



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : **Biologie Animale.** قسم : **بيولوجيا 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*

Intitulé :

L'effet préventif de la vitamine E vis-à-vis l'hématotoxicité induite par le paracétamol

Présenté et soutenu par : **DRASSEN KENZA**

Le 01 /07 /2017

BAGHI AMINA

BOUHENNACHE NACIRA

Jury d'évaluation :

Président du jury : ZAAMA DJ (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : BOULKANDOUL R (MA- UFM Constantine).

Examineurs : AMRANI A (MC- UFM Constantine).

TOUR H (MA- UFM Constantine).

*Année universitaire
2016- 2017*

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier « الله » le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

*Un remerciement très chaleureux pour notre encadrant monsieur **BOULKANDOUK RAMZI** Maître-assistant à l'Université des Frères Mentouri Constantine ,*

*Nous remercions l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : Mme **ZAMA DJ** (Président), Mme **AMRAM A** (Examinatrice) et Mme **TOUR H** (Examinatrice).*

Aussi, nous remercions l'ensemble des enseignants du département de biologie animal.

Enfin, nous remercions toutes personnes, qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

MERCI

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail à :

A mes chers parents symbole de courage et de patience

Ma mère « Rabiâa », Mon père « Makhtare »,

Mon frères : « Zaki » .

Mes sœurs : « Kenga », « Khadija », « Sofya », » ,

A toute la famille « Baghi » et « Bouhlassa »

A tous mes amis d'étude et mes amis les

plus proches Ahlem, Nihad,

Souhyla, Zahia... ..

A toutes les personnes qui

m'a encouragé pour continue

ce travail.

AMINA

Dédicace

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la mémoire de mon père : Le destin ne nous a pas laissé le temps de jouir ce bonheur ensemble et de vous exprimer tout mon amour et mon affection. Que Dieu tout puissant ait vos âmes et vous garde dans son saint Paradis

A ma mère pour leur sacrifices de tous les instants sa patience sans limite et l'éducation qu'elle ma donnée.

Je lui dit merci mille fois.

A mes adorables sœurs et frères : Nauwal, Mouna, Salma, Issam et Hilal et le petit Mouhamed Abde Elmouine

Pour votre amour et votre soutien.

À mes chers binômes Kenza et Amina

À mes amies : Amel, Zineb, Halla, Souade, Samah

À mes chers collègues : Meriem et Imane

À tous ceux qui m'aiment et qui ont cru en moi...

nacira

D2DJEACES

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la mémoire de chère ma mère : Le destin ne nous a pas laissé le temps de jouir ce bonheur ensemble et de vous exprimer tout mon amour et mon affection. Que Dieu tout puissant ait vos âmes et vous garde dans son saint Paradis

A ma mère pour leur sacrifices de tous les instants sa patience sans limite et l'éducation qu'elle ma donnée.

Je lui dit merci mille fois.

A mon père Abd - el karim : aucune didicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

A mes adorables sœurs et frères : Fatima el -zohra, Monira

Dallel, Abd- el hak (Aridj et Oumaima), abd - el malek, Ibrahim , abd- el aziz .

Pour votre amour et votre soutien.

À mes chers binômes Nassira et Amina

À mes amies : Amel, Zineb, Halla, Souade, Samah, Amira

À mes chers collègues : Meriem et Imane

*À tous ceux qui m'aiment et
qui ont cru en moi...*

KENZA

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AGP	Acides gras polyinsaturés
AINS	Anti inflammatoires non stéroïdiennes
APAP	N-acétyl-para-aminophénol
BPS	Baffer phosphate saline
Ca⁺	Calcium
CAT	Catalase
CDNB	Chlorodinitrobenzene
COX	Cyclo oxygénases
Cu⁺	Ions cuivreux
DO	Densités optiques
EOA	Espèces Oxygénées Activées
ERN	Espèces réactives de l'azote
ERO	Espèces réactive de l'oxygène
Fe	Fère
Fe²⁺	Ions ferreux
FNS	Formule de numération sanguine
GB	Globule blanc
GPX	Glutathion peroxydase
GR	Globules rouge
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion Oxydé

GST	Glutathion S transférase
H⁺	Proton
HCT	Hématocrite.
HGB	Hémoglobine.
H₂O	Eau
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HNO₂	Acide nitreux
HOCl	L'acide hypochlorique
HOO[•]	Hydroperoxyde
LDL	Low densite lipoprotéine
LMC	leucémies myéloïdes chroniques
LIN	Limite inférieure à la normale
MDA	Malonyldialdéhyde
NAPAP	N-acétyl-para-aminophénol.
NAPQI	N-acétyl para-quinone-imin
N₂O₄	Tétraoxyde diazote
NO	Monoxyde d'azote
NO[•]	Radical oxyde nitrique
NO₂[•]	Dioxyde d'azote
O₂	Dioxygène
O₂^{-•}	L'anion superoxyde
O₃	L'ozone
1O₂	L'oxygène Singulet
•OH	Hydroxyle radical
ONOO⁻	Peroxynitrite
PLT	Plaquette
R[•]	Radical

RL	Radicaux libres
RO[•]	Alkoxyde
ROO[•]	Peroxy radical
RONs	Réactive Oxygène and Nitrogène Species
ROS	Réactive Oxygène Species
SOD	Super Oxyde Dismutase
TCA	Acide tio-barbiturique
UV	Ultra-violet
Vit A	Vitamine A
Vit C	Vitamine C
Vit E	Vitamine E

Liste des figures		Page
Figure 01	Les différents composants de sang	01
Figure 02	Le paracétamol sous forme semi-développée	10
Figure 03	Schéma de la réaction d'acylation du para- aminophénol en paracétamol	10
Figure 04	Schéma de métabolisation et d'élimination du paracétamol	12
Figure 05	La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	16
Figure 06	Peroxydation des acides gras polyinsaturés	19
Figure 07	Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant	20
Figure 08	Mécanisme d'action de la GPx	21
Figure 09	Structure des huit formes naturelles de vitamine E	23
Figure 10	Régénération de la vitamine E	24
Figure 11	Nombre des globules rouges (10^{12} /L) dans lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine E(V)	31
Figure 12	Variation du nombre des globules blancs 10^9 /L dans lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine E(v)	31
Figure 13	Variation du nombre des plaquettes (10^9 /L) dans lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine E(V)	32
Figure 14	Taux de l'hémoglobine (g/dl) dans le lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine E(V)	32
Figure 15	pourcentage de l'hématocrite (%) chez les rats témoins (T) et toxiques par Le paracétamol (P) et traités par vitamine E (V)	33
Figure 16	Teneur de GSH dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traité par vitamine E.	33
Figure 17	Teneurs de GPX dans l'hémolysa des rats témoins et toxique par paracétamol et traité par vitamine E	34
Figure 18	Teneur de GST dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traités par vitamine E.	35

Figure 19	Teneurs de CAT dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traité par vitamine E	35
Figure 20	Teneur de SOD dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traités par vitamine E	36
Figure 21	Teneur plasmatique du MDA ($\mu\text{mol/l}$), dans lot témoins et lot paracétamol et lot vitamine E.	36

Liste des tableaux		Page
Tableau 01	les grades d'hématotoxicité	06
Tableau 02	Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques	17
Tableau 03	Les principales sources de vitamine E	24

SOMMAIRE

Remercîment

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Chapitre 01 : Hématotoxicité induit par le paracétamol

I- le sang04

I-1Définition.....04

I-2Les compositions de sang.....04

I-3 Le rôle physiologique.....05

II-Hématotoxicité.....05

II-1 Définition.....05

II-2Mécanisme d'action toxique.....06

II-2-1 Myelotoxicilte..... 06

II-2-2 Toxicité Erythrocytaire.....07

II-2-3 Toxicité touchant les globules08

II-2-4 Toxicité plaquettaire.....08

II-3 Les principaux toxiques hématologique.....08

III - Le paracétamol.....10

1-Généralité..... 10

2- La structure.....11

3- Synthèse.....	12
III-1 Pharmacocinétique	12
III -2 Hématotoxicité de paracétamol	16
III - 2- 1 Oxydation des hématies.....	16
III -2- 2 Oxydation des membranes érythrocytaires	17
III -3- 3 Oxydation d'hémoglobine.....	17

Chapitre 02 : Stress oxydant

I -Stress oxydant.....	19
I-1Définition.....	19
I-2 les espèces réactives.....	19
I- 2-1 Les espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS).....	19
I- 2-2 Les espèces réactives azotées (ERA ou RNS)	20
I-3 Origine des radicaux libres.....	21
I-4 Conséquences de stress oxydant.....	21
I-5 Système de défense antioxydants.....	23
I-5-1 Antioxydants enzymatiques	23
I-5-2 Système non enzymatique.....	26
5-2-5 La vitamine E.....	27
I-6 Structure chimique.....	27
I-7 SOURCES.....	29
I-8 Le rôle antioxydant de vitamine E	30

PARTIE EXPERIMENTALE

Matérielle et méthode

I. traitement des rats.....	32
II. prélèvement sanguine.....	32
III-Dosage des paramètres hématologiques	33
IV- Dosages des paramètres du stress oxydant.....	33
IV -1-Détermination du taux de glutathion réduit (GSH).....	33
IV-2 -Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase(GPX)	34
IV-3- Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST).....	34
IV-4-Dosage de l'activité de la catalase (CAT).....	34
IV-5-Dosage de l'activité de Peroxyde Dusmitase(SOD)	35
IV-6 Détermination de malondialdéhyde (MDA).....	35
Analyse statistique.....	35

Résultats et interprétation

I- Les paramètres hématologiques.....	36
II-Les paramètres de stress oxydant.....	39
Discussion.....	43
Conclusion.....	47

Résumé

Références

INDREDUCTION :

Le sang est un tissu fluide circulant dans les vaisseaux il comporte deux phases une phase liquide (le plasma) une phase solide (les éléments figurés qui sont les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes).

Il assure plusieurs fonctions comme le transport de l'oxygène, défense contre les antigènes et arrêt des hémorragies lors d'une blessure. [1]

L'hématotoxicité manifesté leur activité vis-à-vis les éléments figurés de sang [2], elle traduit par l'atteint d'une ou plusieurs des lignées cellulaires : globules rouges (anémie), granulocyte (granulopénie), lymphocytes (lymphopénie), plaquettes (thrombopénie) ou toutes les lignes (aplasie médullaire) [3]. Cette toxicité peut être créée par différents agents comme : monoxyde de carbone, éthers de glycol, Benzène plombe, médicamenteuse. [2, 4, 5, 6]

Parmi les médicaments qui conduisent à l'hématotoxicité on sélection le paracétamol ou acétaminophène (N-acétyl-para-aminophénol) qui est un médicament analgésique et antipyrétique [7] contenu dans de nombreuses préparations pharmaceutiques pour le traitement des douleur [8], est issu de la réaction entre un para-aminophénol 4 hydroxyaniline et un anhydride acétique, [9] métabolisé au niveau hépatique en métabolite inactif (glucuro et sulfo conjugués) et métabolite réactif (NAPQI). A dose thérapeutique le paracétamol est un anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des inhibiteurs des cyclo-oxygénases, qui transforment l'acide arachidonique en prostaglandines et thromboxanes [10] et a dose élevé, le paracétamol donnée un métabolite potentiellement toxique : le N-acétyl parabenzo quinone imine (NAPQI), qui est électrophile, très réactif, et à des propriétés de radical libre et la toxicité de paracétamol liée a ce métabolite. [11, 12]

Le NAPQI est conjugué en glutathion érythrocytaire grâce a la glutathion -S-transférase est excrété sous forme inactif a dos thérapeutique [13], en cas de sur dosage. Les voies de biotransformation sont saturée et le NAPQI produite en quantité excessive et induit un stress oxydatif [14] qui agit sur les hématies et provoque l'oxydation des membranes et des l'hémoglobine. (mécanisme d'action de paracétamol) [15].

Le stress oxydatif définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydant – antioxydant, Il se développe lorsque les radicaux libres sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme[16].ces radicaux répartis en deux grandes familles les espèces réactives oxygénées et les espèces réactives azotées [17] ,elles provoquent plusieurs dommages au niveau cellulaire comme l'altérations de l'ADN, altération lipidique et altérations des protéines [18 ,19] .

Pour neutralisé ces radicaux libres l'organisme développé un système de défense antioxydant qui divise en deux grands catégories système antioxydant enzymatique (SOD, CAT, GPX, GST) et système antioxydant non enzymatique (GSH, les vitamines A et C, les Polyphénols) [20].

Parmi les antioxydants non enzymatiques en cite la vitamine E qui est une substance organique nécessaire à l'organisme. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme[21]. Elle assure la protection des membranes cellulaires et prévient le durcissement des cellules. Elle interrompt le développement de la chaîne de libération des radicaux libres. Elle prévient notamment l'oxydation des lipoprotéines, est exerce une action stabilisatrice des membranes cellulaires, elle pourrait aussi jouer un rôle dans la régulation de la synthèse de l'hème [22].

Dans notre étude nous somme intéressées de savoir quelle est l'effet préventif de vitamine E vis-à-vis l'hématotoxicité induit par le paracétamol ?



Chapitre 01 :

Hématotoxicité induit par paracétamol

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

I- le sang :

I-1- Définition :

Le sang est un tissu fluide circulant dans les vaisseaux, d'odeur fade et de saveur salée.[1]

I-2 -Les compositions de sang :

Le sang comporte deux phases :

- ❖ -une phase liquide : le plasma
- ❖ -une phase solide : l'élément figurés qui sont les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes.

Ces deux phases peuvent être séparées in vitro par centrifugation du sang veineux recueilli sur anticoagulant, on obtient une colonne de globules rouges, surmontée d'une bande mince blanchâtre contenant les globules blancs et les plaquettes et au-dessus le plasma [23].

