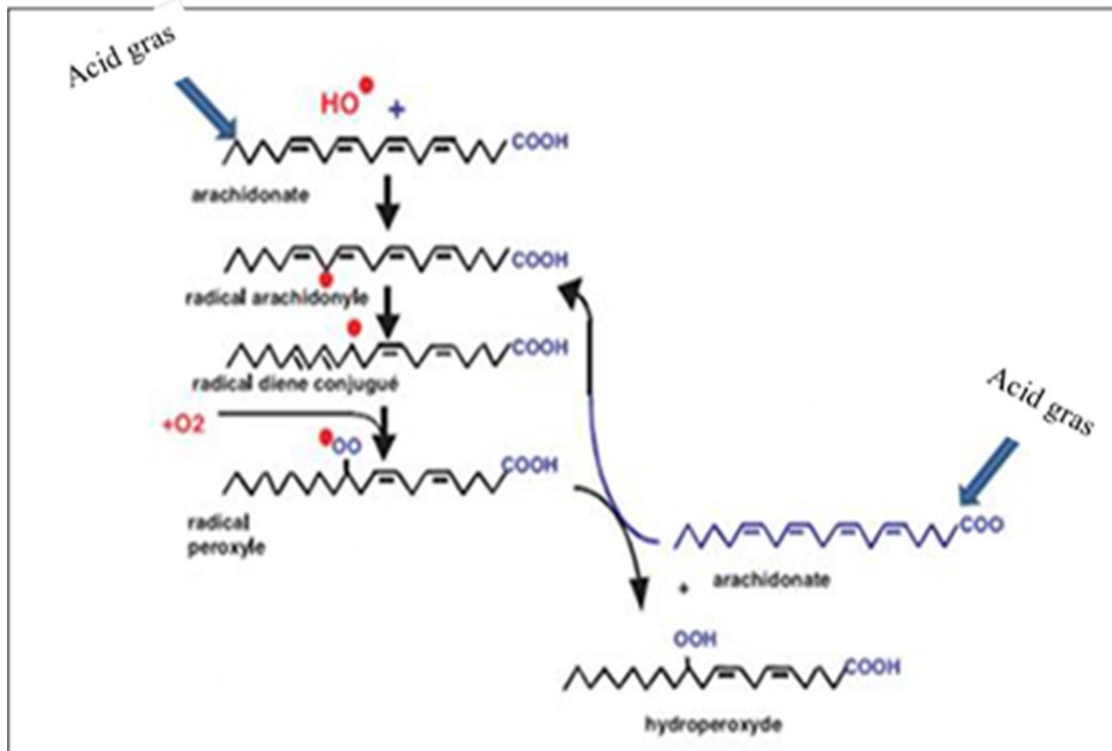


Figure 8 : les réactions en chaîne de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

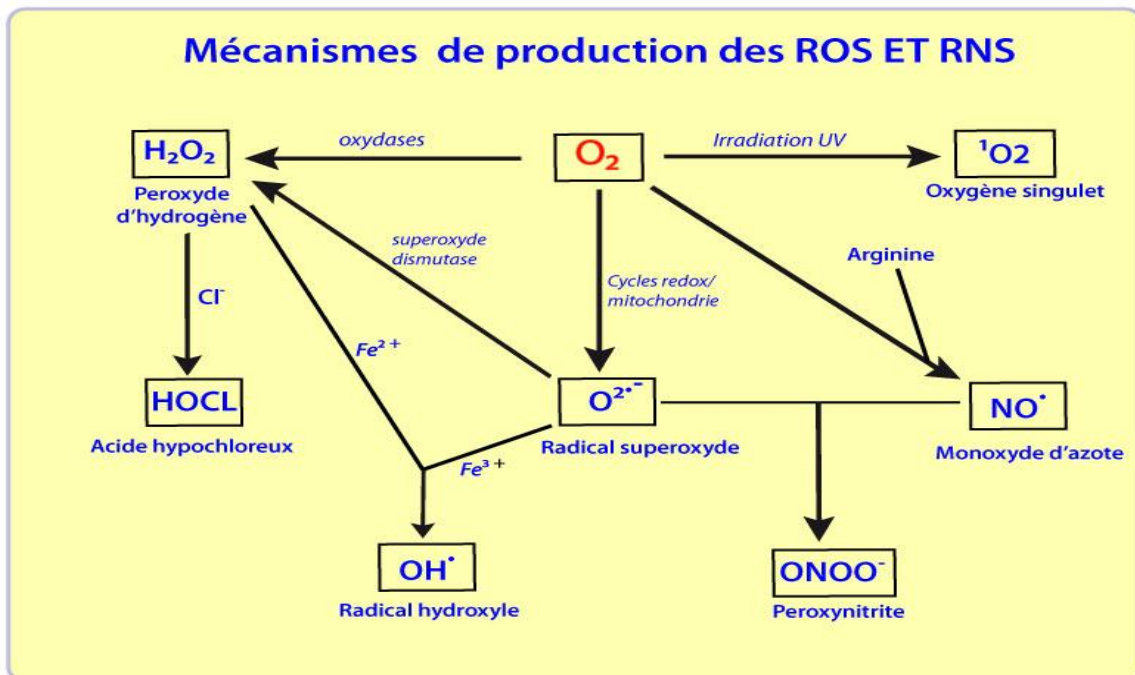


Figure 9 : Origine des différents radicaux libres impliqués en biologie (Sahnoun *et al.*, 1998).

2.3. Interactions médicamenteuses

Les inducteurs enzymatiques (surtout la rifampicine) favoriseraient la fabrication, à partir d'un métabolite de l'isoniazide, d'un dérivé hydroxylé hépatotoxique. La surveillance hépatique doit être accrue lors de ces associations (or l'association INH et RMP est la règle), la posologie de l'INH doit être réduite et adaptée individuellement en cas d'hépatite. L'isoniazide peut exercer lui-même des effets inhibiteurs enzymatiques, par exemple vis à vis de la phénytoïne, médicament antiépileptique dont les concentrations plasmatiques et tissulaires augmentent avec risque d'accidents de surdosage (Perriot *et al.*, 2011).

2.4. Réaction immunitaire

Les hépatites immunoallergiques : la réaction est dirigée contre un néo-antigène résultant de la fixation covalente des métabolites réactifs sur les constituants de l'hépatocyte présent sur la membrane plasmique. Parfois la survenue de phénomènes auto immunitaires conduit à la formation d'auto anticorps sériques. L'hépatotoxicité peut être favorisée par différents facteurs (Sahnounet *al.*, 1998 ; Kaplowitz ., 2004):

- Le jeûne ou la dénutrition qui diminue les capacités de détoxification par baisse du glutathion.
- L'induction enzymatique qui peut augmenter la transformation de notre médicament en métabolite réactif par exemple rifampicine et isoniazide ou alcoolisme chronique et paracétamol.
- Les facteurs génétiques : une faible capacité d'acétylation et une déficience dans le mécanisme de détoxification en métabolites réactifs.

1. Antioxydants

Les antioxydants constituant un système de protection capable de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS.

1.1. Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense (**Figure 10**) est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (Sahnoun *et al.*, 1998). Les SOD sont distribuées de façon ubiquitaire, elles assurent sa dismutation du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène. La catalase est une protéine ubiquitaire, composée de 4 chaînes polypeptidiques, chacune contenant une structure porphyrinique avec un atome de fer sous forme ferrique. La catalase et les enzymes présentant une activité catalasique permettent de détoxifier la cellule en décomposant le H_2O_2 en H_2O et en O_2 . La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) qui joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras.

Le glutathion réduit est un tripeptidethiolé faisant partie des antioxydants hydrosolubles les plus abondants. C'est une puissante molécule réductrice susceptible de céder son hydrogène et s'oxyder en dimère de glutathion oxydé (GSSG). Il est un des principaux antioxydants. La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur. Les glutathion transférases (GST) sont des enzymes qui protègent la cellule des molécules toxiques par S-conjugaison avec le GSH. Il existe trois formes de GST ; les deux premières comprennent des enzymes solubles cytosoliques et mitochondriales, alors que la dernière regroupe des GST microsomaux (Miloudi, 2011).

La conjugaison avec le glutathion catalysée par les GST est la première de quatre étapes conduisant à la formation des mercapturates, les métabolites finaux excrétés dans les urines. Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions de la **Figure 10**. De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Sahnoun *et al.*, 1998).