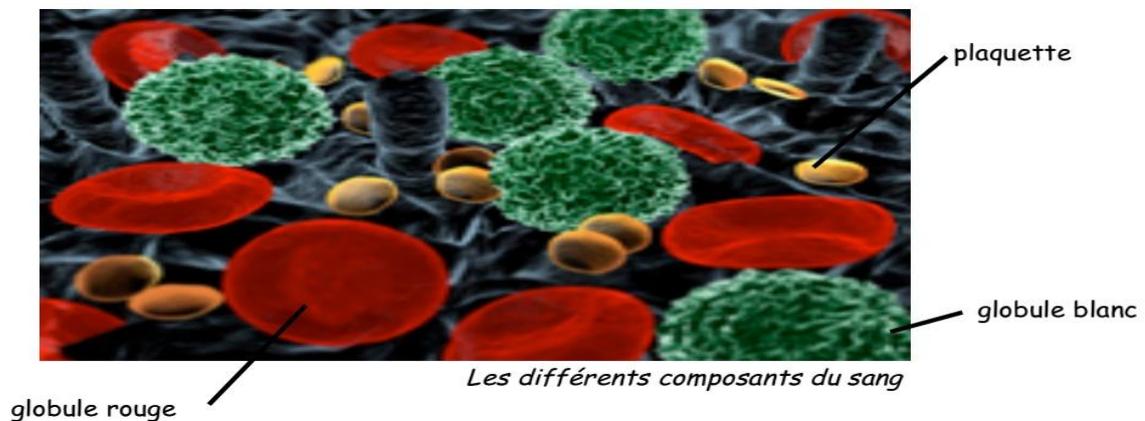


Figure 1 : les différents composants de sang

- **Le plasma** : contient de l'eau, des protéines, des électrolytes et les facteurs de la coagulation [1].
- **Les éléments figurés** :

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

A- Les globules rouges (hématies) : sont des cellules dépourvues de noyau qui contiennent l'hémoglobine protéine spécialisée dans le transport de l'oxygène. La quantité de globules rouges peut être évaluée grâce à trois paramètres :

- ✓ la numération des globules rouges par mm^3 .
- ✓ le taux d'hématocrite : exprimé en pourcentage, qui est le volume occupé par les globules rouges par rapport au sang total.
- ✓ le taux d'hémoglobine exprimé grammes pour 100 ml. [1 ,24]

B- Les globules blancs (leucocytes) : sont des cellules nucléées, spécialisées dans la réaction de défense de l'organisme. Ils sont trois types :

- **les polynucléaires ou granuleux :** représentent 50% a 70% des globules blancs ; ils assurent la défense immédiate contre les bactéries par phagocytose
- **les lymphocytes :** représentent 20 a 40 % des globules blancs ; ils assurent la défense contre des antigènes déjà connus.
- **les monocytes :** représentent 6 a 8% des globules blancs ; ils participent à la réaction de défense en aidant à l'identification de l'antigène. [1,23 ,25].

C- Les plaquettes : sont des fragments de cytoplasmes, elles ont un rôle prépondérant dans l'hémostase primaire. [26]

I-3 Le rôle physiologique :

Le sang assure plusieurs fonctions :

-transport de l'oxygène aux tissus grâce à l'hémoglobine contenue dans les globules rouges.

-défense de l'organisme contre les antigènes grâce aux globules blancs.

- arrêt des hémorragies lors d'une blessure grâce aux plaquettes et aux facteurs de la coagulation. [1]

II-Hématotoxicité:

II-1 définition :

Manifeste leur activité vis-à-vis de l'hémoglobine des éléments figurés du sang ou des facteurs de la coagulation. [2]

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

Cela se traduit par l'atteinte d'une ou plusieurs des lignées cellulaires : globules rouges (anémie), granulocyte (granulopénie), lymphocytes (lymphopénie), plaquettes (thrombopénie) ou toutes les lignes (aplasie médullaire). [3]

Selon les tables de toxicité de l'OMS, le grade 1 montre un trouble léger, le grade 2 un trouble important mais ne perturbant pas la vie quotidienne, le grade 3 requiert un traitement, le grade 4 est sévère, nécessitant un traitement énergique et une hospitalisation.

-Echelle OMS :

Toxicité	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Hémoglobine (Hb) VN = 13 à 17 g/dl	> 11	<LIN-10.0g /dl	<8.0-10g/dl	<6.5- 8.0g/dl	<6.5g/dl
Leucocytes VN = 4000 à 10 000	>4000	<LIN- 3000/mm ³	<2000-3000/mm ³	<1000- 2000/mm ³	<1000/m m ³
Polynucléaires neutrophiles VN = 40 à 80%	>2000	<LIN- 1500 /mm ³	<1000- 1500 /mm ³	<500- 1000/mm ³	<500/mm m ³
Plaquettes VN = 15 000 à 400 000	>100.000	<LIN- 75000/mm ³	<50000- 75000/mm ³	25000- 50000/mm ³	<25000/ mm ³
Hémorragies	Absence	Pétéchies	Modérées	Moyenne	Importantes

LIN : Limite inférieure à la normale

Tableau 1 : les grades d'hématotoxicité [27]

II-2-Mécanisme d'action toxique

II-2-1 MYELOTOTOXICITE

- Destruction des cellules souches hématopoïétiques.
- Troubles de la prolifération et/ou de la différenciation cellulaire.[3]

➤ **Atteinte d'une seule lignée :**

1-Anémie : diminution du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine[28].

-**Anémie sidérolitique :** accumulation de fer dans la mitochondrie, sidéroblastes <<en couronne>> provoque un défaut de synthèse de l'hème qui induit un avortement intra médullaire des érythroblastes.

-**Anémie normochrom régénérative :** diminution des érythrocytes dans les mêmes proportions, suppression des érythroblastes.[3]

2-Leucopénie : diminution du nombre des globules blancs ou leucocytes, réduit la résistance de l'organisme aux infections. Agranulocytose (PN<500/mm³), (lymphocytes < 1500

3-Thrombopénie : diminution du nombre des plaquettes sanguines (plaquettes <150G/L ou 150 000 mm³), augmente le risque d'hémorragies (toujours être vérifiée par un frottis sanguin à la recherche d'agrégats EDTA dépendants).[29]

➤ **Atteinte plusieurs lignées :**

Inhibition de la synthèse de l'ADN résulte une perturbation de la division cellulaire, accumulation de cellules souches de grande taille et cytotoxicité qui atteint les cellules souches totipotentes ou pluripotentes.

•**Aplasie :**

-par cytotoxicité directe (mort par apoptose).

-par formation de métabolites toxiques et cytotoxicité. [3]

II-2-2 TOXICITE ERYTHROCYTAIRE

❖ **Hémolyse intra vasculaire d'origine immunologique :**

-Réversible à l'arrêt du traitement.

-Formation d'AC anti-érythrocytaire.

1-Hémolyse par anticorps anti-molécules médicamenteuses ou chimiques :

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

Liaison covalente entre le médicament et les protéines de surface de l'érythrocyte conduire à la formation d'Anticorps dirigés contre la complexe et leur destruction ce la provoque une hémolyse (hypersensibilité de type 2).

2-Hémolyse par complexe immun :

Formation du complexe (molécule-anticorps) qui se fixe à l'érythrocyte et induit une réaction d'hypersensibilité de type 2.

3- Anémie hémolytique auto-immune :

De Formation d'auto-AC de type IgG dirigés contre l'antigène de la membrane des érythrocytes.

❖ Hémolyse oxydative :

Lipoperoxydation de la membrane cellulaire, oxydation des protéines membranaires et destruction de la membrane de l'érythrocyte [3 , 30].

II-2-3 TOXICITE TOUCHANT LES GLOBULES BLANCS

- Destruction d'origine immunologique mécanisme semblables à ceux décrits pour érythrocytes.
- Pseudoneutropénie : adhérence des granulocytes à l'endothélium vasculaire (margination). Le pool de cellules circulantes diminue mais le nombre de cellules sanguines reste le même.
- inhibition de l'adhérence, du chimiotactisme et de la phagocytose.

II-2-4 TOXICITE PLAQUETTAIRE :

- Dégradation d'origine immunologique.
- Inhibition de l'adhérence, de l'agrégation des plaquettes. [3]

II-3 Les principaux toxiques hématologique :

Le sang peut être intoxiqué par de nombreux composé :

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

-Hématotoxicité de monoxyde de carbone : le monoxyde de carbone provoque l'intoxication en se fixe sur les globules rouges (via la respiration et les poumons) et empêchant ces globules de véhiculer correctement l'oxygène dans l'organisme [2].

-Hématotoxicité des éthers de glycol : l'intoxication des éthers de glycol a été largement étudiée dans des modèles animaux ou ont été principalement observées : hémolyse, déplétion lymphocytaire responsable d'immunosuppression, et toxicité sur les progéniteurs myéloïdes de la moelle osseuse.

Une augmentation du volume des globules rouges, se traduisant par une augmentation du volume globulaire moyen (YGM). Elle est associée a des déformations des hématies : stomatocytose, sphérocytose, puis aspects de fragmentation cellulaire (schizocyte, ghoste cells) [4].

- Hématotoxicité de Benzène :

La toxicité du benzène sur le système hématopoïétique chez l'homme Comme dans des modèles animaux est à présent reconnue. Ce polluant est aussi responsable de l'apparition de leucémies, en particulier des leucémies myéloïdes chroniques (LMC)

Plusieurs arguments montrent que les cellules progénitrices de la moelle osseuse sont les cibles privilégiées du benzène et expliquent sa toxicité hématologique. [5]

-Hématotoxicité de plombe :

-Troubles de la synthèse de l'hème : Le plomb interfère avec la synthèse de l'hème en inhibant la déshydratase de l'acide delta-aminolévulinique (ALAD), l'hème synthétase et, à un moindre degré, la coproporphyrinogène décarboxylase

-Anémie : L'anémie de l'intoxication saturnine résulte non seulement d'une inhibition de la synthèse de l'hème, mais encore : d'une toxicité membranaire directe et d'une déplétion en glutathion des hématies, entraînant une hyperhémolyse ; d'une inhibition de la synthèse de la globine, du transport du fer et de la production d'érythropoïétine[31]

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

-Hématotoxicité médicamenteuse :

La gravité d'une intoxication médicamenteuse ou substances illicites est définie comme telle, lorsqu'une surveillance rapprochée s'avère indispensable, aux vues de la quantité importante d'une ou plusieurs substances auxquelles le sujet fut exposé, de la dose supposée ingérée, de la formulation, des symptômes manifestés ; ou du terrain sous-jacent [6].

Les complications hématologiques de l'usage des médicaments sont parmi les plus graves. Elles peuvent s'exercer sur trois lignes : [32]

❖ **la lignée rouge :**

- **Anémie** : isoniazide, chloramphénicol, AINS
- **-Hémolyse par mécanisme immunologique** : pénicilline, céphalosporines (HS type II), méthyl-dopa (mécanisme auto-immun)
- **-Hémolyse par stress oxydatif** : sulfazalazine, primaquine

❖ **Les granulocytes :**

- **Neutropénie** : La phénylbutazone, le pyramidons, le lévamisol, les antithyroïdiens, les sulfamides
- **Pseudoneutropénie** : dextran, glucocorticoïdes, clozapine, chimiothérapies

❖ **les plaquettes :**

- **Thrombocytopénie** : l'héparine, les anti-inflammatoires, quinine, les sulfamidés, les antidiabétiques oraux.
 - **Atteinte plaquettaires par mécanisme immunologie** : quinidine, rifampicin, céphalosporine, pénicilline.
 - **Inhibition de l'agrégation plaquettaire** : ticarcilline, pipéracilline à fortes dose.
- [3 ,32]

Parmi les médicaments qui induisent l'hématotoxicité en trouve le paracétamol

III - Le paracétamol :

1-Généralité :

Le paracétamol ou acétaminophène (N-acétyl-para-aminophénol) est un médicament analgésique et antipyrétique (par sa capacité à bloquer l'action des pyrogènes endogènes sur

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

le centre de la thermorégulation hypothalamique) [7,33] contenu dans de nombreuses préparations pharmaceutiques pour le traitement des douleurs, maux de tête, rhumes ou gripes. [8,34] C'est aussi un métabolite de l'acétanilide et de la phénacétine abandonnées à cause de leur trop grande toxicité. [35] Contrairement aux AINS, il cause peu d'irritation et d'ulcération gastrique et n'interfère pas avec l'adhésion ou l'agrégation plaquettaire. Il est donc largement utilisé en médecine humaine. [36,37]

2- La structure :

Acétaminophénol La molécule N- acétyl-*p*-aminophénol a donné deux noms « le Paracétamol » (para-acétyl-amino-phénol) et « *Acétaminophène* » (N- acétyl-para -aminophénol).

La formule brute du paracétamol est C₈H₉NO₂, sa formule développée le p-Acétylaminophénol, p-est présentée ci-dessous. On utilise également sa prodrogue, le proparacétamol en perfusion.

Chimiquement, le paracétamol est désigné sous le terme de 1-hydroxy 4-acétamidobenzène. Il est également désigné par d'autres noms, tous désignant la même molécule : N-(4-hydroxyphényl)-acétamide, N-acétyl-para-aminophénol (en abrégé NAPAP ou APAP), acétaminophénol, phydroxyacétanilide, 4'-hydroxy- acétanilide, acétaminophène, N-paraacétyl-aminophénol.

Le paracétamol est un aminophénol. Sur le noyau benzénique de la molécule se substitue un groupement hydroxyle et un groupement amide en position *para*. [38,39,40]

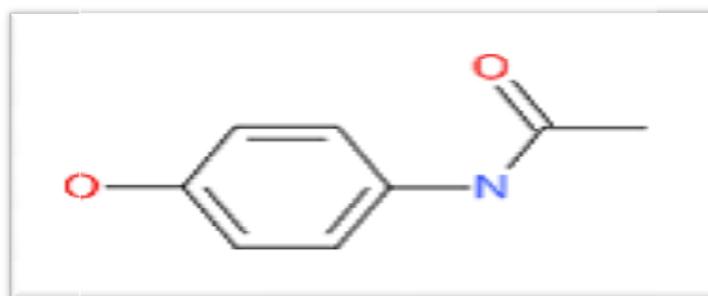


Figure 2 : Le paracétamol sous forme semi-développée

3- Synthèse :

Le paracétamol est issu de la réaction entre un para-aminophénol 4 hydroxyaniline et un anhydride acétique (figure3) [9]

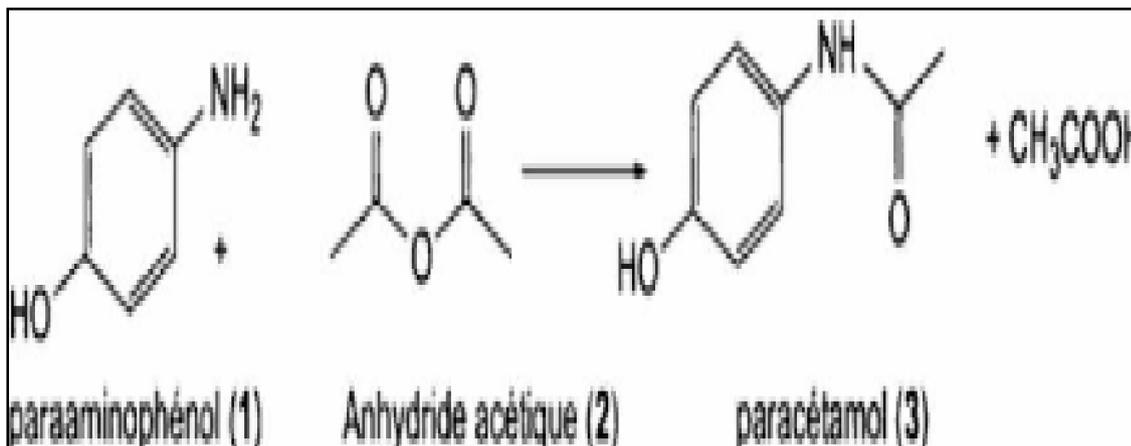


Figure 3: Schéma de la réaction d'acylation du para- aminophénol en paracétamol [41]

III -1 Pharmacocinétique :

1 - Absorption :

La substance active est rapidement absorbée à 90-98% au niveau de l'intestin grêle. Le pic plasmatique est atteint en 30 à 60 min après l'ingestion [42,43].