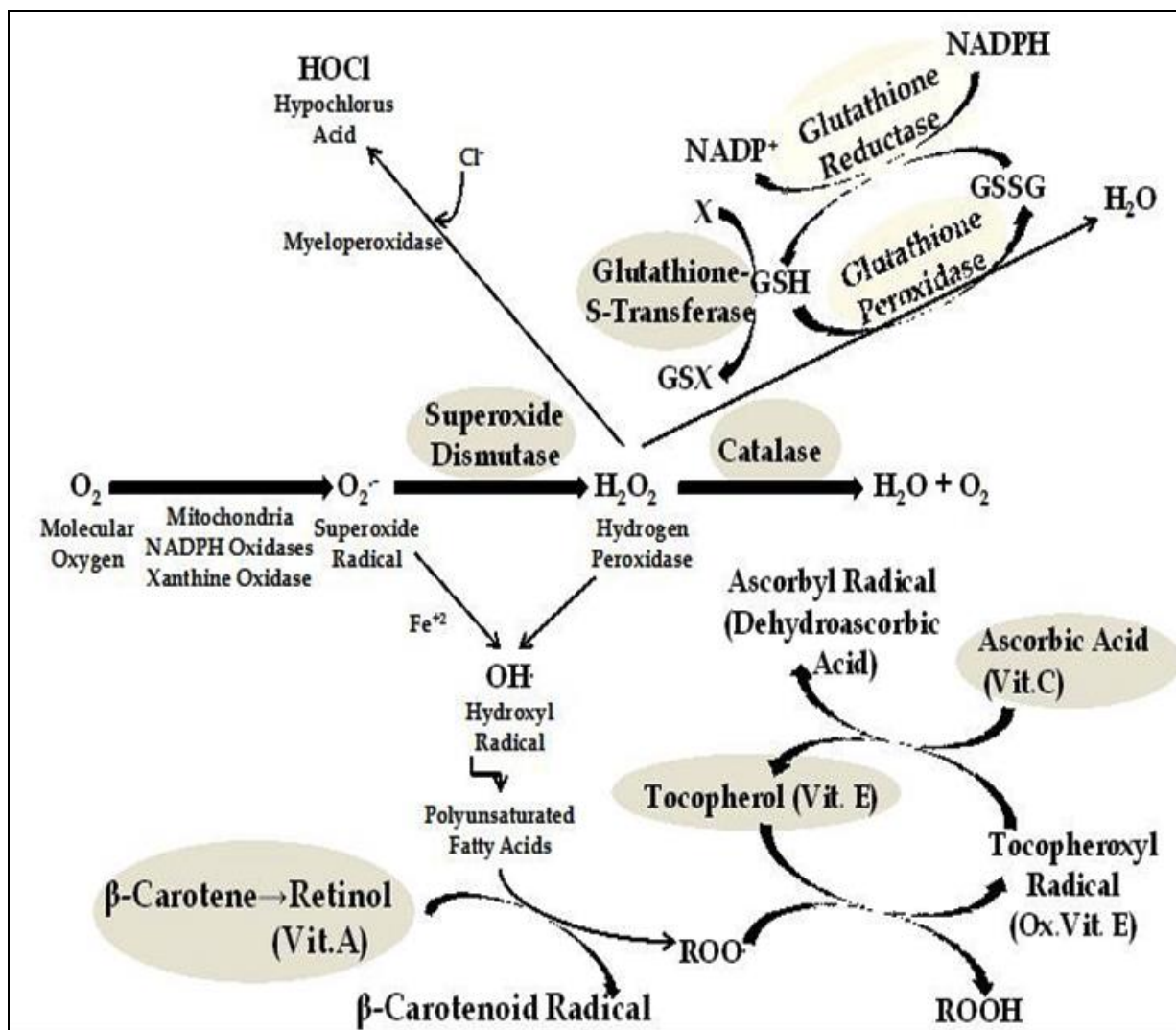


Figure 10 : Coopération fonctionnelle entre les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Atukeren et Yigitoglu, 2013).

1.2. Antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes. La détoxification passive ou dernière ligne de défense permet de réduire les radicaux libres qui ont réussi à franchir les deux premières barrières. On y retrouve les molécules antioxydantes telles que le bêta-carotène, l'acide L-ascorbique, l'alpha-tocophérol, les composés phénoliques et les flavonoïdes,...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Atukeren et Yigitoglu, 2013).

2. Quercétine

La quercétine, parfois appelée quercétol, appartient à la famille des flavonoïdes, des pigments qui donnent leur coloration aux fleurs, aux fruits et aux légumes. Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Ji *et al.*, 2015). Elles font partie de la large famille des polyphénols, composés largement distribués dans le règne végétal.

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Pereira *et al.*, 2009). Les molécules plus connues sont la quercétine (chef de file des flavonoïdes), le resvératrol, extrait de l'écorce du raisin rouge et la curcumine, extraite de la racine de curcuma (Favier,2003) Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), en coumarines, en naphtoquinones, en stilbénoloïdes en formes polymérisées (lignanes, lignines et les tanins condensés) et en flavonoïdes. Selon Pereira *et al.* (2009) Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes (**Figure 11**).

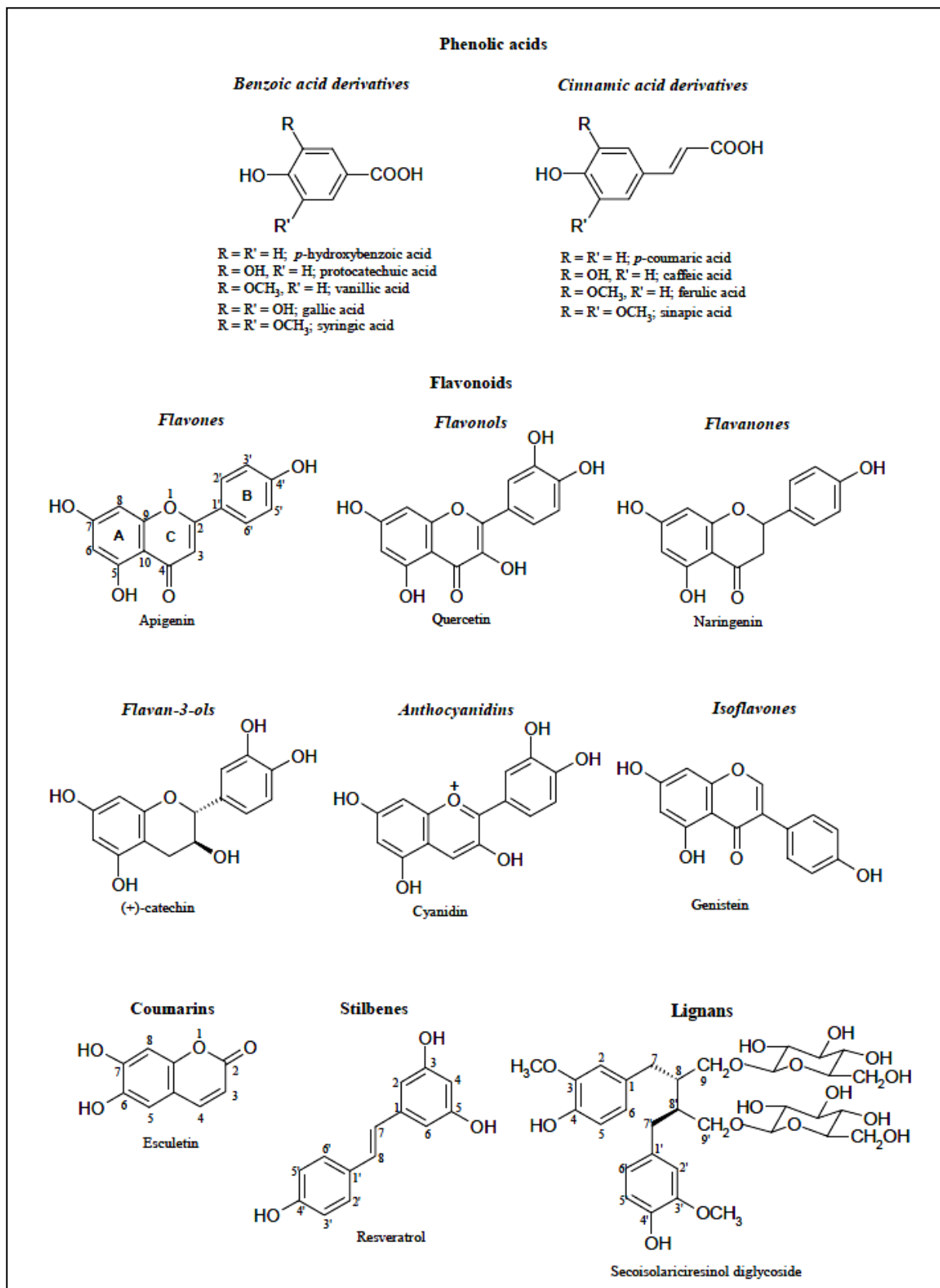


Figure 11 : Classification des polyphénols (Pereira *et al.*, 2009)

La quercétine se trouve naturellement dans une grande variété d'aliments incluant les oignons rouges et jaunes, les pommes, des baies, le thé noir, les brocolis, certaines graines et des fruits oléagineux comme les noix. La quercétine a fait l'objet de douzaines de rapports scientifiques au cours de ces trente dernières années. Elle semble avoir de multiples effets bénéfiques sur la santé de l'homme, incluant une protection cardiovasculaire, une activité anticancéreuse, des effets antiulcéreux, ainsi qu'une activité antiallergique, antivirale et anti-inflammatoire. La quercétine est utilisée comme modificateur de réponse biologique pour traiter certaines pathologies humaines (Pereira *et al.*, 2009)

2.1. Métabolisation et biodisponibilité

Il est important pour les nutritionnistes de connaître la consommation journalière de polyphénols mais aussi la disponibilité biologique de ces composés ingérés puisque leurs effets nutritionnels dépendent grandement de leur devenir au travers du tractus gastrointestinal. La biodisponibilité des flavonoïdes varie largement d'un composé à l'autre. Cela dépend de leur structure chimique qui détermine le taux d'absorption au travers du tractus intestinal, leur métabolisation et donc leurs activités biologiques (Vargas and Burd, 2010).

2.2. Effet antioxydant

Un grand nombre de preuves indiquent que la quercétine possède de puissantes propriétés antioxydantes. Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de piéger directement les radicaux libres, de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des ROS *via* les réactions de Fenton et Haber-Weiss, d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, d'activer les enzymes antioxydantes. Il semble qu'un grand nombre des effets biologiques de la quercétine et d'autres flavonoïdes puisse être expliqué par leur activité antioxydante et leur capacité à détruire les radicaux libres (Joshi *et al.*, 2005; Ramos *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.*, 2011). La fonction antioxydante de la quercétine est renforcée par la vitamine C. Ce renforcement est attribué à la capacité de la vitamine C à réduire la quercétine oxydée. Des effets bénéfiques encore plus puissants de la quercétine comme destructeur de radicaux libres et/ou comme inhibiteur de la peroxydation lipidique ont été observés en association avec la vitamine E et la vitamine C (Zhang *et al.*, 2011 ; Murota *et al.*, 2003) .

2.3. Effet anti-inflammatoire

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Une étude de Landolfi et son groupe a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes (Plouffe, 2010). La quercétine est indiquée dans toutes les situations inflammatoires parce qu'elle inhibe la formation des médiateurs de l'inflammation : les prostaglandines et les leucotriènes, en même temps que la libération de l'histamine. Cette activité est

particulièrement intéressante dans le cas de l'asthme, le leucotriène B4 étant un puissant constricteur bronchique. La quercétine aide également à diminuer la formation et la libération de prostaglandines pro-inflammation et de thromboxanes tout en ralentissant les substances réactives de l'anaphylaxie, un déclencheur-clé de l'asthme (Boots *et al.*, 2008).