L'absorption du paracétamol est diminuée avec la prise concomitante du bol alimentaire. La forme galénique intervient également dans l'absorption : les formes effervescentes et lyophilisées vont augmenter la vitesse d'absorption [44].

2 -Distribution :

La concentration plasmatique est maximale 1h à 1h30 après la prise orale de comprimés contre moins de 30 min pour la forme effervescente. Le temps de demi-vie plasmatique est rapide de 2h à 2h30 aux doses thérapeutiques .La demi-vie augmente lors d'intoxication au paracétamol avec une concentration maximale atteinte 4h après l'ingestion [45 ,46 ,47]

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

La liaison aux protéines plasmatiques est relativement faible de 10 à 25% à des concentrations thérapeutiques et est de 8 à 43 % à des concentrations toxiques. [48].

3 -Métabolisme :

Aux doses thérapeutiques habituelles, 90% du paracétamol subit une métabolisation hépatique au niveau du cytosol des hépatocytes [49]. Cette conjugaison s'effectue sur le groupement OH phénolique et mobilise l'acide glucursulfoconjugués non toxiques qui seront éliminés dans les urines. Les 10% restant sont métabolisés par les cytochromes P450 (CYP2E1 et CYP3A4) en un intermédiaire électrophile fortement réactif, le N-acétyl-p-benzo-quinone imine (NAPQI) .En conditions normales d'utilisation, ce dernier est neutralisé par conjugaison avec le glutathion et rapidement inactivé en cystéine non toxique et en métabolite de l'acide mercapturique [50].

4 -Elimination :

90% des métabolites inactifs sont éliminés par voie rénale en 24 heures [48]. L'élimination des métabolites du paracétamol se fait par voie urinaire, à savoir : moins de 5% du paracétamol sous forme inchangée, 47% à 62% sous forme de métabolites glucuronides, 25% à 36% sous forme de métabolites sulfates, et 5 à 8% sous formes de cystéine et de métabolites de l'acide mercapturique [51]. La Demi-vie plasmique de paracétamol :2-3heures [52]

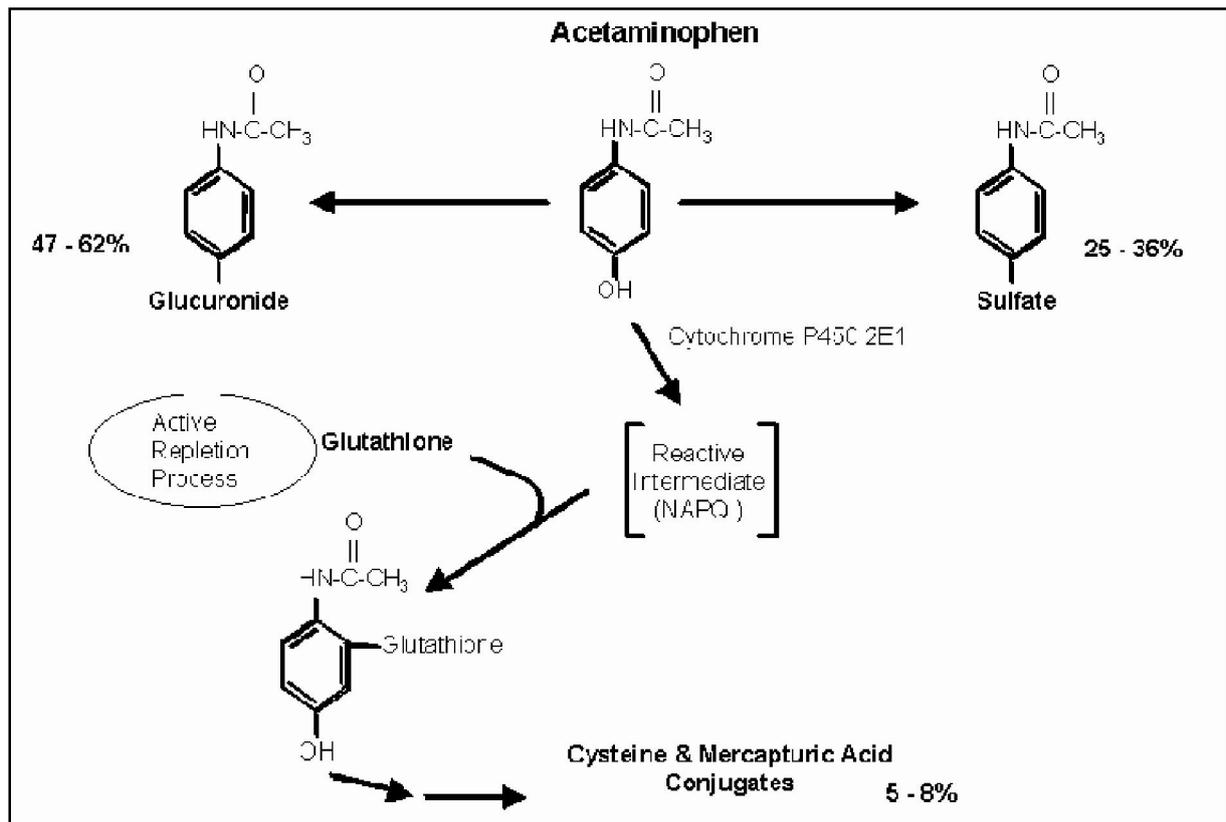


Figure 4 : Schéma de métabolisation et d'élimination du paracétamol [51]

5 -Intoxication aigue :

▪ Signes cliniques :

L'intoxication aiguë est asymptomatique dans les 24 premières heures, en dehors de quelques troubles digestifs (nausées, vomissements).

Les premiers signes de cytolysse hépatique apparaissent au bout de 120-36 heures. La cytolysse est maximale entre le 3 et 6 jour, avec, dans les cas graves : encéphalopathie hépatique, trouble de coagulation, ictère, hypoglycémie, hyperammoniémie.

6 -Diagnostic :

Il repose sur l'anamnèse et la détermination de la paracétamolémie par immunodosage ou technique chromatographique. L'ingestion de 1g se traduit par pic plasmatique de 10-25mg/l

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

au bout de 30à60 minutes (1mg /l). Le niveau de la paracétamolémie est bien corrélé au risque hépatotoxique, à condition que le prélèvement soit effectué au moins 4 heures après l'ingestion.

Lorsque la paracétamolémie se situe dans la zone d'hépatotoxicité ou lorsque le délai entre ingestion et prélèvement est inconnu, il est nécessaire de répéter le dosage pour déterminer la demi-vie d'élimination plasmatique du paracétamol. [53]

7 -Mécanisme d'action :

A - A dose thérapeutique :

Le paracétamol est un anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des inhibiteurs des cyclo-oxygénases, qui transforment l'acide arachidonique en prostaglandines et thromboxanes. Les AINS agissent sur les cyclo-oxygénases systémiques (COX-1 et COX-2) périphériques, et le paracétamol agit principalement sur la cyclo-oxygénase au niveau du système nerveux central ; l'inhibition sélective de la COX- 2 a été notamment évoquée [36]. La COX-1 (enzyme constitutive) est exprimée dans la plupart des tissus et responsable des effets indésirables, les plus importants sont l'inhibition de l'adhésivité plaquettaire, les ulcères gastriques et la diminution de la perfusion rénale. La COX-2 (enzyme inductible) est spécifique de l'inflammation et de la fièvre, elle est localisée dans les nerfs périphériques et la moelle épinière [10-54].

Les AINS, en provoquant l'inhibition non sélective de deux COX, entraînent une baisse des quantités des prostaglandines et des thromboxanes produites et donc une diminution de l'inflammation (action anti-inflammatoire), diminution de la fièvre (action antipyrétique), diminution de l'agrégation des plaquettes (action anti-agrégant plaquettaire) et diminution de la protection de l'estomac (action ulcérogène) [55].

B -A surdosage :

A dose élevé, le paracétamol donnée un métabolite potentiellement toxique : le N-acétyl parabenzo quinone imine (NAPQI), qui est électrophile, très réactif, et a donc des propriétés de radical libre. Ce métabolite est détoxifié par conjugaison au glutathion réduit (GSH) sous

Chapitre 1 :Hématotoxicité induite par le paracétamol

l'action catalytique d'une glutathion Stransférase(GST). Le NAPQI est transformé alors en acides mercapturiques non toxiques, solubles et facilement éliminés dans les urines [11, 12,56].

Le GSH consommé par le métabolite toxique est normalement régénéré par une synthèse cellulaire accrue [57]. L'excès en NAPQI cause un stress oxydatif [58]. . D'ailleurs en cas de surdosage massif, la voie accessoire prend de l'importance parce que la quantité de métabolite toxique produit dépasse les capacités de neutralisation par le glutathion. Les réserves hépatiques en glutathion réduit (GSH) s'épuisent rapidement. Le NAPQI se lie par covalence aux protéines hépatiques et forme des conjugués 3- (cystéine-S-yl)-paracétamol. Ces derniers sont libérés dans le sang après l'hépatocytolyse [57]

III -2 Hématotoxicité de paracétamol :

Les effets toxiques du paracétamol sont liés à la formation d'un métabolite électrophile réactif par les enzymes du système du cytochrome P450 oxydase microsomiale : la N-acétyl-para-benzoquinoneimine (NAPQI). Ce composé intermédiaire, formé par une voie mineure dans les conditions physiologiques (3-5% chez le chien), doit être détoxifié. [59, 60, 61].

La NAPQI est conjuguée au glutathion hépatique ou érythrocytaire, grâce à la glutathion-S-transférase ou spontanément sans l'intervention d'une enzyme, et excrétée sous forme inactive (acide mercapturique) dans l'urine. [7, 8, 13] Quand la dose est trop élevée, les voies de biotransformation sont saturées et la NAPQI est produite en quantité excessive. [7, 14, 15] Il induit un stress oxydatif ce dernier agit sur les hématies. [62]

III -1 Oxydation des hématies :

La toxicité hématologique d'origine oxydative sur les globules rouges survient plus fréquemment que les dommages oxydatifs dans d'autres tissus. En effet, par leur rôle de transporteur d'oxygène, les hématies sont continuellement exposées à des radicaux libres oxygénés. Le sang étant le vecteur des xénobiotiques oxydants après leur absorption, les hématies sont également soumises à un stress oxydatif. L'oxydation qui en résulte peut concerner l'hémoglobine ou la membrane érythrocytaire [15].

III -2 Oxydation des membranes érythrocytaires :

Les hématies ne peuvent pas synthétiser de nouvelles protéines. Lorsque les enzymes sont altérées avec le temps, les cellules âgées sont moins bien protégées et sont donc plus sensibles à l'oxydation que les cellules immatures. De plus, les globules rouges manquent de mitochondries pour générer l'énergie et les cofacteurs nécessaires aux réactions protectrices. [15,34, 63] Une déficience ou interférence avec l'une des voies métaboliques augmente également la sensibilité à l'oxydation. [64,65]. et lorsque es radicaux libres attaquent les membranes érythrocytaires provoque une peroxydation lipidique, et comme les globules rouges ne peuvent pas synthétiser leurs lipides membranaires, la paroi est définitivement endommagée et l'hémoglobine libérée ; ce phénomène est l'hémolyse péroxydative. [66].

III -3 Oxydation d'hémoglobine :

L'hémoglobine est une molécule tétramérique composée de l'association de 4 sous-unités de type $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ ou $\beta 2$ contenant du fer dans la porphyrine de l'hème, normalement sous forme réduite Fe^{2+} . [15,67] Elle doit rester à l'état réduit pour assurer sa fonction de transporteur d'oxygène, or elle est constamment oxydée à bas-bruit par l'oxygène qu'elle transporte, les radicaux super oxydes et les peroxydes d'hydrogène générés dans la cellule. [68,69] L'oxydation peut survenir en deux sites particulièrement sensibles : l'hème pour former la méthémoglobine et les groupements thiols des chaînes de globines pour former des corps de Heinz. [69].



Chapitre 02 :

STRESS OXYDANT

I -Stress oxydant

1-Définition :

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants. [16] Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non paires dans ses orbitales. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques [70].

De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne.

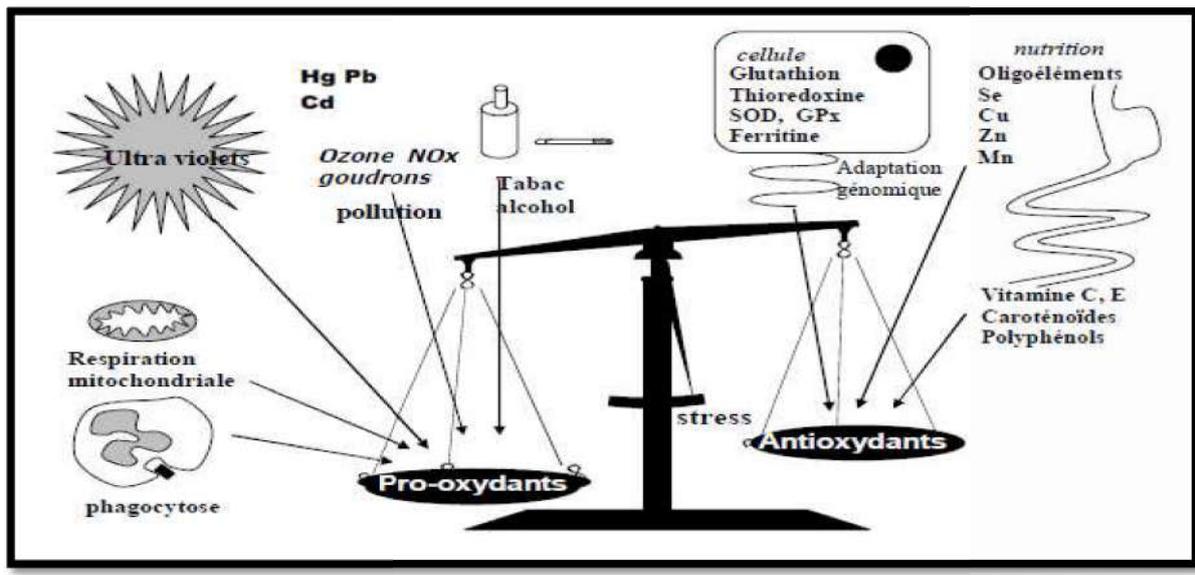


Figure 5: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants [71]

2-les espèces réactives :

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives :

2-1- Les espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS) :

Egalement désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de

l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les ERO incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène Singulet (1O_2) et l'ozone (O_3). [17]

2-2- Les espèces réactives azotées (ERA ou RNS) :

Ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO^{\bullet}). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Réactive Oxygène and Nitrogène Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires [72], que nous désignons par l'abréviation ERO

Espèces oxygénées actives	Abréviation	Espèces azotées actives	Abréviation
Radical(ion, anion) superoxyde	O_2	Oxyde Nitrique ou monoxyde d'azote	NO^{\bullet}
Radical hydroperoxyde	$HOO^{\bullet-}$	Dioxyde d'azote	NO_2^{\bullet}
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Peroxynitrite	$ONOO^-$
Singulet oxygène	1O_2	Acide nitreux	(HNO_2)
Ozone	O_3	Tétraoxyde diazote	(N_2O_4)

Tableau 02 : Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques.[17]

3-Origine des radicaux libres

3-1 Origine endogène :

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation :



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène Singulet ($^1\text{O}_2$) mais surtout de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$). La dismutation de $\text{O}_2^{\bullet-}$ va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis indirectement au radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) [68 ,69].

Les radicaux libres peuvent également être produits lors de la défense antibactérienne. Les cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles...) activées pendant la réaction inflammatoire, vont libérer un anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$. Ce phénomène est appelé la flambée respiratoire. Les radicaux superoxydes formés peuvent alors subir eux aussi des transformations donnant naissance aux dérivés oxygénés toxiques.

La régulation des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée (apoptose). Fait appelle aussi à la production endogènes des radicaux libre. [73,74]

3-2 Origine exogène :

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives

Les ROS peuvent être d'origine environnementale, comme les rayonnements UV, ou γ , les polluants atmosphériques, l'intoxication aux métaux lourdes, ou encore l'oxydation des composés de la fumée de cigarettes ou de l'alcool [19]

4-Conséquences de stress oxydant

Les cibles principales sont l'ADN et les lipides membranaires, et de manière moins importante les protéines.

4-1. Altérations de l'ADN:

Ces attaques sont essentiellement causées par le radical hydroxyle HO°. Elles sont différents types :

- modification de base azotée, en particulier la guanine qui peut être transformée en 8-hydroxy-2'-deoxyguanine (celle-ci peut constituer un marqueur du Stress Oxydant) ou encore la thymine en thymine glycol. Cela entraîne un non-appariement des bases, ou un mauvais appariement, ou encore un blocage de la réplication de l'ADN,
- Destruction de la liaison entre la base et le désoxyribose, à l'origine d'un site dépourvu de base ou « abasique », qui s'avère être non fonctionnel,
- destruction du désoxyribose, responsable d'une cassure de brin, létale pour la cellule.
- formation de pontages avec des protéines, ou avec des dérivés d'oxydation lipidique (tel que le MDA).

Ainsi nous constatons que ces dommages peuvent participer à une mutagénèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription /traduction, et enfin à une mort cellulaire. [18]

4-2. Altération lipidique :

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allylique facilement oxydable. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique. Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes successives : l'initiation, la propagation et la terminaison [75]

La phase d'initiation débute par une cassure homolytique d'une liaison sous l'arrachement d'un hydrogène (création d'un radical d'acide gras (R•) à partir d'un acide gras l'attaque des lipides concerne les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Dans le premier cas, l'oxydation des lipides ou des lipoprotéines circulants aboutit à la formation des LDL oxydés qui peuvent être captés par les macrophages et former des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome. Dans le second cas, l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et perturbe le fonctionnement des récepteurs et des transporteurs se trouvant à leur surface [19]

La peroxydation lipidique fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique [76].

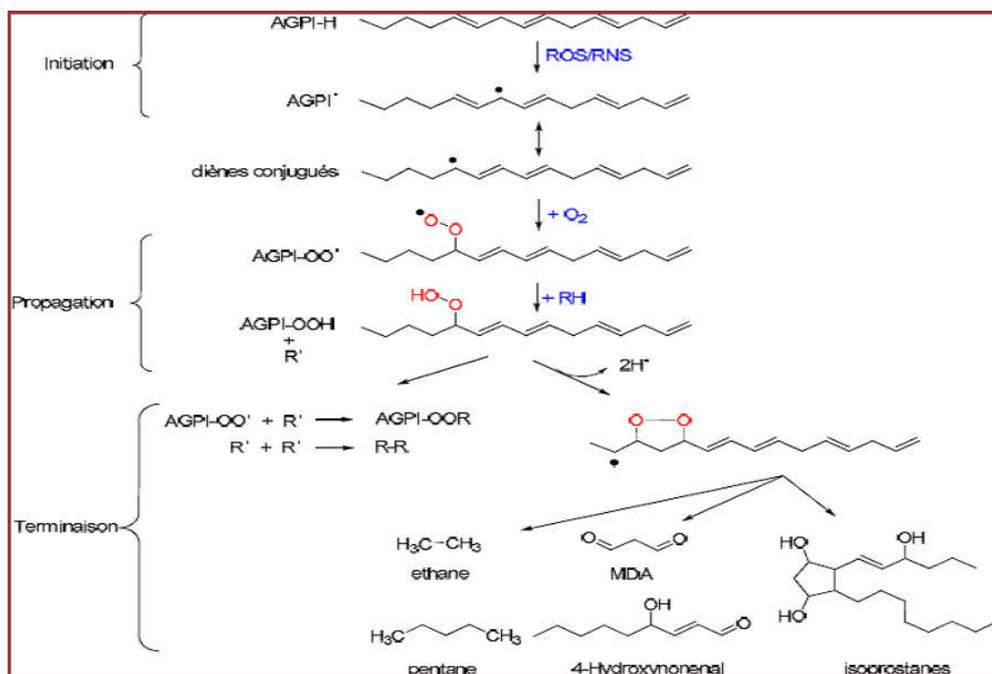


Figure 06: Peroxydation des acides gras polyinsaturés [77).

4-3 Altérations des protéines :

Les EOR provoquent une dénaturation des protéines : altération des groupements thiols, formation de ponts disulfures, accentuation du caractère hydrophobe d'où agrégation des protéines qui les rend plus résistantes à la protéolyse physiologique [18]. Cela concerne en particulier les enzymes cytosoliques et les protéines de transport qui perdent leurs fonctionnalités à la suite de ces modifications délétères.

5- Système de défense antioxydants :

Face à la production permanente des ERO, les organismes vivants ont développé des systèmes de défense qui les protègent des dommages liés aux formes radicalaires.

Ces molécules contrôlant cette production de défense sont désignées par le terme d'antioxydants et désignent « toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat » [20]. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine.

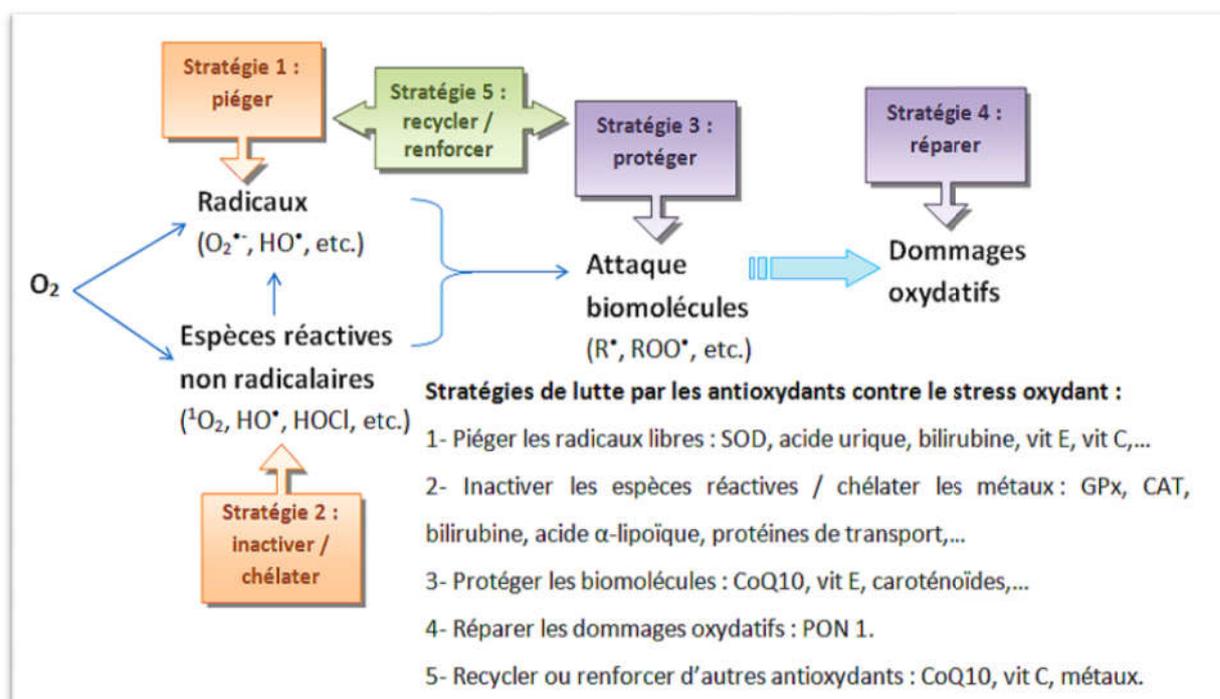


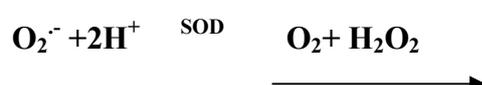
Figure7 : Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes et les conséquences du stress oxydant [18]

5-1 Antioxydants enzymatiques :

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense antioxydant.

5-1-1 Les superoxydes dismutases (SOD) :

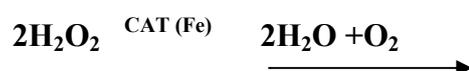
Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloenzymes ubiquitaires qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxydes d'hydrogène et Oxygène moléculaires [78] selon la réaction suivante :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène.[79]

5-1-2 Les catalases(CAT) :

Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire [21] (Delattre et al., 2005) ,mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux [80]



5-1-3 Les glutathions peroxydases (GPx) :

Les glutathions peroxydases présentes dans la plupart des tissus de mammifères, sont des enzymes formées de quatre sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de séléno-cystéine. Elles catalysent la réduction par le glutathion réduit (GSH) du peroxyde d'hydrogène en eau et de divers hydroperoxydes lipidiques produits (ROOH) en alcools et des espèces radicalaires en espèces non radicalaires.[81,82]

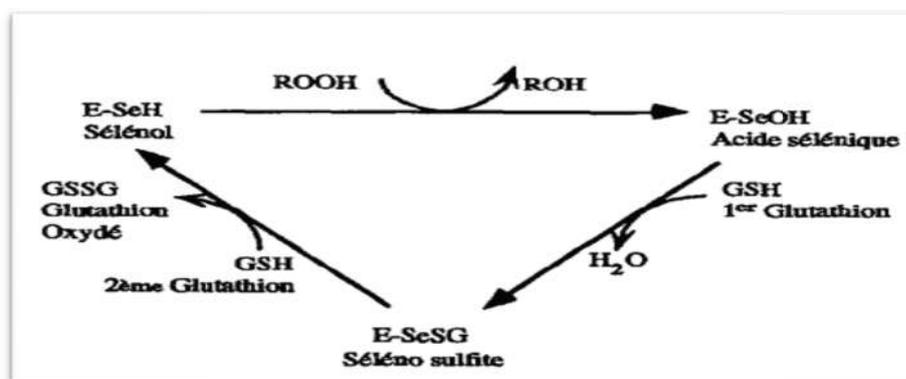


Figure 8 : Mécanisme d'action de la GPx. [83]

5-1-4 Glutathionne-S-transférase (GST) :

Glutathion S-transférase est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes [84]). La glutathion-Transférases (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité

de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes [85]. L'activité de conjugaison du GSH avec les composés électrophiles est présentée comme suit:



5-2 Système non enzymatique :

5-2-1 Glutathion (GSH)

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes Organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique [86,87]. Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H₂O₂ est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté [88].

5-2-2 Polyphénols :

Les Polyphénols sont des antioxydants ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyle, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices [78].

5-2-3 La vitamine C (Vit C) :

La vit C ou l'acide ascorbique a été identifié comme un facteur antiscorbutique dans le traitement du scorbut en 1920 par Szent-Györgyi et Glenn [89]. Il s'agit d'un important et puissant antioxydant hydrosoluble qui ainsi fonctionne dans les milieux aqueux de l'organisme [89,90]. Une vaste gamme de ROS (hydroxyles, radicaux peroxydes, anions superoxydes, acides hypochloreux), les espèces réactives du nitrogène (Peroxynitrite) et les radicaux dérivés des antioxydants (radicaux α -tocopheroxyl et l'urate) sont éliminés par l'acide ascorbique [89]. Ses principaux antioxydants partenaires sont la vitamine E et les caroténoïdes. Le vit C peut également contribuer avec les enzymes antioxydants [91].

5-2-4 La vitamine A (β -carotène) :

Le précurseur de la vitamine A est le β -carotène. Les caroténoïdes piègent les molécules d'oxygène Singulet [92] formées par les radiations solaires. Grâce à leur longue chaîne carbonée, riche en doubles liaisons, ils sont également de bons piègeurs de radicaux peroxy. Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être détruite [93].

5-2-5 La vitamine E :

La vitamine E est une substance organique sans valeur énergétique propre qui est nécessaire à l'organisme.

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active est l' α -tocophérol Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. Grâce à ses propriétés biochimiques et métaboliques, elle peut être utilisée dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'additif alimentaire. [21,94].