2.4. Effet anti thrombotique

Les chercheurs ont conclu que la quercétine exerçait ses effets antithrombotiques en se liant de façon sélective aux plaquettes des thrombus dans les parois des vaisseaux sanguins et en restaurant une synthèse normale des facteurs décontractants dérivés de l'endothélium et de la prostacycline. Cette dernière inhibe l'agrégation plaquettaire et est un puissant vasodilatateur. La coagulation commence lorsque des plaquettes sanguines se fixent ensemble, un processus appelé agrégation plaquettaire. Le déclenchement courant de l'agrégation plaquettaire se fait par du collagène exposé lorsqu'un vaisseau sanguin est endommagé, notamment par une plaque artérielle. Une récente étude a évalué les effets de la quercétine sur une agrégation plaquettaire induite par du collagène (Kaneider *et al.*, 2004). La quercétine combat aussi les maladies cardiovasculaires par l'inhibition de la prolifération et de la migration des cellules musculaires lisses qui tapissent les artères coronaires (Pace- Asciak *et al.*, 1995). Des études épidémiologiques ont montré une réduction de la mortalité à long terme par maladie coronarienne chez les personnes ayant une alimentation riche en flavonoïdes incluant la quercétine. Les chercheurs ont constaté que la quercétine préservait le fonctionnement énergétique dans les cellules du cœur après les lésions d'ischémie-reperfusion (Barteková *et al.*, 2010) .

2.5. Effet Antibactérien et antiviral

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale. D'après (Dos Santos *et al.*, 2014). La quercétine and quercétine 3-O-glycosides possèdent une activité antivirale contre un arbovirus qui induit la fièvre de Mayaro. La quercétine aussi exerce un effet antibactérien en empêchant la croissance du *Helico bacter pylori* (Ramos *et al.*, 2006).

2.6. Action anticancéreuse

Dans différentes expériences *in vitro*, la quercétine a montré des effets inhibiteurs de croissance de cellules cancéreuses Hela. Une activité anticancéreuse directe et une action synergique avec différents médicaments anticancéreux ont été attribuées à la capacité de la quercétine à inhiber la protéine kinase (Puoci *et al.*, 2012). En tant qu'antioxydants, la quercétine est capable d'inhiber le processus de la carcinogénèse mis en œuvre par l'inhibition de type II estrogen binding site (type II EBS) (Scambia *et al.*, 1990).

1. Animaux expérimentaux

L'analyse de l'effet hépatoprotecteur de la quercétine vis-à-vis la toxicité des antituberculeux a été réalisée sur des rats Wistar Albinos adultes (150 à 200 g du poids). Les animaux sont issus par élevage au niveau de l'animalerie de l'Université des Frères Mentouri de Constantine 1. Les rats sont maintenus dans les conditions standards (12 h jour/nuit, température ambiante environ 24 °C) et ont libre accès à l'eau et à la nourriture. La nourriture est fournie par l'Office Nationale d'Aliment de Bétail Wilaya de Bejia. Elle est composé des maïs et de complexes minéralo-vitaminiques.

2. Induction de la toxicité

Les rats sont répartis en 3 lots expérimentaux à raison de 5 rats par lot comme suit :

1. Premier groupe (contrôle normal) : ces rats sont traités quotidiennement par gavage gastrique 1 ml/kg d'eau distillée pendant 15 jours.
2. Second groupe (contrôle intoxiqué) : ces rats sont traités quotidiennement par gavage gastrique de la Rifampicine (RMP : 250 mg/kg) et de l'Isoniazide (INH : 90 mg/kg) pendant 15 jours.
3. Troisième groupe (quercétine + INH/RMP) : ces rats sont traités quotidiennement par gavage gastrique 200 mg/kg de quercétine et des antituberculeux (RMP : 250 mg/kg et INH : 90 mg/kg) pendant 15 jours. Les traitements sont préparés dans l'eau distillée.

3. Prélèvement du sang et de foie

Après une anesthésie par le chloroforme, les prélèvements sanguins ont été effectués au niveau de la veine porte des rats mis à jeun. Le sang est recueilli dans des tubes héparines, et centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le plasma obtenu est récupéré et utilisé pour les dosages biochimiques les transaminases, la phosphatase alcaline et l'albumine. Le foie est prélevé, lavé et coupé en tranches. Des tranches de cet organe sont conservées dans le formol 10% en vue d'analyse histologique. Le reste du foie est utilisé pour dosage de paramètres du stress oxydatif.

3.1. Dosages Biochimiques

Les dosages des paramètres biochimiques ont été réalisés selon les protocoles en utilisant des Kits du commerce (Quimica Clinica Aplicada S.A, Spain).

3.1.1. Transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO)

-Principe :

L'oxaloacétate de glutamate (GOT) appelée aussi L'aspartate aminotransférase (AST) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate à l'acide α -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique. L'acide oxaloacétique produit est réduit en Malate par Malate déshydrogénase (MDH) et NADH :



-Préparation du réactif de travail :

Réactif 1 : tampon Tris pH 7.8 et L-aspartate.

Réactif 2 : NADH, MDH, α -cétoglutarate).

On dissout le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1). La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C.

-Mode opératoire

Solution de travail (ml)	1.0
Echantillon (μ l)	100

-Mélanger, et attendre 1 min ;

- Lire à 340 nm l'absorbance (A) après 1 min, 2 min et 3 min

- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ($\Delta A/\text{min}$). Le blanc de cette réaction est l'eau distillée.

-Calcul : La concentration de TGO est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité TGO (U/L)} = A/\text{min} \times 1750$$

A/ min : la valeur moyenne des trois lectures par minute.

3.1.2. Transaminase glutamo-pyruvique (TGP)

-Principe

Transaminase Glutamo-Pyruvique (TGP) ou Alanine aminotransferase (ALT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'acide α -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique. L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique par Lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



-Réactifs et solution de travail

Réactif 1 : tampon, pH 7.8, L-alanine

Réactif 2 : substrat (NADH, LDH, α -cétoglutarate). Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1). La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C.

-Mode opératoire :

Solution de travail (ml)	1.0
Echantillon (μ l)	100

- Lire à 340 nm l'absorbance (A) après 1 min, 2 min et 3 min. Le blanc de cette réaction est l'eau distillée.

-Calcul : La concentration de TGO est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité TGP (U/L)} = A/\text{min} \times 1750$$

A/ min : la valeur moyenne des trois lectures par minute.

3.1.3. Dosage de la phosphatase alcaline (ALP) :

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate (pNPP) au pH 10.4, en libérant p-nitrophenol et phosphate, selon la réaction suivante :



-Les réactifs et solution de travail

R1 (Tampon) : Diethanolamine (DEA) pH 10,4-Chlorite du magnésium (mmol/L ; 0,5 mmol/L)

R2 (Substrat) : P-Nitrophénylphosphate (10 mmol/L). Dissoudre un comprimé du R2 dans une fiole du R1.

Ce réactif est stable pendant 21 jours à 2-8°C ou 5 jours à la température ambiante.

-Mode opératoire

Solution de travail (ml)	1.2
Echantillon (μ l)	50

-Mélanger, et attendre 1 min.

- lire à 405 nm l'absorbance après 1 min, 2 min et 3 min.

- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ($\Delta A/\text{min}$). - Le blanc de cette réaction est l'eau distillée).

-Calcul

$$\text{Activité PAL (U/L)} = A/\text{min} \times 3300$$

A/ min : la valeur moyenne des trois lectures par minute.

3.1.4. Dosage de l'Albumine

-Principe

En présence de vert de bromocrésol à un pH légèrement acide, l'albumine produit un changement de couleur de l'indicateur du jaune-vert au vert-bleu. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon.

-Réactif utilisés (Réactif et standard sont prêts à utiliser) :

R1: Bromcresol vert; pH 4.2; 0.12 mmol/L. R2: Albumin reference: 5 g/dl.

-Mode opératoire

	Blank	standard	Echantillon
R (mL)	1.0	1.0	1.0
reference(μL)	--	5	--
Echantillon(μL)	--	--	5

-Calcul : La concentration d'albumine (mg/dl) = (A) échantillon x 5 (concentration standard) / (A) Standard.

3.2. Les Paramètres de stress oxydatif

3.2.1. La Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le Foie est évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d' Ohkawa *et al.* ((1979). Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress. Le principe de cette méthode est résumé ainsi (**Figure 12**). Pour le dosage du MDA, 1 g de foie est additionné à 5 ml de solution de KCl (1, 15 %) puis broyage par un homogénéiseur. À un volume d'homogénat obtenu, 3 ml d'acide phosphorique 1 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 45 minutes, refroidi puis additionné de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm. Le coefficient d'extinction du MDA est utilisé afin de calculer la concentration de ce dernier dans l'échantillon. Les résultats du dosage sont exprimés en nmol/g tissu.

3.2.2. Dosage de glutathion hépatique (GSH)

Préparation de l'homogénat : 0,5 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 3 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4), puis ont été broyés pour obtenir un homogénat. Une partie est utilisée pour dosage du GSH, le reste est centrifugé à 4000 tours/min pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu est utilisé pour le dosage de l'activité de la catalase.

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique d'Ellman (1959). Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide

thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm, selon la réaction suivante (**Figure 13**). Pour ce dosage, 0,5 ml d'homogénat est traité par l'acide trichloracétique TCA (2 ml, 1%) puis centrifugé à 2000 tours /min. À un volume du surnageant obtenu, 2 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4) et de surnageant), 200 µl de DTNB (0,01 M) sont additionnés. L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %. Les concentrations sont exprimées en µmol/g de tissu.