6- Structure chimique :

La vitamine E existe sous huit formes, quatre tocophérols et quatre tocotriénols. Elles se présentent naturellement dans la configuration *RRR*. Les suppléments de vitamines E sont soit entièrement composés de *RRR*- α -tocophérol(AT) (ou *d-AT*), soit un composé d'un mélange moitié-moitié de *RRR-AT* et de *ail rac-AT* (ou *dl-AT*), la forme synthétique Or, le ratio de biodisponibilité *RRR-AT* : *ail rac-AT* est 2: 1 et ce ratio est influencé par l'âge et l'apport alimentaire La vitamine E synthétique est donc une forme moins active de vitamine E et a été utilisée dans la plupart des essais cliniques jusqu'à maintenant [95].

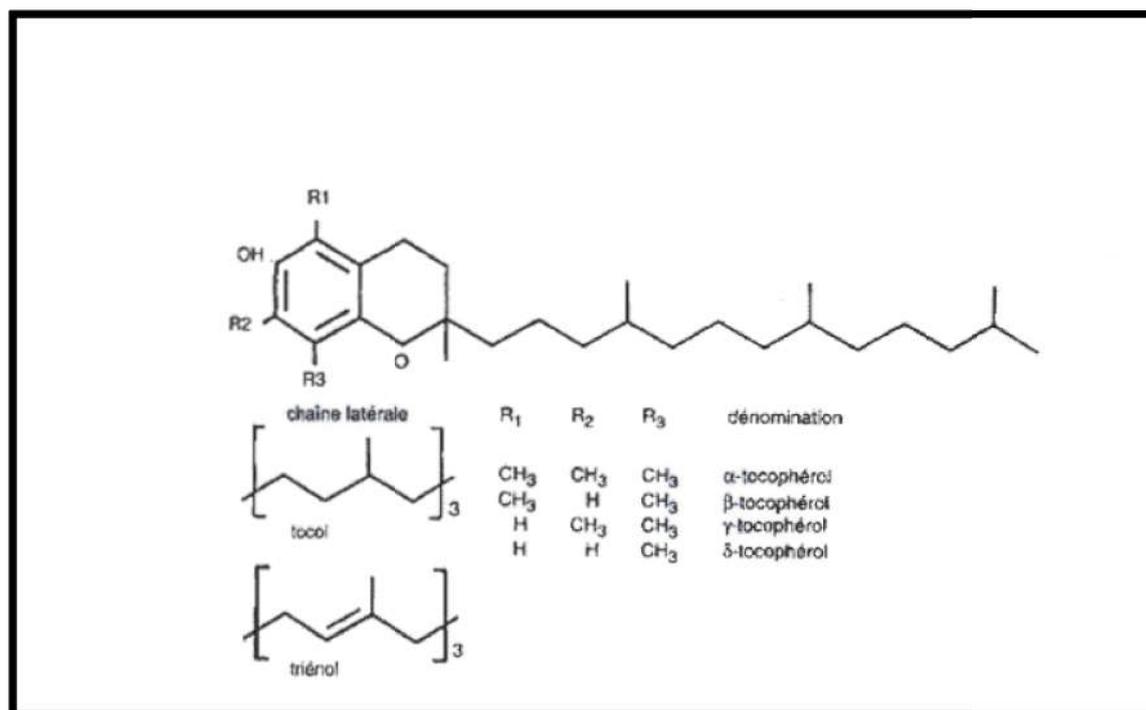


Figure 9. Structure des huit formes naturelles de vitamine E [96]

❖ Propriétés physico-chimiques :

Tous les tocophérols se présentent, à la température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques). Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl-α-tocophérol sont relativement stables. [97].

❖ Propriétés biochimiques et métaboliques :

La fonction naturelle de la vitamine E est d'être antioxydante. Grâce à ce rôle, elle assure la protection des membranes cellulaires et prévient le durcissement des cellules. Elle aide également à maintenir la santé du système immunitaire en protégeant la vie des globules rouges dans la circulation sanguine. Le radical tocophéryle est peu réactif et n'induit pas de nouvelles réactions radicalaires. Le tocophérol peut être régénéré par la vitamine C [98].

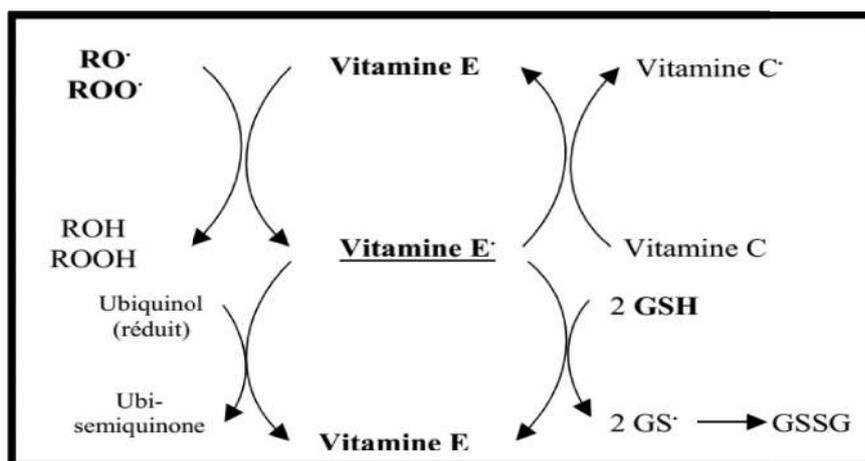


Figure 10: Régénération de la vitamine E [99]

7- SOURCES :

Les tocophérols sont largement répandus dans les produits naturels d'origine végétale ou animale. Les sources alimentaires les plus riches en vitamine E sont les céréales (seigle, blé, avoine...) dont leurs germes, les fruits (bananes, fraise, melon...), la plupart des oléagineux, dont leurs huiles (tournesol, soja, maïs, olive, arachide...). On trouve de la vitamine E dans les légumes à feuilles (salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage et également dans le poisson. [100](Center 2004, LYON)

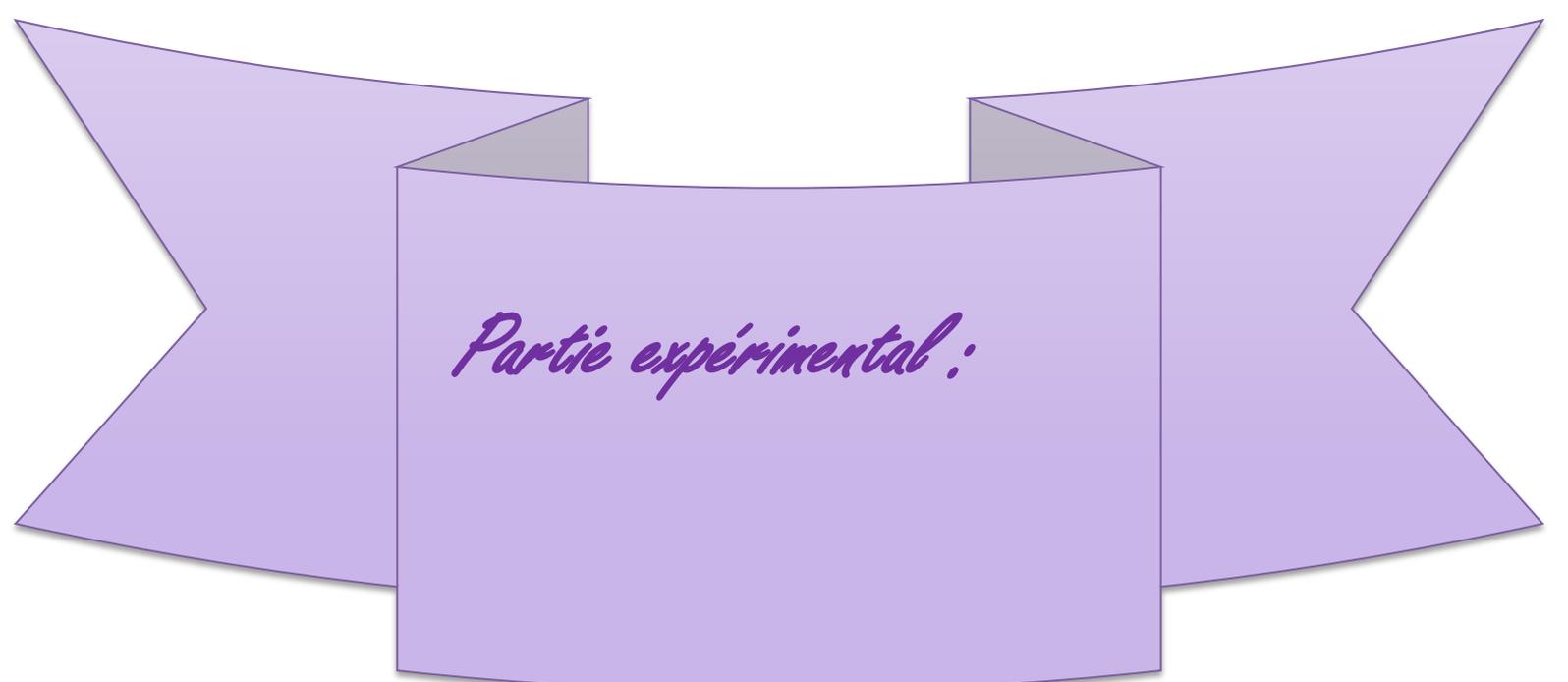
Sources naturelles de vitamine E	En mg pour 100g
Huile de germe de blé	150 à 500
Huile de soja	140
Huile d'arachide	15 à 30
Amande, noisette	15 à 20
Germes de céréales	14 à 20
Huile d'olive	8 à 20
Haricot sec, petit pois	3 à 4
Cacao, farine de blé	3
Beurre, chou, lard	2 à 3

Tableau 3 : Les principales sources de vitamine E [101]

8- Le rôle antioxydant de vitamine E :

La vitamine E exercerait son action anti-oxydante grâce à sa chaîne isoprénoïde latérale, qui lui permet de s'intégrer dans la bicouche lipidique, au niveau des zones hydrophobes. Il a été démontré que tocophérol a la possibilité de se fixer dans les encoches formées par les doubles liaisons des AGPI [102] [VUILLAUME, 1974]. Ainsi, les doubles liaisons des acides gras insaturés se trouveraient protégés contre l'action des peroxydes car la vitamine E interrompt le développement de la chaîne de libération des radicaux libres, et à une action inhibitrice directe sur la production de O_2^* -par les monocytes/macrophage

La vitamine E agit en synergie avec d'autres vitamines, telles que l'A et la C, cette dernière permettant la régénération de la vitamine E oxydée. [103]



Partie expérimental :

I. TRAITEMENT DES RATS

1-1- Matériel biologique :

Dans notre étude, nous avons utilisé 15 rats blancs mâles de la souche Wistar, ayant un poids corporel $133 \text{ g} \pm 23$. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 7 jours environ, aux conditions de l'animalerie, à une température voisine de 25°C et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 2 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

1-2- Traitement des rats :

Les rats mâles ont été repartis en 3 lots de 5 rats chacun, il s'agit de :

- **Lot 1** : rats témoins ont reçu une eau physiologique (NaCl 0,9 %) par gavage.

Ce traitement s'est poursuivi pendant 15 jours.

- **Lot 2** : rats ont reçu l'eau physiologique pendant 15 jours, dans le 15^{ème} jour les rats ont ingéré une dose aiguë de paracétamol (1000 mg /kg).
- **Lot 3** : rats traités par la vitamine E à dose 200mg /kg pendant 15 jours, dans le 15^{ème} jour après 4 heures les rats ont administré une dose aiguë de paracétamol (1000mg /kg).

II. PRELEVEMENTS DES ECHANTILLONS

❖ Prélèvement sanguin :

Le prélèvement de sang est fait aux niveaux de Vies sinusoides orbitales (oculaires). Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes EDTA et tubes héparine.

Les tubes EDTA utilisés pour la détermination de FNS.

Les tubes héparine vont subir une centrifugation 5000 tours/min pendant 10 min, puis on récupère le plasma résultant et stockés pour le dosage de MDA.

On prend 1 volume de culot restant et ajouté 2 volume de BPS puis mélanger et mettre dans la centrifuge 3000T /10 min, jeter le surnageant et récupérer le culot, Ce processus a été répété 3 fois. À la fin on ajoute eau distillé au culot final et congelé Pendant 1 heure puis mélangé attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydant. Selon la méthode de Cyamontta et al (1985). [104]

III-Dosage des paramètres hématologiques :

La mesure de la formule de numération sanguine(FNS) a été effectuée en utilisant un automate d'hématologie. Les tubes à EDTA contenant le sang et placé dans l'automate, et la mesure de la FNS commencent. Les paramètres hématologiques mesurés sont : globules rouges, globules blanc, hémoglobine, hématocrite, et plaquettes.

IV- Dosages des paramètres du stress oxydant

IV -1-Détermination du taux de glutathion réduit (GSH)

-Principe :

L'activité de GSH est mesurée par analyse spectrophotométrique selon la méthode de Beutler et al (1963). [105]

-Mode opératoire :

Prélever un volume de l'échantillon, ajouter la solution TCA et agiter pendant 5 min puis Centrifugé à 2000 tours/min pendant 5 min. Ensuite prélever 0,1 ml du surnageant et additionné 1,7ml du BPS et l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire la DO à 412nm contre le blanc réactif.

IV-2 -Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

-Principe :

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée selon la méthode d'Elman (1972). [106]

- Mode opératoire :

Prélever un volume de l'échantillon. Puis ajouter le GSH et le NaH_2PO_4 , Incuber à 25°C pendant 5 min. en suit additionné le H_2O_2 et laisser 10min, puis ajouter 1ml TCA et laisser 30 min, mettre dans le Contrefugue à 3000T/min pendant 10 min, après prélever un volume du surnageant et additionné le Na_2PO_4 et le DTNB, incuber 5 minute à température ambiante lire la DO à 412 nm.

IV-3- Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

-Principe :

La technique que nous avons utilisée pour doser l'activité de GST est celle d'Alimetal (1985) elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le (C-DNB) et le glutathion, qui absorbe la lumière à 340 nm. [107]

-Mode opératoire :

Prélever l'hémolysat, ajouter 2,8ml BPS puis additionné 100 μl de GSH et 100 μl de CDNB, directement lire la DO à 1min et à 3min à 340nm.

IV-4-Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

- Principe :

Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de

l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984). [108]

-Mode opératoire :

Prélever un volume d'hémolysat et ajouter 780 μ l de BPS (PH 7,4), puis additionné le H_2O_2 et lire la DO à 15 seconds et 60 seconds et à 3min à 240 nm.