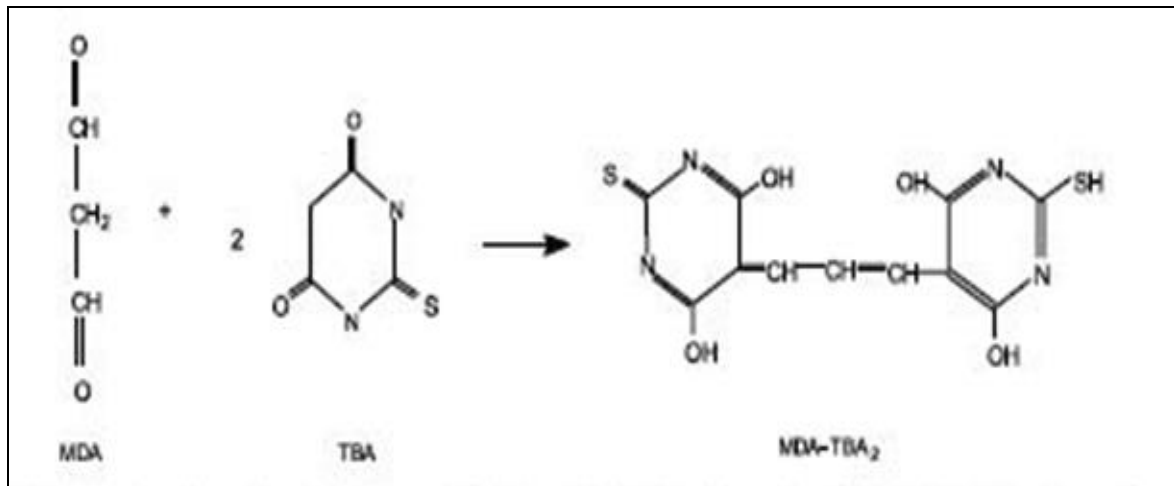


Figure 12 : Principe du dosage du malondialdéhyde (Grotto ., 2009) .

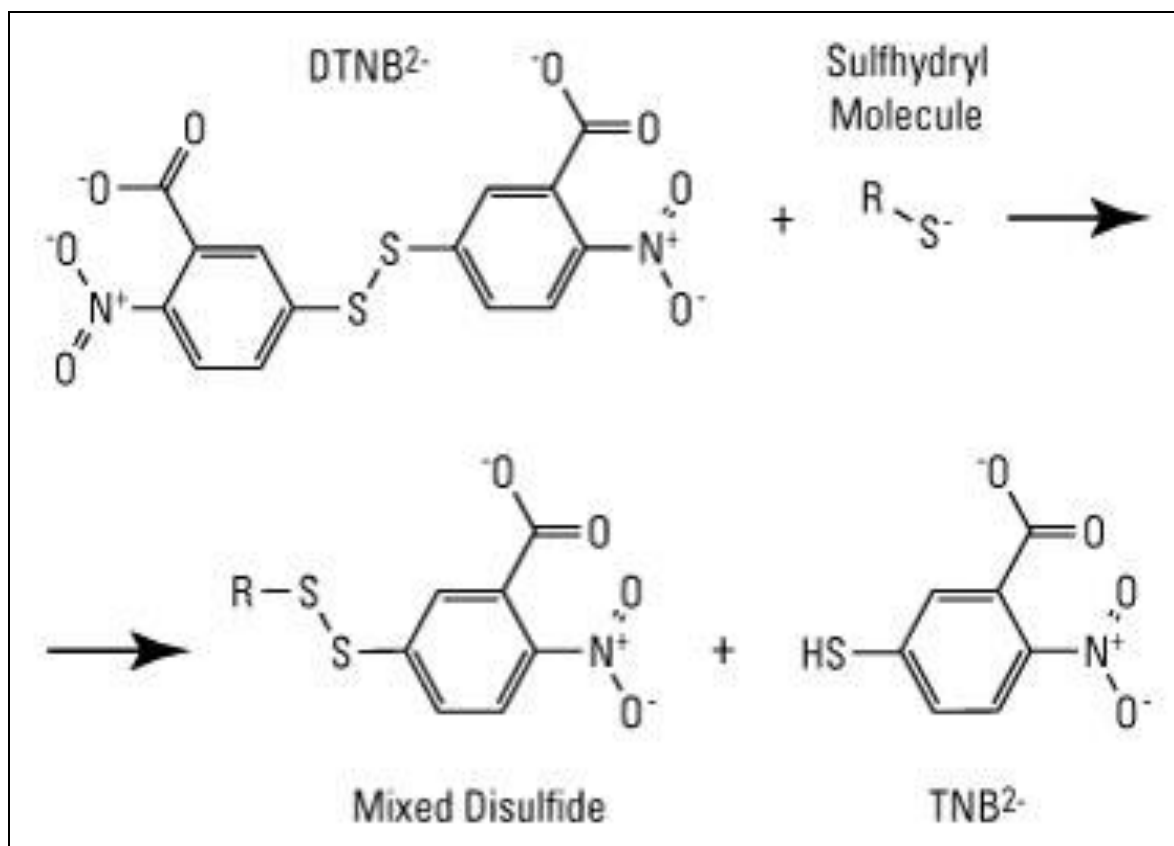


Figure 13 : Principe de dosage du glutathion (Ellman, 1959).

3.2.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

L'activité enzymatique de CAT est déterminée par la méthode de Clairborne (1985). Le principe est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 25 C° selon la réaction suivante :



Pour l'évaluation de l'activité enzymatique de CAT, un mélange est constitué de 1 ml de tampon phosphate (0,1M, pH 7.2), 0,750 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (91 mM) et un volume de la source d'enzyme. L'absorbance est lue à 240 nm chaque minute pendant 3 minutes et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité par minute et par gramme de protéine (U / min/g tissu).

3.3. Etude histologique du foie

Les tests techniques histologiques passent par plusieurs opérations qui s'en chainent et qui sont obligatoire. La méthode la plus utilisée, avec inclusion à la paraffine. Comporte les étapes suivantes :

A / Fixation : Fixation des tranches de foie dans un fixateur le formol tamponné - 4 à 6 h pour les biopsies, 24 h au moins pour les pièces opératoires.

B/ Mise en cassettes : de préférence un échantillon par cassette.

C/ Inclusion dans la paraffine : comporte des étapes successives : Déshydratation, éclaircissement, imprégnation, coulage.

- Déshydratation : Cette étape prépare les tissus à l'inclusion en paraffine. Elle est réalisée dans l'automate de circulation qui permet le passage dans plusieurs bains pendant 24h.

-Formol ——— 1 bain : 30 min

-Alcool 70°-75° ——— 1bain : 30 min

-Alcool 90° ——— 2 bains : 30 min chacun

-Alcool absolu ——— 3 bains : 30 min chacun

-Eclaircissement : Benzène ou toluène 2 bains de 15 minutes.

-Imprégnation par la paraffine : 2bains de 1 heure à quelques heures dans la paraffine Fondue à l'étuve à 60°.

-Coulage du bloc avec de la paraffine neuve, filtrée. Les blocs peuvent être conservés plusieurs mois au réfrigérateur.

D/ Réalisation des lames histologiques

- Confection des coupes au microtome : le bloc de paraffine contenant le tissu est coupé en fins rubans de 4 à 5 μm
- Etalement et collage des coupes sur les lames porte-objet : Plusieurs motifs de coupe tissulaire sont étalés sur lames. Les lames sont alors séchées afin d'assurer une bonne adhésion à la lame des tissus avant coloration.

E/ Coloration

Cette étape nécessite le passage par le déparaffinage, coloration et enfin le montage des lames.

-Déparaffinage des coupes sur la platine chauffante, puis passage dans la batterie de déparaffinage :

- Xylène ————— 2 borels (20 min chacun)
- Xylène et Alcool ——— 1 borel (20 min)
- Alcool 90°-95°——— 1 borel (20 min)
- Alcool 70°-75° —— 1 borel (20 min)
- Eau distillé ————— 1 borel (passage de quelques minutes)

-Coloration standard HES (Hématoxyline-Eosine) : L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé, l'éosine, les cytoplasmes en rose.

- Déshydratation dans la batterie de montage :

- Alcool 70°-75° —— 1 borel
- Alcool 90°-95° —— 1 borel
- Alcool absolu —— 2 borel
- Xylène —— 2 borel

- Montage de la lamelle au baume : Les lames doivent être séchées à l'étuve à plat avant d'être rangée dans les boîtes à préparations histologiques.

F / L'observation microscopique

L'observation des coupes colorées et la prise de photos sont effectuées à l'aide d'un microscope relié à un camera.

4. Analyse statistique des résultats

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type (ET).

La comparaison entre les groupes expérimentaux des rats est réalisée par le test de student "*t*". Les valeurs sont considérées significative lorsque $P \leq 0,05$.

Résultats

1. Effet des antituberculeux et de la quercétine sur la fonction hépatique

L'effet des antituberculeux (RMP : 250 mg/kg+ INH : 90 mg/kg) et de la quercétine (200 mg/kg) sur les fonctions hépatiques est illustré par la **Figure14**. Sur cette figure on constate une élévation significative ($p<0,01$) du niveau sérique de TGO, TGP et ALP chez les rats traités par les antituberculeux par rapport aux rats témoins. L'activité de ces enzymes est significativement réduite chez les rats traités par la quercétine par rapport au groupe toxique.

L'effet des antituberculeux (RMP/INH) et de la quercétine sur le taux d'albuminémie est illustrée par la **Figure 15**. Sur cette figure on constate une diminution significative ($p<0,05$) du taux d'albumine chez les rats traités par les antituberculeux par rapport au groupe témoin. Cependant, l'albuminémie est significativement élevée ($p<0,05$) chez les rats traités par la quercétine par rapport au groupe toxique.