IV-5-Dosage de l'activité enzymatique de Peroxyde Dusmitase (SOD)

-Principe :

Le dosage de SOD se fait selon la méthode de Marklund et al (1974). [109]

-Mode opératoire :

Prélever un volume de l'hémolysat, ajouter les tris Hcl et le pyrogallol et puis lire la DO à 420nm après 1min et 3 min.

IV-6- Détermination de la peroxydation lipidique du malondialdéhyde (MDA)

-Principe :

Le malondialdéhyde (MDA) est un marquer représentatif de la peroxydation lipidique. Le MDA plasmatique est mesuré selon la méthode de Jain SK et al (1996). [110]

- Mode opératoire :

Prélever un volume de plasma et ajouter 2,5 ml TCA, mettre dans le Centrifugeuse à 1000T/min pendant 10min. Puis prélever un volume de surnageant et ajouter 1 ml de TBA, Chauffer à 100°C pendant 15 min, en suite refroidisse et lire la DO à 532 nm.

❖ Analyse statistique :

Chaque valeur représente la Moy \pm SE, n=5 rats .la comparaison des moyennes entre les 3 groupes des rats est effectuée par le test ANOVA à facteur et complété par un test de Tukey afin de classer et comparé les moyennes deux à deux.

Cette analyse est réalisée grâce à un logiciel IBM SPSS version 20.

I- Les paramètres hématologiques :

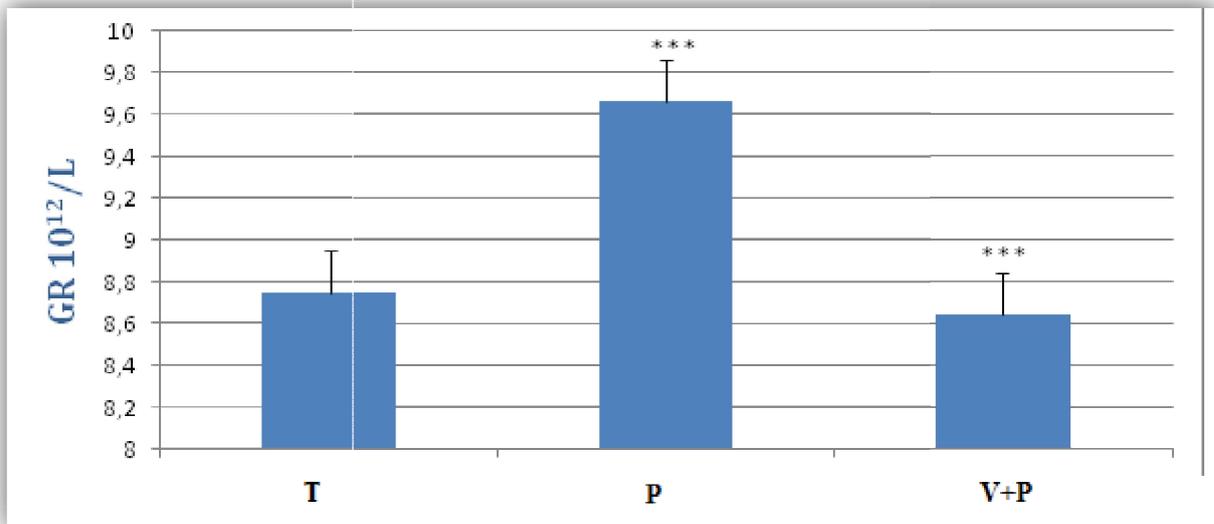


Figure11 : nombre des globules rouges ($10^{12}/L$) dans lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine (V+P)

Le nombre des globules rouges est augmenté dans le lot paracétamol par rapport aux lots témoin et lot vitamine (V+P). La différence est très hautement significative.

Il existe une diminution de nombre des globules rouges dans le lot vitamine (V+P) par rapport au lot témoin.

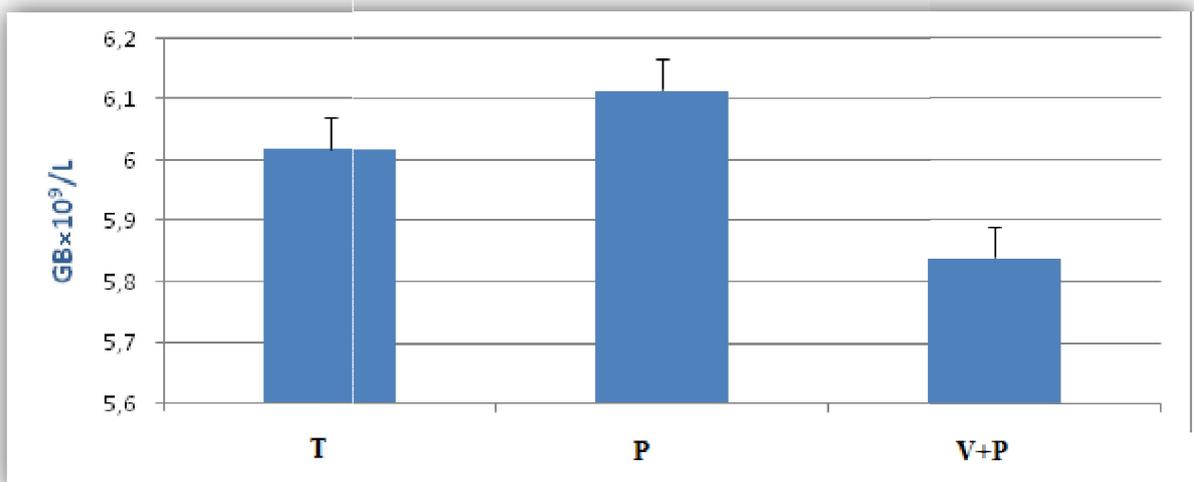


Figure12 : Variation du nombre des globules blancs $10^9/L$ dans lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine (V+P).

Le nombre de globules blanc est augmenté chez le lot paracétamol et diminuer chez le lot vitamine E par rapport au lot.

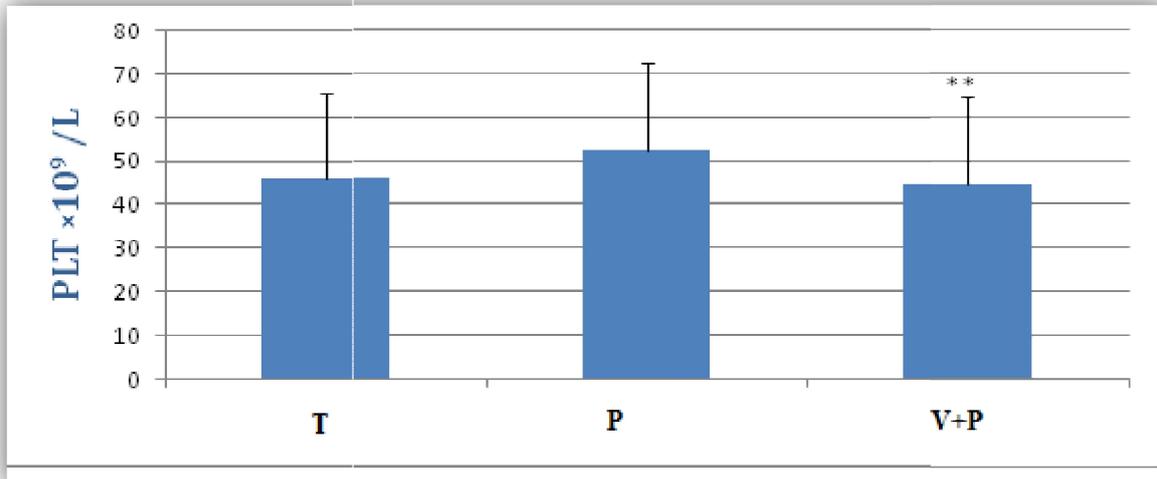


Figure13 : Variation du nombre des plaquettes ($10^9/L$) dans lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine (V+P).

Il y'a une augmentation non significatif dans le nombre de plaquettes dans le lot paracétamol et une diminution non significative dans le lot vitamine (V+P) par rapport au lot témoin.

Le nombre des plaquettes est très élevé dans le lot paracétamol par rapport au lot vitamine (V+P) est la différence est hautement significative.

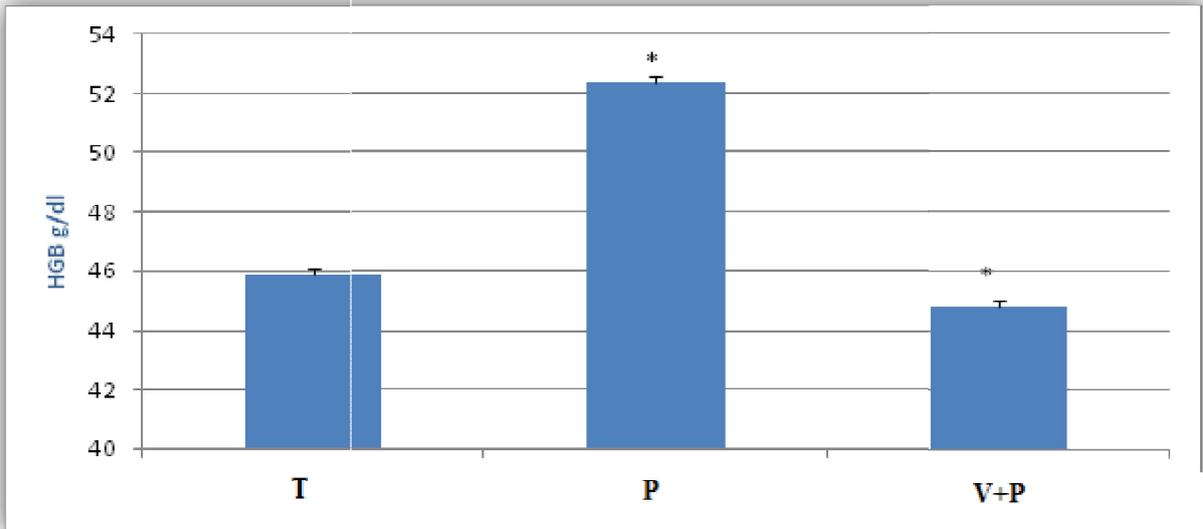


Figure14 : taux de l'hémoglobine (g/dl) dans le lot témoins (T), lot paracétamol (P) et lot vitamine (V+P)

Le taux de l'hémoglobine est augmenté significativement chez le lot paracétamol par rapport au lot témoin. il y'a une diminution de taux de l'hémoglobine chez le lot vitamine (V+P).

Le taux d'hémoglobine est très élevé dans le lot paracétamol par rapport au lot vitamine (V+P) avec une différence significative.

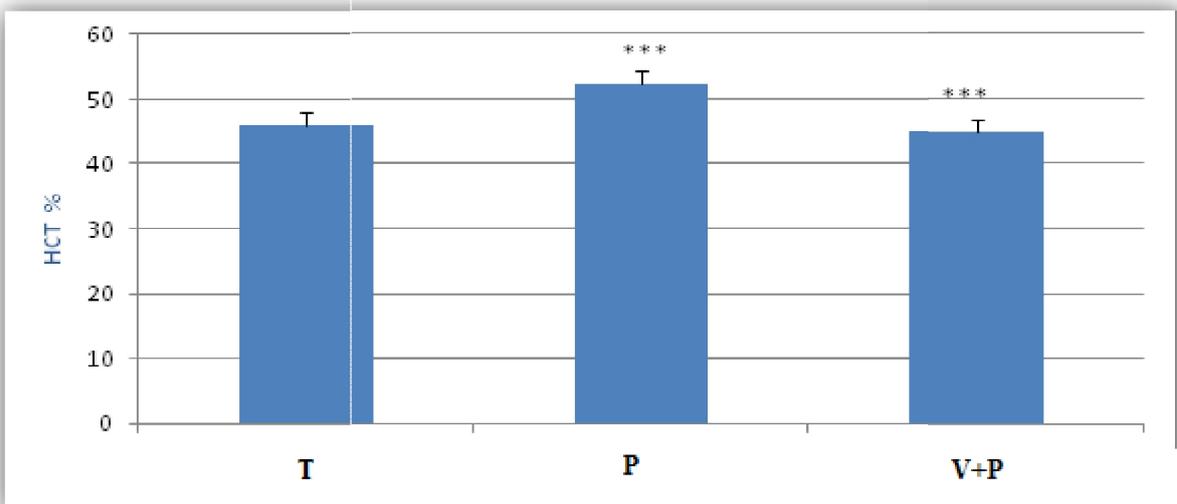


Figure 15: pourcentage de l'hématocrite (%) chez les rats témoins (T) et toxiques par Le paracétamol (P) et traités par vitamine (V+P)

La différence dans le pourcentage de l'hématocrite est très hautement significatif dans le lot paracétamol et lot vitamine (V+P) par rapport au groupe témoin, avec une augmentation de pourcentage chez le groupe paracétamol et une diminution chez le groupe vitamine (V+P).

Le pourcentage de l'hématocrite est élevé dans le lot paracétamol par rapport au lot vitamine (V+P) est la différence est très hautement significative.

II-Les paramètres de stress oxydant

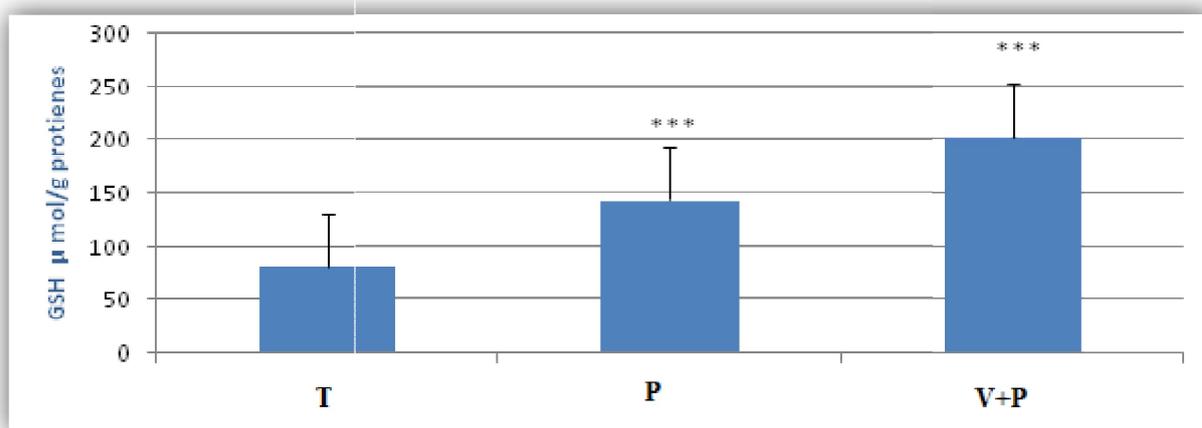


Figure 16: teneur de GSH dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traité par vitamine E (V+P).