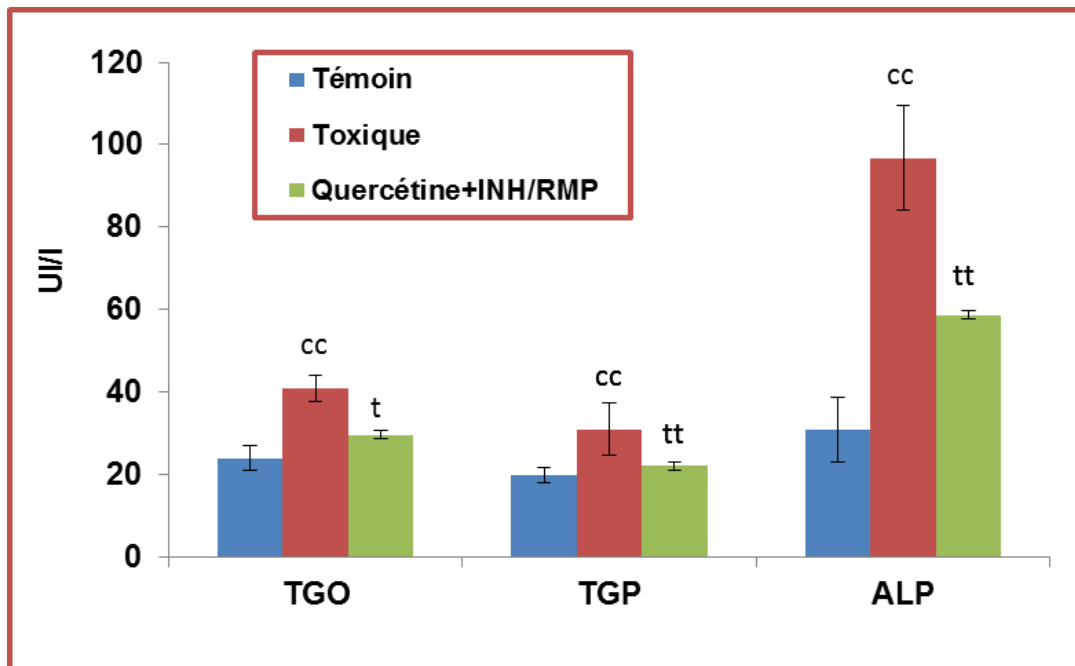


Figure 14 : Effets de traitements sur l'activité de TGO, TGP et ALP.

^cp<0.01 différence significative groupe témoin versus group (INH/RMP). ^tp<0.05 différence significative groupe toxique versus group traité par la quercétine. Chaque valeur représente la moyenne ±ET, n=5rats.

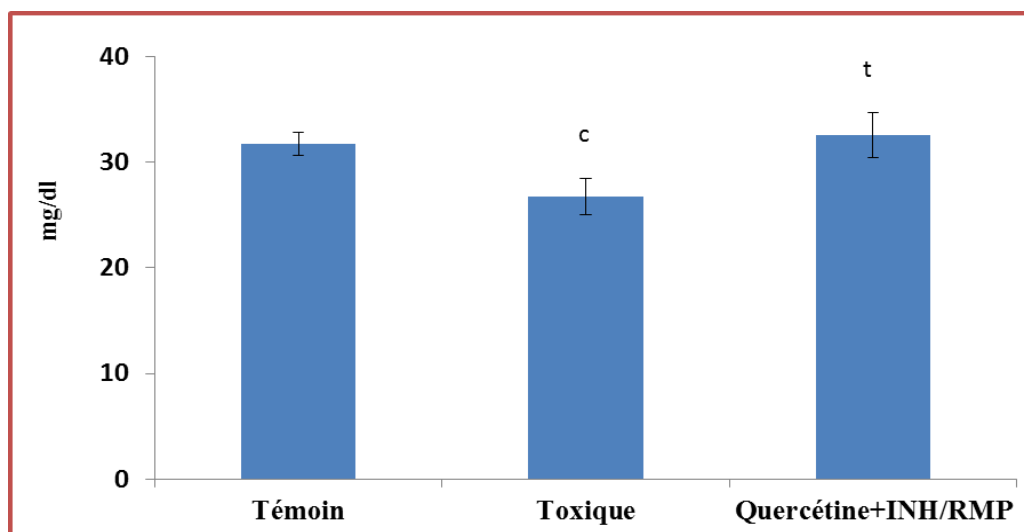


Figure 15 : Effets de traitements sur le taux de l'albumine.

^cp<0.01 différence significative groupe témoin versus group (INH/RMP). ^tp<0.05 différence significative groupe toxique versus groupe traité par la quercétine. Chaque valeur représente la moyenne ±ET, n=5rats.

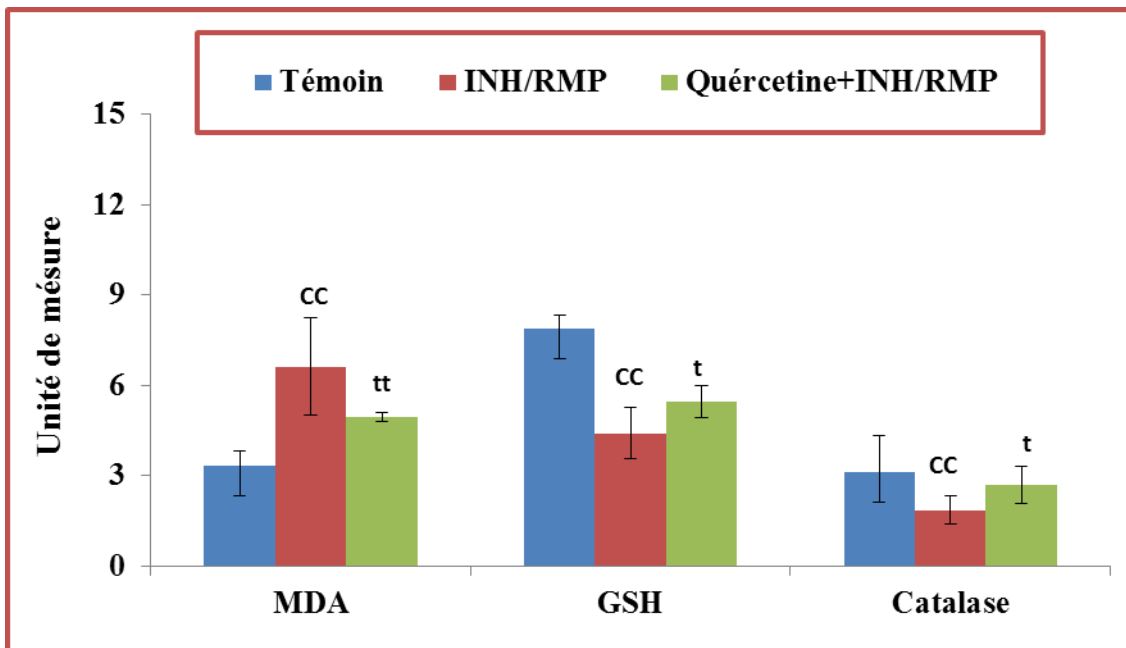


Figure 16. Effets de traitements sur le taux de la peroxydation lipidique et de GSH et l'activité de la catalase au niveau du foie.

Unité de mesure : MDA(nmole /g tissu), GSH(μ mole/g tissu), Catalase(U/g tissu) . Teste *t*-Student $\cdot^{cc} p \leq 0.01$: différence significative groupe témoin versus group toxique. $^t p \leq 0,05$ et $^{tt} p \leq 0,01$: différence significative groupe (RMP/RIF).versus group traité pat la quercetine. Chaque valeur représente la moyenne \pm ET, n=5rats.

3. Résultats d'analyse histologique

Le foie de rats témoins montre une architecture histologique bien conservée. Les hépatocytes disposés en travées radiaires à partir de la veine centro-lobulaire et entourés de sinusoides vasculaires (**Figure 17 i**). Le foie de rats traités par les antituberculeux (RMP /INH) pour une période de 15 jours, présente des dégénérescences hépatocellulaires avec une accumulation des lipides (**Figure 17 ii**). Les coupes histologiques hépatiques des rats traités par la quercétine, montrent une apparence normale des hépatocytes (**Figure 17 iii**).

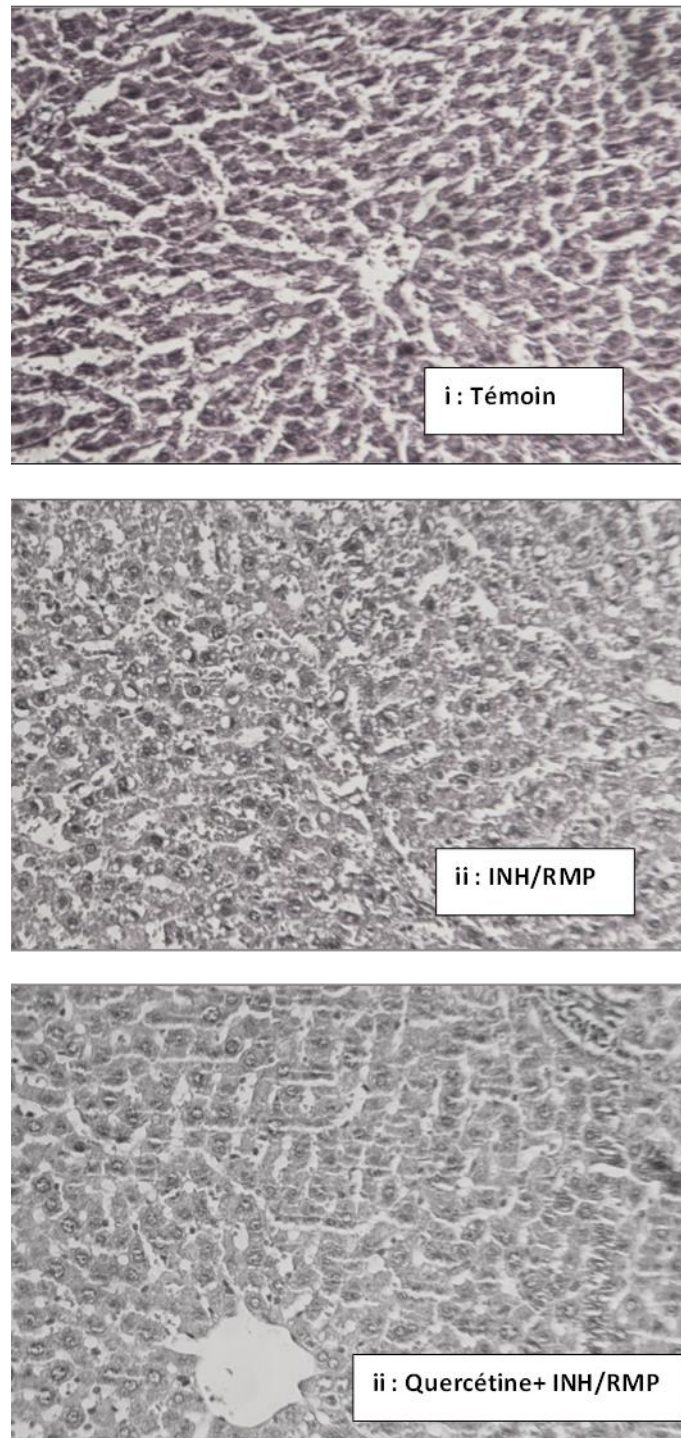


Figure 17 : Micrographies du tissu hépatique (HE, X100).

Discussion

Le foie est le siège principal de la clairance des médicaments, de leur biotransformation et de leur excrétion. Les médicaments sont une cause importante et courante d'atteinte hépatique. Certains toxiques attaquent systématiquement le foie, mais leur effet dépend de la dose ingérée. D'autres produits, comme certains médicaments, ne sont toxiques que chez un faible pourcentage de sujets particulièrement sensibles à la molécule, à ses dérivés métaboliques. Dans la présente étude on a choisit les antituberculeux en combinaison (INH : 90 mg/kg et RMP : 250 mg/kg).

Les résultats de notre étude démontrent qu'un traitement de deux semaines par les antituberculeux induits à une altération du bilan biochimique chez les rats intoxiqués.

L'albumine est la principale protéine du sang, soluble dans l'eau et fabriquée par le foie (Benhamou *et al.*, 1998). La baisse du taux de l'albumine dans notre présente étude peut indiquer une insuffisance hépatique causé par les antituberculeux. Les transaminases (ou amino transférases) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-aminé à un acide alpha-cétonique. **Glutamopyruvate Transférase (TGP)** est présente essentiellement dans le foie et accessoirement dans les muscles et le rein. **Glutamooxaloacétate Transférase (TGP)** a une distribution beaucoup plus large, dans le foie mais aussi dans le cœur, les muscles squelettiques, les reins et le cerveau. La phosphatase alcaline se trouve notamment dans le foie et les os. Elle est élevée en cas d'une atteinte hépatique choléstatique (Bedossa, 1992 ; Benhamou *et al.*, 1998). Devant toute élévation des transaminases, il faut évoquer la possibilité d'une origine médicamenteuse. De nombreux médicaments d'usage courant peuvent être responsables d'une atteinte hépatique. Citons parmi les plus fréquemment incriminés les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les antibiotiques, mais aussi l'isoniazide, les antifongiques (kétoconazole et fluconazole) et les sulfamides (Benhamou *et al.*, 1998).

Dans notre étude, le bilan sanguin montre une atteinte du foie : enzymes hépatiques (transaminases et phosphatases alcalines) élevées et le taux d'albumine abaissé chez les rats intoxiqués par les antituberculeux. Nos constatations histologiques confirment la perturbation du bilan biochimique chez les rats traités par les antituberculeux. En effet, l'analyse histologique du foie a révélé un parenchyme d'aspect moins organisé et la présence dans les hépatocytes de nombreuses petites vésicules de graisses. Ces perturbations peuvent être le résultat d'un stress oxydatif produit suite à une administration des antituberculeux (INH/RMP) aux rats.

Le stress oxydant est une circonstance anormale dans laquelle sont placés les tissus de notre organisme lorsqu'ils sont face à un flux accru de radicaux libres, et qu'ils n'arrivent plus à piéger ou à détruire. Evaluer le stress oxydant consiste donc à estimer les mécanismes de défense et analyser les produits secondaires qui peuvent en résulter. Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des plus importants marqueurs du stress oxydatif. Il a été mesuré dans le foie pour refléter le degré de la peroxydation lipidique (Ohkawa *et al.*, 1979). Impliquant principalement les acides gras polyinsaturés, ce processus endommage la structure et la

fonction cellulaire responsable de la perte de l'intégrité membranaire, et la lyse cellulaire (Sahnoun *et al.*, 1998). Dans notre étude, le traitement par les antituberculeux seules a entraîné une augmentation significative du taux de MDA dans le foie, expliquant que la peroxydation lipidique a eu lieu au niveau des tissus incriminé. Nos résultats confirment ceux de Grattagliano *et al.*, 2009) qui a démontré que les produits dérivés d'une fonction oxydative microsomale, sont très toxiques pour les hépatocytes.

Au cours de la biotransformation hépatique, les antituberculeux sont métabolisés aux des métabolites réactifs conduisant à une nécrose (Hussain *et al.*, 2003). Les causes dans le cas présent sont d'une part la concentration plus haute du métabolite toxique de l'isoniazide, l'acétylhydrazine, et l'induction par la rifampicine du système CYP450, responsable de l'activation de l'acétylhydrazine d'autre part (Srivastava *et al.*, 2010 ;). Ce dernier produit va à son tour subir une série d'acétylations pour entraîner la formation de métabolites réactifs toxiques pour les cellules hépatiques avec fixation sur les protéines pour donner des adduits aux protéines et des phénomènes d'hépatotoxicité. Les métabolites formés réagissent avec des molécules biologiques à l'endroit même où ils sont produits, en particulier au niveau des structures lipidiques des membranes cellulaires (Benhamou *et al.*, 1998 ; Teixeira *et al.*, 2013). La peroxydation lipidique conduit à une désorganisation cellulaire. Cet effet délétère sera d'autant plus prononcé que les systèmes de défense antioxydante sont absents, insuffisants ou dépassés. Parallèlement à l'augmentation de la peroxydation lipidique dans cette étude, l'activité de catalase et le taux de la GSH sont expérimentalement réduit par les antituberculeux.

Il est bien admit que le mécanisme le plus fréquent de l'hépatotoxicité par les antituberculeux est la formation de métabolites réactifs. De plus, un autre mécanisme implique un dysfonctionnement mitochondrial diminuant l'oxydation des graisses (à l'origine d'une stéatose) et diminuant la production d'énergie (Heidari *et al.*, 2013). Ce mécanisme physiopathologique pourrait expliquer la présence des vésicules lipidiques intra-hepatocytaires dans les foies des rats traités par les antituberculeux (INH/RMP).

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression de ces oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques (Sahnoun *et al.*, 1997). Parmi ces derniers, on retrouve principalement le glutathion réduit (GSH), il permet à l'organisme de se débarrasser des toxines et polluants indésirables, en formant avec eux un composé hydrosoluble susceptible d'être excrété dans l'urine ou la bile. Le glutathion (GSH) exerce son rôle en synergie avec les enzymes antioxydantes, parmi lesquelles figurent la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR), la glutathion transférase (GST), la catalase (CAT) et le système thiorédoxine/thiorédoxineréductase (El-Beltagi HS *et al.*, 2013). Dans cette étude, nous allons estimer le taux de la GSH et l'activité de la catalase dans le foie comme étant un organe cible spécialisé dans la détoxification. La catalase est une enzyme ayant un rôle majeur de catalysant d'où son nom, la décomposition de H_2O_2 en H_2O et O_2 . Cette fonction est partagée avec la glutathion peroxydase qui a besoin

de glutathion et de sélénium pour fonctionner correctement, en plus son rôle principal d'éliminer les peroxydes lipidiques (Sahnoun *et al.*, 1998).

Les niveaux de ces antioxydants peuvent fournir une idée claire sur l'ampleur des dégâts cytotoxiques qui se produisent dans ces tissus. Dans ce contexte, notre étude a mis en évidence une réduction significative de l'activité de la catalase et le taux du GSH dans le foie des rats traités par les antituberculeux seuls. La réduction de l'activité de la catalase est peut être due à la production excessive d' H_2O_2 . Ainsi, la diminution du taux de GSH peut être due à sa conjugaison directe avec les métabolites toxiques radicalaires produits par ces médicaments (Teixeira *et al.*, 2013). Nos résultats conviennent avec ceux de Heidari *et al.*, (2013).

Dans de telles circonstances, ces systèmes peuvent devenir incapables de protéger l'organisme contre la toxicité, c'est pourquoi la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits à pouvoir antioxydant a suscité beaucoup d'intérêt. La quercétine représente l'une des molécules promotrices dans la prévention contre certaines maladies. D'après les résultats obtenus, le traitement par la quercétine (200 mg/kg) semble être associé à des changements bénéfiques pour le foie. Ce flavonoïde contrôle significativement la libération des ALT, AST, PAL et le taux de l'albumine induit par les antituberculeux (INH/RMP). De même, l'activité de la catalase et le taux cellulaire de GSH sont conservés sous l'effet chémoprotecteur de la quercétine, puisque la variation du MDA cellulaire reste normale témoignant de l'absence d'une peroxydation lipidique et d'une intégrité cellulaire. Cet effet est confirmé par une absence de nécrose hépatique chez des animaux traités par la quercétine et les antituberculeux en même temps. Cela serait probablement dû à l'effet antioxydant de la quercétine (Majewsk *et al.*, 2011). Nos observations corroborent celles d'autres chercheurs ; et parmi ces études on peut citer les recherches de Qader *et al* (2014) qui ont constaté que la quercetine améliore considérablement l'hépatotoxicité par l'INH et la RMP. En outre Jashitha *et al* (2015) ont montré que la quercetine potentialise l'effet hépatoprotecteur de la sylimarine en augmentant les niveaux de GSH, SOD, CAT, GPx, GR et en diminuant la peroxydation lipidique provoquée par le thiocytamide chez les rats. La quercétine a été prouvé d'avoir d'excellentes propriétés antioxydantes jusqu'à 20 fois plus élevées que l'apiginine. Elle semble exercer son action antioxydante en assurant le captage de radicaux libres et certains métaux de transition (Majewsk *et al.*, 2011).

Autrement dit, les flavonoides ont un effet scavenger, c'est-à-dire au lieu que les radicaux libres produits par les antituberculeux se neutralisent par le GSH ils vont plutôt être captés par la quercétine en maintenant ainsi le taux normal de glutathion hépatique. Ils peuvent également exercer leur capacité antioxydante au travers de la stimulation ou de la protection des systèmes antioxydants endogènes (De David *et al.*, 2011 ; Ji *et al.*, 2015). Du fait de leur caractère hydrophile, Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène des acides gras polyinsaturés, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu

réactives (Rice Evance *et al.*, 2006). La quercétine peut également chélater des ions métalliques de transition responsables de la formation de espèces réactifs de l'oxygéné et ainsi, inhiber la réaction oxydative (Leopoldini *et al.*, 2006).