Il y'a une augmentation dans les teneurs de la glutathion d'hémolysat chez lot de paracétamol par rapport au lot témoin et une diminution très hautement significative par rapport au lot vitamine (V+P), alors qu'on observe une augmentation très hautement significative des teneurs en activité de la glutathion réduit d'hémolysat chez lot de vitamine

(V+P) par rapport au lot témoin et lot paracétamol .

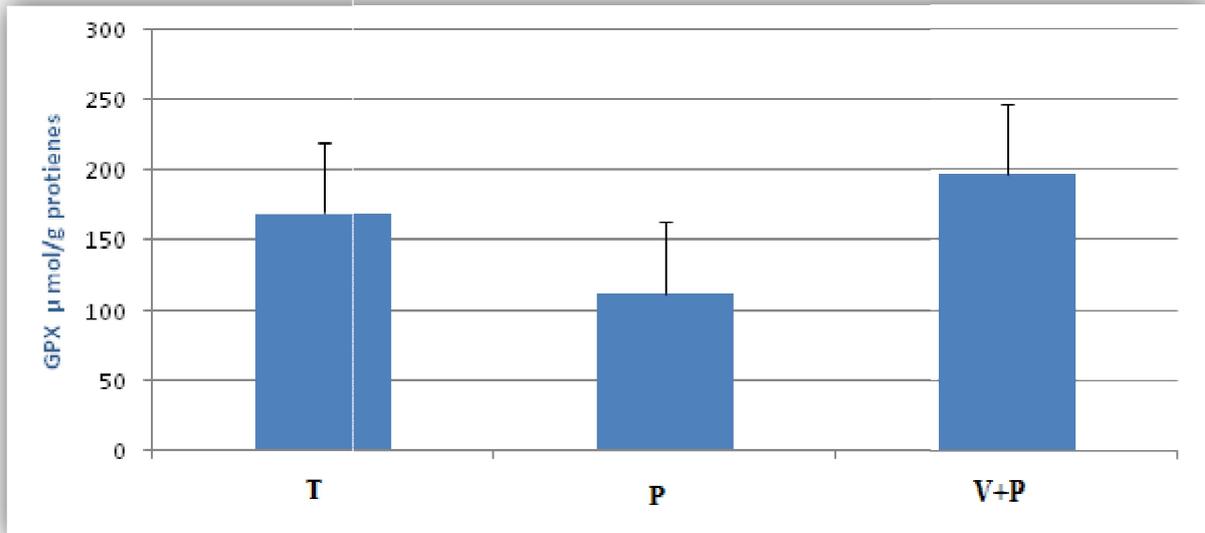


Figure 17 : l'activité de GPX dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traités par vitamine E

Il y'a une augmentation dans l'activité de la glutathion peroxydase d'hémolysat chez lot paracétamol par rapport aux lots témoin et vitamine E, alors qu'on observe une diminution en activité de la glutathion peroxydase d'hémolysat chez lot de vitamine E par rapport au lot témoin et lot paracétamol.

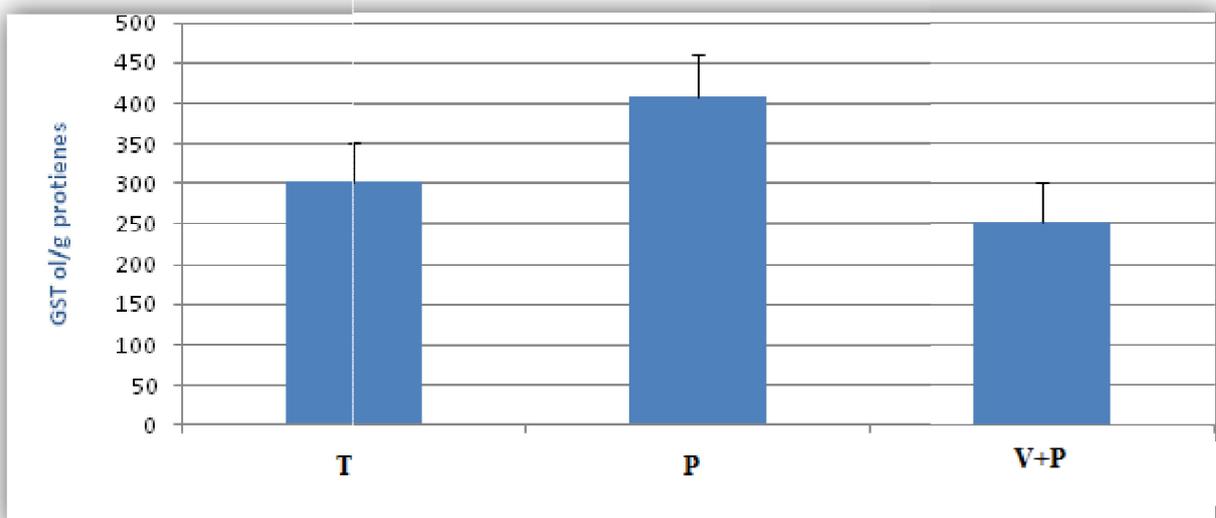


Figure 18 : l'activité de GST dans l'hémolysat des rats témoins et toxiques par paracétamol et traités par vitamine E

Résultats et interprétation

Il y'a une diminution en activité de la glutathion S transférase d'hémolysat chez lot paracétamol par rapport aux lots témoin et vitamine E, alors qu'on observe une augmentation en activité de la glutathion S transférase d'hémolysat chez le groupe de vitamine E par rapport au groupe paracétamol et une diminution par rapport au groupe témoin.

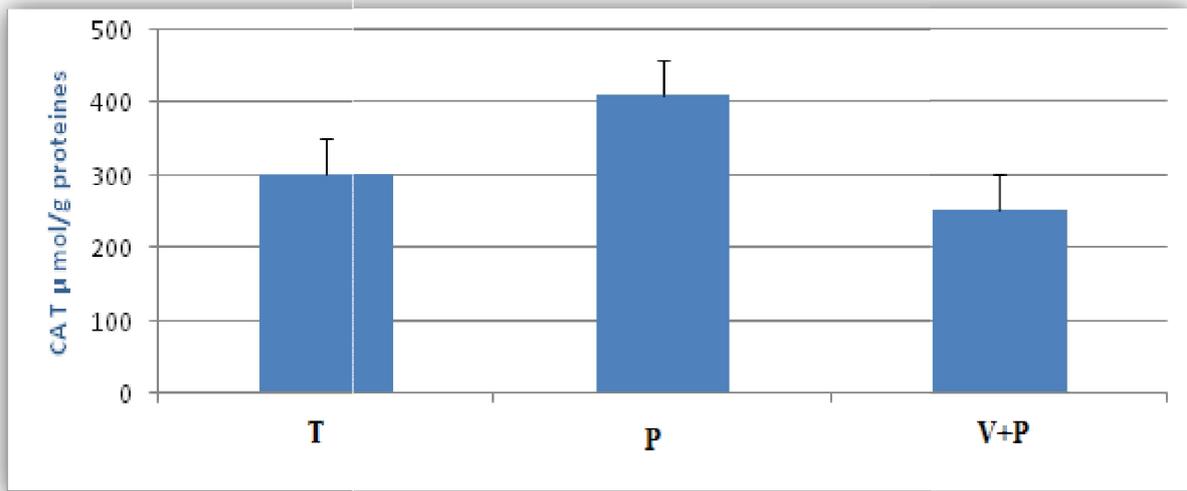


Figure 19 : l'activité de CAT dans l'hémolysat des rats témoins et toxiques par paracétamol et traités par vitamine E

Il y'a une augmentation en activité de la catalase d'hémolysat chez lot paracétamol par rapport aux groupes témoin et vitamine E, alors qu'on observe une diminution en activité de la catalase d'hémolysat chez lot de vitamine E par rapport au lot témoin et lot paracétamol.

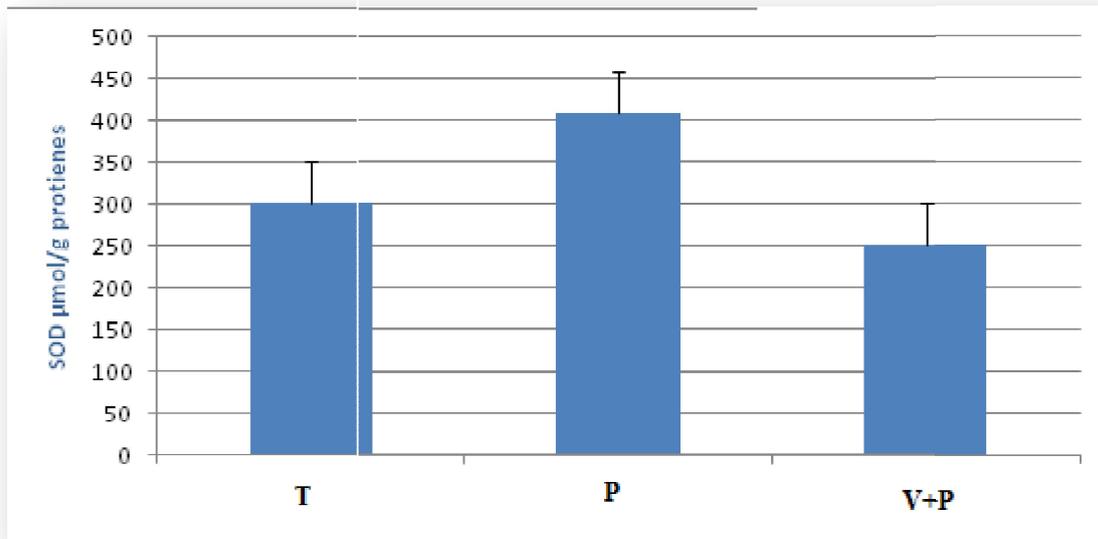


Figure 20 : l'activité de SOD dans l'hémolysat des rats témoins et toxique par paracétamol et traités par vitamine E

Il y'a une augmentation en activité de la super oxyde Dusmitase d' hémolysat chez le lot paracétamol par rapport aux lots témoin et vitamine E , alors qu' on observe une diminution en activité de la super Oxyde Dusmitase d'hémolysat chez lot vitamine E par rapport aux lots témoin et lot paracétamol.

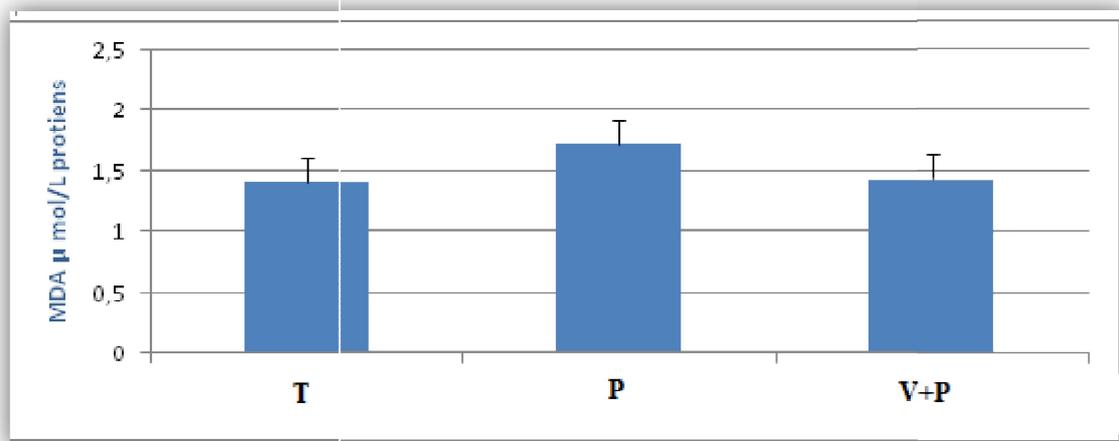


Figure 21 : Teneur plasmatique du MDA ($\mu\text{mol/l}$), dans lot témoins et lot paracétamol et lot vitamine E.

Résultats et interprétation

Les teneurs plasmatiques du MDA sont augmentés chez lot paracétamol par rapport aux lots témoin et vitamine E, et on observe une augmentation chez lot vitamine E par rapport au lot témoin.

Discussion

L'hématotoxicité de paracétamol liée à la formation d'un métabolite électrophile réactif (NAPQI). En cas de l'excès de cette métabolite les taux des ERO sera augmenté et induit un stress oxydant, cette dernière est définie comme étant un déséquilibre de la balance oxydant-antioxydant, les dommages oxydatifs ciblés les grandes molécules tel que les lipides membranaires, les acides nucléiques et les protéines. En revanche l'organisme intervient et développe le système antioxydant qui les protègeant contre ces dommages oxydatifs, dans ce système on trouve les antioxydants enzymatiques : GPX, GST, CAT, SOD et antioxydants non enzymatiques : GSH, les Polyphénols et les vitamines. Parmi ces vitamines on a la vitamine E l'antioxydant majeur de lipides membranaires qui luttent contre les RL.

Dans nos études expérimentales nous avons montré l'effet préventif de la vitamine E vis-à-vis l'hématotoxicité induit par le paracétamol par le dosage des paramètres hématologiques (FNS) et un dosage des paramètres de stress oxydant GSH, GPX, GST, CAT, SOD et MDA. Cette étude est effectuée sur 3 lots des rats Wistar : le 1^{er} lot contient les rats témoins, le 2^{ème} lot contient les rats administrés une dose aiguë de paracétamol (1000mg / kg) et le 3^{ème} lot contient les rats administrés la vitamine E et après 4 heures administrés une dose aiguë de paracétamol.

❖ Influence du paracétamol et vitamine E sur les paramètres hématologiques :

À la lumière de nos résultats, nous pouvons dire que la toxicité induite par le paracétamol a été exprimée par des modifications importantes des paramètres hématologiques, il semble que l'effet de paracétamol entraîne une augmentation de ces paramètres en comparant avec le témoin : globules rouges ($9.6 \times 10^{12}/L$) - ($8.7 \times 10^{12}/L$), globules blancs (6.1×10^9) - (6×10^9), plaquettes (51×10^9) - (45×10^9), hémoglobine (52g /dl) - (46g /dl), hématocrite (52%) - (47%).