En plus, l'effet bénéfique de la quercétine dans la prévention contre le stress oxydative serait lié à leur capacité à agir comme antioxydant grâce à leur capacité de réduction des métabolites toxiques endogènes. Ils peuvent également exercer leur capacité antioxydante au travers de la stimulation ou de la protection des systèmes antioxydants endogènes (Wang *et al.*, 2015). La quercétine est dotées de propriété anti inflammatoire. Cet effet serait dû à l'inhibition de la synthèse de l'IL-1 et le TNF- α , dans différents organes exposées à un stress oxydative (Wang *et al.*, 2015 ; Huaung *et al.*, 2015).

Conclusion et perspectives

Dans la présente étude, l'évidence de l'hépatotoxicité induite par les antituberculeux (RMP et INH) est confirmée. L'association de ces deux antituberculeux est susceptible de causer un déséquilibre du statut redox cellulaire au profit des prooxydants responsables de la peroxydation lipidique et la destruction des structures membranaires des hépatocytes ce qui provoque leur cytolysse et donc la libération des transaminases (AST et ALT) et la phosphatase alcaline dans le sang via leurs membranes perforées. De même, ces altérations sont accompagnées d'hypoalbuminémie, signe d'une insuffisance hépatique durant la toxicité par les antituberculeux. Nos constatations histologiques confirment la perturbation des paramètres biochimiques et ceux du stress oxydatif (augmentation de la peroxydation lipidique, réduction de la GSH et de l'activité de la catalase) causée par les antituberculeux.

La quercétine avec sa propriété hépatoprotectrice joue un rôle chélateur contre les radicaux libres produits par les antituberculeux, possède donc une activité antioxydante. Le traitement par la quercétine a pu améliorer l'ensemble des paramètres altérés par les antituberculeux. De même, la structure du parenchyme hépatique est préservée grâce au traitement par la quercétine.

Ainsi, il ressort de notre travail que la quercétine est un produit intéressant avec de nombreuses possibilités thérapeutiques. Cette étude ouvre des perspectives expérimentales qui devraient d'avancer vers de meilleures connaissances des mécanismes intervenant dans les effets thérapeutiques trouvés.

Résumé

L'hépatotoxicité est un effet indésirable bien connu au cours du traitement par les antituberculeux notamment la combinaison de la rifampicine (RMP) et l'isoniazide (INH). La prévention de cette pathologie nécessite l'intervention des molécules anti oxydantes telles que les flavonoïdes. Le but de cette étude est d'évaluer l'effet hépatoprotecteur de la quercétine vis-à-vis la toxicité par les antituberculeux (INH+RMP). Les rats mâles adultes ont été gavés par la quercétine (200mg/kg) durant une période de 15 jours, la toxicité est induite par l'administration simultanée de la INH (90 mg/kg) et RMP (250 mg/kg). Nos résultats montrent que la quercétine une amélioration de la fonction hépatique se manifestant par la réduction de l'activité des AST, ALT et PAL plasmatique et l'augmentation de l'albuminémie. Cette prévention est associée par la restauration du GSH, CAT et l'inhibition du MDA en tant qu'indicateur de la peroxydation lipidique. Cette prévention a été également confirmée par l'étude histologique qui a montré une maintenance de l'architecture du tissu hépatique par la quercétine.

L'efficacité de la quercétine fournit la preuve que ce composé bioactif peut être développé comme un nouveau produit pour la prévention contre la toxicité hépatique à l'avenir.

Mots clés : Isoniazide, Rifampicine, Hépatotoxicité, Quercétine, Protection.

Abstract

Hepatotoxicity is a well known side effect during the antituberculosis trial, that combines both rifampicine (RMP) and isoniazide (INH). The aim of the present study is to highlight an evaluation of quercetin hepatoprotective effect toward antituberculosis medications toxicity. The adult rats were orally treated by quercetin (200mg/kg) for a period of 15 days. Toxicity was induced by simultaneous administration of INH (90mg/kg) and RMP (250mg/kg). Quercetin has shown an improvement in the liver function manifested by reducing the activity of AST, ALT and ALP in plasma and increased *albuminemia*. This prevention is associated with the restoration of liver GSH, CAT and inhibition of MDA as an indicator of lipid peroxidation. Also this prevention was confirmed by histological studies that showed maintainance of the hepatic tissue architecture.

The effectiveness of the quercetin provides an evidence that this bioactive compound can be developed as a new product to prevent a liver toxicity in the future.

Key words: Isoniazide, Rifampicine, Hepatotoxicity, Quercetin, Protection.

ملخص

تعتبر السمية الكبدية الناجمة عن التعاطي الدوائي أهم الانشغالات العلمية والصحية. ويشكل التداوي المكثف بمضادات السل أكبر الأمثلة لهذه السمية. قد يقتضي المفهوم الوقائي تدخل بعض المواد المضادة للأكسدة و تعتبر الفلافونيدات أحد أهم هذه المواد. تهدف هذه الدراسة إلى اختبار الفعل الوقائي للكرستين كأحد أهم الفلافونيدات على السمية الكبدية المحرصة من قبل الأيزونيازيد و الريفامبسين ، حيث قدمت جرعات للجرذان الذكور بكمية تقدر ب (200مغ/كغ) من الكرستين لمدة 15 يوما وقد تزامن هذا مع تزويد الحيوانات بجرعة من الريفامبسين (250مغ/كغ) و الأيزونيازيد (90مغ/كغ) لنفس المدة، وقورنت جرذان اقتصرت معاملتها بالأيزونيازيد و الريفامبسين فقط (كمعاملة سامة).

أظهرت المعايير الكيميائية أن الوظيفة الكبدية قد تحسنت بفعل الكرستين وظهر أثر ذلك في تحسن معدلات ناقلات الأمين(ALT)، (AST) و الفوسفاتاز الكليين (PAL) و كذا تعديل مستوى الألبومين. استجاب مؤشرات النظام المضاد للأكسدة أيضا للفعل الوقائي بالكرستين حيث ارتفع معدل كل من GSH،CAT و تراجع معدل المألون ألدهيد.

أكد هذا الفعل الوقائي للدراسة النسيجية حيث أظهرت أن الكرستين قد صان البنية الهندسية للبرانشيم الكبدي. نستخلص من هذه الدراسة أن الكرستين يمكن اعتمادها كجزئيه واقية من الخلل الكبدي المستحدث بمضادات السل.

الكلمات المفتاحية: الأيزونيازيد، الريفامبسين، التسمم الكبدي، الكرستين، الحماية.

Références bibliographiques:

-Plouffe M. (2010). Etude du potentiel anti-inflammatoire de la quercétine et de la sésamine sur les microgliales activées par les neurotoxines. Mémoire, l'université du Québec.:62.

-Arazola O., Bartsch P.(2010). Diagnostic et traitement de la tuberculose. Manuel pratique. Recommandation destinées au corps médical.fares.asbl : 32-45.

- Aouam K, Chaabane A, Loussaïef C, Ben Romdhane F, Boughattas NA, Chakroun M.(2007). Adverse effects of antitubercular drugs: epidemiology, mechanisms, and patient management. *Med Mal Infect.* 37(5):253-61.

-Van Vooren JS. (2010).Diagnostic et traitement de la tuberculose. FARES Bruxelles, Belgique: 54, 63, 89.

-AtukerenPinar and Yigitoglu M.(2013). The Stance of Antioxidants in Brain Tumors, Clinical Management and Evolving Novel Therapeutic Strategies for Patients with Brain Tumors, Dr. Terry Lichtor (Ed.), ISBN: 978-953-51-1058-3, InTech, DOI: 10.5772/54791.

-Barteková M, Carnická S, Pancza D, Ondrejčáková M, Breier A, Ravingerová T. Acute treatment with polyphenol quercetin improves postischemic recovery of isolated perfused rat hearts after global ischemia. *Can. J.Physiol.Pharmacol.*88 (4):465-471.

-Boots AW, Wilms LC, Swennen EL, Kleinjans JC, Bast A, Haenen GR.(2008). In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers.*Nutrition.*24(7-8) :703-710.

-Botella H, Peyron P, Levillain F, Poincloux R, Poquet Y, Brandli I, Wang C, Tailleux L, Tilleul S. (2011). Mycobacterial p (1)-type ATPases mediate resistance to zinc poisoning in human macrophages. *Cell.Host.Microbe.*10(3) :248-59.

-BedossaP. (1992). Aspects morphologiques du foie normal et pathologique. *Path. Biol.*47(9) :879-885.

-Benhamou JP. (1998).Hépatologie clinique. Flammarion, Paris : 566-597.

-De David C, Rodrigues G, Bona S, Meurer L, González-Gallego J, Tuñón MJ, Marroni NP. (2011). Role of quercetin in preventing thioacetamide-induced liver injury in rats. *Toxicol.Pathol.*39 (6) : 949-57.

- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. 2007.** Oxidative stress. *Rev. Med. Liege.* 62(10) : 628-38
- Dos Santos AE, Kuster RM, Yamamoto KA, Salles TS, Campos R, de Meneses MD, Soares MR, Ferreira D1. (2014).**Quercetin and quercetin 3-O-glycosides from *Bauhinia longifolia* (Bong.). **2014.** *Parasit.Vectors.* 28(7):130-136.
- El-Beltagi HS, Mohamed H I. (2013).**Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism. *Bot.Horti.Agrobo.*41(1) :44-57.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant. *Actualité chimique* (Nov-Déc) :108-115.
- Grattagliano I, Bonfrate L, Diogo C V, WangHe, Wang D, Portincasa P. (2009).**Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury: Certainties and doubts. *World. J.Gastroenterol.*15(39) : 4865-4876.
- HAS. (2007).** Tuberculose active. Guide – affection de longue durée.Haute Autorité de Santé, France : 18.
- Heidari R, Babaei H, and Eghbal M A. (2013).**Taurine protection against isoniazid and hydrazine in rat liver cells. *ArCh .Hig.Rada.Toksikol.*64:201-210.
- Huang R, Zhong T, Wu H. (2015).**Quercetin protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through suppression of inflammation and oxidative stress.*Arch. Med.Sci:* 11(2):427-432.
- Hussain Z, Kar P, Husain SA. (2003).**Antituberculosis drug-induced hepatitis: risk factors, prevention and management. *Indian. J. Exp. Biol.* 41(11):1226-1232.
- Jashitha M, Manodeep C, Jagadish VK. (2013).** Effect of quercetin on hepatoprotective activity of silymarin against thioacetamide intoxicated rats. *Inter.Res.J. Phar.*4 (7):138-140.
- Ji LL, Sheng YC, Zheng ZY, Shi L, Wang ZT. (2015).**The involvement of p62antioxidative signaling pathway and JNC in the protection of natural flavonoid quercetin against hepatotoxicity. *Free.Rad.Biol. Med.* 85:12-23.
- Jurg B, Berger C, Bodmer T, Egger J, Merlani G, HelblingP, Janssens J, Nadal D, NicodL. (2012).** Manuel de la tuberculose. Office Fédérale De la Santé Publique (OFSP). Suisse : 80.

-Kaneider NC, Mosheimer B, Reinisch N, Patsch JR, Wiedermann CJ. (2004).Inhibition of thrombin-induced signaling by resveratrol and quercetin: effects on adenosine nucleotide metabolism in endothelial cells and platelet-neutrophil interactions. *Thromb.Res.*114 (3):185-194.

-Leopoldini M, Russo N, Chiodo S, Toscano M. (2006). Iron chelation by the powerful antioxidant flavonoid quercetin. *J. Agric. Food. Chem.*54 (17):6343-51.

-Majewska M, Skrzycki M, Podsiad M, Czczot. (2011). Evaluation of antioxidant potential of flavonoids: *in vitro* study. *Drug. Res.*68 (4) : 611-615.

-Meyssonnier V. (2012). Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. Sante publique et épidémiologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012. France: 30-45.

Hadi A M, Geneviève U, Vandamme TF, Jung L. (2004). Isolation of quercetin's salts and studies of their physicochemical properties and antioxidant relationships. *Bio. Med. Chem.*12 (13) : 3627-3635.

-Miloudi K. (2011).Nutrition parentérale du nouveau-né : modulation du stress oxydant et conséquences hépatiques. Thèse de Doctorat en sciences biomédicales. Faculté de médecine, Paris : 239.

-Murota, K, Terao J. (2003).Antioxydative flavonoid quercetin: implications of its intestinal absorption and metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.*417: 12-17.

-ElFtough M, Mouline S, Badi A, M, EL Fassy F. (1998).Médicaments antituberculeux : effets secondaires et conduite à tenir. *Médecine du Maghreb* .N°67 : 36-39.

-Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal. Biochem.* 95:351–358.

-OMS. (2015). Organisation mondiale de la santé : Tuberculose, Aide-mémoire : 104.

-Perriot J, Chambonnet E, Eschalier A. (2010). Les effets indésirables des antituberculeux ; prise en charge. *Rev. Mal. Resp.* 28(4) : 542-555.

- Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM.(1995).**The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis. *Clin.Chim.Acta.* 235(2): 207-219.
- Pereira D, Valentão P, José A. Pereira J, Andrade PB. (2009)** Phenolics: From Chemistry to Biology.*Molecules.14:*2202-2211.
- Perriot J, Chambonnet É, Eschalier A. (2011).** Les effets indésirables des antituberculeux ; prise en charge.*Rev.Mal.Resp* : 542-555.
- Puoci F, Morelli C, Cirillo G, Curcio M, Parisi OI, Maris P, Sisci D, Picci N.(2012).**Anticanceractivity of a quercetin-based polymertowards HeLa cancer cells.*Anticancer.Res:*32(7):2843-2847.
- Qader, G I, Aziz, R, Ahmed Z, Abdullah Z, Hussain, S. A. (2014).** Protective effects of quercetin against isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity in rats. *Amer. J. Pharm. Sci.*2 (3): 56-60.
- Ramos FA1, Takaishi Y, Shirotori M, Kawaguchi Y, Tsuchiya K, Shibata H, Higuti T, Tadokoro T, Takeuchi M.(2006).** Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products from yellow onion skin. *J. Agric. Food.Chem.* 54(10):3551-3557.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. (1996).**Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free.Radic.Biol. Med.* 20(7):933-56.
- Bouchentouf R, El jastimi S, Benjelloun A. (2011).**Hépatotoxicité des antituberculeux : épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir. *J. Afr. HépatGastro.* 5(3): 168-173.
- Sahnoun Z, Jamoussi K, Zeghal KM. (1997).**Free radicals and antioxidants: human physiology, pathology and therapeutic aspects. *Thérapie;* 52(4):251-70.
- Sahnoun Z, Jamoussi K, Zeghal KM. (1998).** Free radicals and antioxidants: physiology, human pathology and therapeutic aspects .*Thérapie.*53 (4):315-39.
- Gassem H.(2015).** Services de la Direction de Santé Publique : Célébration de la journée mondiale contre la Tuberculose.Guelam, 2010.<http://www.djazairress.com>.

-Scambia G, Ranelletti FO, Benedetti Panici P, Bonanno G, De Vincenzo R, Piantelli M, Mancuso S.(1990).Synergistic antiproliferative activity of quercetin and cisplatin on ovarian cancer cell growth. *Anticanc. Drugs*.1 (1):45-48.

-Hmamouche S, Nia L, Amro S, Zaid K, Marc S.(2007).Hépatotoxicité aux antituberculeux. *Rev. Mal.Resp.* 24(1):111-115.

-Joshi U, Amol S.Gadge, Priscilla D, Ragini S, Sudha S, Girjesh G. (2005).Anti-inflammatory, antioxidant and anticancer activity of Quercetin and its analogues. *Eur. J. Immunol.* 35: 584–592.

-Vargas AJ, Burd R, Hormesis Z. (2010).Pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. *Nut. Rev.*68 (7): 418-428.

-Wang J, Miao M, Zhang Y, Liu R, Li X, Cui Y, Qu L. (2015).Quercetin ameliorates liver injury induced with Tripterygium glycosides by reducing oxidative stress and inflammation. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*93 (6):427-33.

-Zhang M, Swarts SG, Yin L, Liu C, Tian Y, Cao Y, Swarts M. (2011).Antioxidant properties of quercetin. *Adv. Exp. Med. Biol.*701 :283-289.

Zhang Y, Yew WW. (2009). Mécanismes de la résistance aux médicaments chez *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Tuberc. Lung. Dis.* 13(11) : 1320–1330

Teixeira RLF, Lopes MQ, Suffys PN, Santos AR.(2013). Tuberculosis Pharmacogenetics: State of The Art. Licensee In Tech, USA: 107-125.

Kierszenbaum AL.(2006). Histologie et biologie cellulaire. De Boeck Supérieur, France : 56-58

Claiborne A. (1985). Catalase activity. In: Handbook of methods for oxygen radical research (R. A. Greenwald, Ed). Boca Raton, FL : 283-284.

Sotsuka T, Sasaki Y, Hirai S, Yamagishi F, Ueno K. (2011). Association of isoniazid-metabolizing enzyme genotypes and isoniazid-induced hepatotoxicity in tuberculosis patients. *In Vivo.* Sep-Oct; 25(5):803-12.

Kaplowitz N. (2004). Drug-induced liver injury *Clin. Infect. Dis.* 38(2):S44-48.

Sotsuka T, Sasaki Y, Hirai S, Yamagishi F, Ueno K.(2011). Association of isoniazid-metabolizing enzyme genotypes and isoniazid-induced hepatotoxicity in tuberculosis patients. *In Vivo*. 25(5):803-12

Grotto D. (2009).Importance of the lipid peroxidation biomarkers.).*Quím. Nova* .32(1): 169-174.

Ellman GL. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*.82 (1):70-77.

Thème : Effet préventif de la Quercétine vis-à-vis de l'hépatotoxicité induite par la rifampicine et l'isoniazide

Nature du diplôme : Master.

Domaine : science de la nature et de la vie.

Mention : Toxicologie et Santé.

Résumé :

L'hépatotoxicité est un effet indésirable bien connu au cours du traitement par les antituberculeux notamment la combinaison de la rifampicine (RMP) et l'isoniazide (INH). La prévention de cette pathologie nécessite l'intervention des molécules anti oxydantes telles que les flavonoïdes. Le but de cette étude est d'évaluer l'effet hépatoprotecteur de la quercétine vis-à-vis la toxicité par les antituberculeux (INH+RMP). Les rats mâles adultes ont été gavés par la quercétine (200 mg/kg) durant une période de 15 jours, la toxicité est induite par l'administration simultanée de la INH (90 mg/kg) et RMP (250 mg/kg). Nos résultats montrent que la quercétine une amélioration de la fonction hépatique se manifestant par la réduction de l'activité des AST, ALT et PAL plasmatique et l'augmentation de l'albuminémie. Cette prévention est associée par la restauration du GSH, CAT et l'inhibition du MDA en tant qu'indicateur de la peroxydation lipidique. Cette prévention a été également confirmée par l'étude histologique qui a montré une maintenance de l'architecture du tissu hépatique par la quercétine.

L'efficacité de la quercétine fournit la preuve que ce composé bioactif peut être développé comme un nouveau produit pour la prévention contre la toxicité hépatique à l'avenir.

Mots clés : Isoniazide, Rifampicine, Hépatotoxicité, Quercétine, Protection.

Lieu de travail : laboratoire de Biologie Animale à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Djemila ZAAMA (Professeur à UFM Constantine 1).

Rapporteur : Nacera BAALI (MAA à UFM Constantine 1).

Examineurs : Youcef ZOUAGHI (MCB à UFM Constantine 1).

Nedjewa DEHELI (MAA à UFM Constantine 1).

Année universitaire

2014 - 2015