L'augmentation des globules rouges, hémoglobine et hématocrite peut révéler une polyglobulie [111] cette anomalie est créée par différents agents comme le stress oxydant, dans ce cas elle est nommée « polyglobulie stressée » [112] donc on pense que le paracétamol induit cette anomalie sanguine par leur stress oxydatif.

L'augmentation du nombre des globules blancs (leucocytose) et des plaquettes (thrombocytose) est démontrée la présence d'une inflammation [25], cette inflammation peut

être induit par les radicaux libres qui causent des dommages et réagissent avec les cellules puis déclenchent une réaction inflammatoire avec production des médiateurs. [113]

D'après nos résultats on peut dire que le paracétamol provoque une inflammation par les radicaux libres induites par leur métabolite NAPQI, l'explication de ce phénomène réside dans le fait que les cellules de système immunitaire circulent en permanence, lors de la réponse de stress oxydatif conduit au recrutement de leucocytes présent dans le réservoir de la moelle osseuse et à leur passage dans la circulation sanguine, et provoque une augmentation de toutes les catégories de leucocytes dans le sang. [114]

Dans le lot vitamine E les taux des paramètres sanguins gardent leurs valeurs normales (proche de celle de témoin) on comparant avec le lot paracétamol : globules rouges ($8.6 \times 10^{12}/L$)-($9.6 \times 10^{12}/L$), globules blancs (5.85×10^9)-(6.1×10^9), plaquettes (44×10^9)-(51×10^9), taux d'hémoglobine (45g/dl)-(52 g/dl), pourcentage d'hématocrite(44%)-(52%) ,on s'explique ces résultats par le rôle anti- inflammatoire et antioxydant de vitamine E [22] (ocl) ,la vitamine E détruit les radicaux, et lorsque ces derniers sont éliminés la situation stressante prend fin et la formule sanguine retrouve sa composition initiale . [114, 115]

❖ Influence de paracétamol et vitamine E sur les Paramètres de stress oxydatif :

Le GSH joue un rôle principal important dans la détoxification des xénobiotiques en tant que cofacteur pour la famille des GST et en tant qu'antioxydant important pour l'élimination des ERO. [116]

Les taux de GSH sont diminués chez les rats toxiques par une dose aiguë de paracétamol à cause de leur épuisement après la conjugaison avec le métabolite toxique électrophile NAPQI.

La diminution de GSH résulte de la diminution de GPX, ce dernier utilise le GSH comme donneur de protons pour catalyser la réaction des peroxydes organiques est inorganique [117]

D'après les résultats obtenus, nous montrons que les taux de GSH et GPX diminués dans le lot de paracétamol, le GSH ($148 \mu \text{ mol} / \text{g}$ protéines) et le GPX ($110 \mu \text{ mol} / \text{g}$ protéines) on explique cette diminution par la production excès de NAPQI qui dépasse la capacité de neutralisation par le GSH par ce que les réserves de cet antioxydant s'épuisent rapidement. Ces résultats sont en accord avec les résultats des travaux de James et al (2009) [118]. Et nous montrons que les taux de GSH et de GPX augmentés chez le lot de la vitamine E. le GSH

(200 μ mol / g protéines) et le GPX (198 μ mol/ g protéines), on explique cette augmentation par l'effet préventif de la vitamine E contre les RL , cette antioxydant est amélioré les niveaux de GSH et augmenté leur disponibilité , la vitamine E protège les membranes contre le stress oxydant induit par les RL ,similaire a l'étude de CILARD et al(2006) [119].

En cas d'une toxication aigue de paracétamol le GST augmenté lors de diminution de GSH, parce que le GST catalyse la réaction de conjugaison entre le GSH et les substances étrangères afin de former des métabolites glutathion conjugués. [13]

Dans notre étude expérimentale nous montrons que les taux de GST augmenté chez le lot de paracétamol (400 μ mol / g protéines) par rapport aux lots témoin et vitamine E et ces taux diminué chez le lot de vitamine E (250 μ mol / g protéines) par rapport aux lots témoin et paracétamol, l'augmentation et la diminution de GST est lié a la variabilité de la réaction de conjugaison entre le GSH et le NAPQI , ces résultat est accorde les résultats des travaux de Aouacheri et al (2009)[13] ,et nous avons montré que la diminution de la GST lié a l'effet préventif de la vitamine E contre les RL ; le déficit en vitamine E augmente l'activité des RL [22] , cette vitamine est joue un rôle d'équilibré le statut oxydant – antioxydant [120]

Le superoxyde dismutase(SOD) et la catalase(CAT) sont les deux antioxydants complémentaire de deuxième ligne de défense, le SOD assure l'élimination de l'anion superoxyde $O_2\bullet$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et en oxygène O_2 . [117] et la CAT peut transformer le H_2O_2 en H_2O [119].notre étude montré une augmentation des taux de CAT (400 μ mol /g protéine) et de SOD (410 μ mol /g protéine) chez le lot de paracétamol, et une diminution de l'activité de ces enzymes chez le lot de vitamine E, la CAT(250 μ mol /g protéine) et la SOD(250 μ mol/g protéine) , nous expliquons cette augmentation par l'élévation de la défense contre les dommages radicalaires et le stress oxydant crée par le paracétamol, par ce que la CAT et le SOD sont responsables de maintenir l'hémostasie par la transformation de H_2O_2 en H_2O et jouent un rôle important dans l'élimination des ERO ce résultat est similaire a résultat des travaux de Manawadi et Kaliwal(2010) [121]. Et explique la diminution par l'effet préventif et le rôle protecteur de la vitamine E contre les radicaux libres et les dommages peroxydase qui attaquent les grandes molécules. Ce résultat est similaire aux études de (Claude-Louis LEGER. 2000). [22]

MDA est un marqueur présentatif de la peroxydation lipidique .Dans notre étude, nous montrons une augmentation de la peroxydation lipidique indiquée par l'augmentation des taux du MDA chez le lot de paracétamol ($1,7\mu$ mol/protéine) et une diminution du taux du MDA chez le lot de la vitamine E ($1,4\mu$ mol/protéine). On explique cette augmentation par l'effet de stress oxydant et l'élévation des ERO induits par le métabolite toxique NAPQI qui favorisent dommages oxydatifs au niveau des lipides, accorde les résultats de Malouk et al(2016). [122]

On explique la diminution de la peroxydation lipidique par l'effet antioxydant de la vitamine E grâce à sa propriété protectrice des lipides membranaires (J. Haleng et al.2007) [117] montrent que la vitamine E est un antioxydant major, elle est présente dans toute les membranes, dont elle préserve l'intégrité en protégeant les AGPI contre les attaques des RL.

Conclusion :

Le sang est un tissu fluide circulant dans les vaisseaux, composé de plasma et éléments figurés et assure plusieurs.

L'hématotoxicité manifester leur activité vis-à-vis les éléments figurés de sang, cette toxication peut être créée par différents agents comme les médicaments, parmi ces derniers on trouve le paracétamol qui métabolisé au niveau hépatique en métabolite inactif (glucuro et sulfo conjugaison) et métabolite réactif toxique (NAPQI), Aux doses toxiques, le NAPQI induit un stress oxydatif, qui est un déséquilibre de balance oxydant-antioxydant il se produit lorsque les radicaux sont produits en excès et provoquant des dommages au niveau des macromolécules. Ces radicaux libres peuvent être neutralisés par un système antioxydant enzymatique et non enzymatique parmi ces derniers la vitamine E qui est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. La vitamine E est un antioxydant majeur des structures lipidiques, sa présence permet la conservation de l'intégrité des acides gras, très sensibles à l'oxydation.

Grâce à sa longue chaîne lipidique, la vitamine E se fixe au sein des membranes lipidiques, et c'est sa fonction phénolique qui est responsable de son activité antioxydante. Elle aide également à maintenir la santé du système immunitaire en protégeant la vie des globules rouges dans la circulation sanguine.

On a mesuré des paramètres sanguins et paramètres de stress oxydatif chez des rats administrés vitamine E comparés aux rats toxiques par paracétamol.

Nombre des globules rouges (8.6×10^{12} /L)-(9.6×10^{12} /L), globules blancs (5.85×10^9 /L)- (6.1×10^9 /L), plaquettes (44×10^9 /L)-(51×10^9 /L), taux d'hémoglobine (45g/dl)-(52 g/dl), pourcentage d'hématocrite (44%)-(52%).

Taux du GSH ($200 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines)- ($148 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines), GPX ($198 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines)- ($110 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines), CAT ($250 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines), ($400 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines), SOD ($250 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines)- SOD($410250 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines), GST($250 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines)- GST($400 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines) MDA ($1,4 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines)- ($1,71,4 \mu\text{ mol} / \text{g}$ protéines).

Nos résultats montrent que l'administration de vitamine E conserve les taux normaux des paramètres sanguins et provoque une nette amélioration du statut antioxydant. Cela montre clairement l'effet préventif et les propriétés anti oxydantes de la vitamine E



Résumé

Résumé :

Le sang est un tissu fluide, composé de plasma et éléments figurés, et il assure plusieurs fonctions.

L'hématotoxicité manifester leur activité vis-à-vis les éléments de sang, elle peut être créée par différents agents comme les médicaments, parmi ces derniers en sélection le paracétamol.

En cas de surdosage le paracétamol provoque une hématotoxicité par leur métabolite actif toxique (NAPQI) qui induit un stress oxydatif. Ce stress oxydatif définit comme étant un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par le système antioxydant enzymatique et non enzymatique. La vitamine E est l'une de ces antioxydants non enzymatiques qui joue un rôle antioxydant majeure contre les dommages oxydatifs.

Cette étude a été axée sur l'examen de l'effet préventif de la vitamine E contre l'hématotoxicité de paracétamol, les résultats révèlent une altération dans la fonction hématologique par augmentation des paramètres sanguins et une perturbation de statut oxydatif chez les rats toxiques par paracétamol avec diminution des taux de GSH et GPX et augmentation de SOD, CAT, GST et MDA.

Nous concluons que les résultats suggèrent que la vitamine E peut réduire la toxicité de paracétamol, par la conservation des taux normaux des paramètres sanguins et l'ajustement de la balance oxydatif par l'augmentation des taux de GSH et GPX et la diminution de l'activité de SOD, CAT, GST et la concentration de MDA.

Mots clés : Sang, Hématotoxicité, paracétamol, stress oxydatif, vitamine E.

Abstracts:

The blood is a fluid tissue composed of plasma and figurative elements.

Hematotoxicity manifest their activity with regard to the element of blood, it can be created by different agents like the drugs (paracetamol).

In the event of overdose, paracetamol causes hematotoxicity by their toxic metabolite (NAPQI) which induces oxidative stress.

This oxidative stress defines as disequilibrium between the production of free radicals and their destruction by the enzymatic and non-enzymatic antioxidant system, vitamin E is one of the latter wich play a major antioxidant role against oxidative damage.

This study focused on examining the preventive effect of vitamin E against the hematotoxicity of paracetamol, the results reveal an alteration in hematological function by increase in blood parameters and an oxidative status disturbance in toxic rats by paracetamol with decreased GSH and GPX levels and increased SOD , CAT , GST and MDA .

Ours results suggest that vitamin E may reduce paracetamol toxicity, by conserving normal blood levels and oxidative balance adjustment by increasing GSH and GPX levels, and decreasing activity of SOD, CAT, GST and concentration of MDA.

Key words: Blood, Hematotoxicity, Paracetamol, Oxidative stress, Vitamin E.

المخلص

الدم عبارة عن نسيج ضام يتكون من البلازما الكريات الحمراء الكريات البيضاء و الصفائح وله عدة وظائف حيوية في الجسم

السمية الدموية يكون تأثيرها على مختلف مكونات الدم مسببة عدة أمراض مثل فقر الدم وهي ناتجة عن عدة عوامل مثل الأدوية منها البراسيتامول الذي هو عبارة عن دواء مسكن للألم يستقلب على مستوى الكبد و في حالة الجرعة الزائدة ينتج عنه مستقلب سام NAPQI هذا الأخير يسبب سمية عن طريق إنتاج الجذور الحرة التي تحدث جهد تأكسدي و الذي هو عبارة عن خلل في التوازن بين محرضات ومضادات الأكسدة الإنزيمية و غير الإنزيمية التي من بينها الفيتامين E الذي له دور رئيسي ضد أضرار الأكسدة

في هذه الدراسة تمت دراسة تم اختبار الفعل الوقائي للفيتامين E الذي له دور رئيسي ضد أضرار الأكسدة وفي هذه الدراسة تمت دراسة التأثير الوقائي لهذا الفيتامين ضد السمية الدموية للبراسيتامول حيث اظهرت النتائج أن الفيتامين E يحد من سمية البراسيتامول عن طريق المحافظة على النسب العادية لمكونات الدم وتعديل ميزان الجهد التاكسدي عن طريق الرفع من نسب GSH و GPX و تخفيض نشاط إنزيمات SOD, CAT, GST, و تراكيز MDA

- [1]-Rose Marie Hamladji. Précis de sémiologie 2005, p 331-332
- [2]-Alain Viala, Alain Botta. toxicologie 2^{ème} édition 2007p 490-491
- [3]-Estelle Menu, Maud Mehring. Toxicologie 1re édition 2015 p :1
- [4] Cullenmr, Radot, Waldronja, Sparerj, Welchls. Bonemarrowinjury in lithographers exposed to glycol ethers and organic solvents use dinmulticoloroffset andultravioletcuringprintingprocesses.ArchEnvironHealth1983
- [5] Smith, 1996). Smith mt. The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia. Environ Health Perspect1996, 104: 1219-1225
- [6] Comite de Coordination de Toxicovigilances . *Définition des critères de gravité d'une intoxication médicamenteuse.*- Paris : Comité De Coordination De Toxicovigilance. 2008 P13.
- [7] Allen AL: The diagnosis of acetaminophen toxicosis in a cat. Can Vet J 2003, **44** (6), 509-510
- [8] Campbell A, Chapman M. Handbook of poisoning in dogs and cats, Blackwell science 2000. Cats. Paracetamol 31-38.
- [9] Mesplede. J, Saluzzo. C (2004). Cent manipulations en chimie organique et inorganique. Bréal. 1ère Ed. Paris
- [10] Linigera P, Stuckib F, Schwanderb P, Wüthrichc C, Ridolfi Lüthyd A. Douleurs aiguës chez l'enfant : diagnostic, traitement et prévention. Forum Med Suisse 2002 ; 17 : 24.
- [11] Mcgill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen : Recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. Pharm Res 2013 ; epub ahead of print.
- [12] Viala A. Paracétamol. In : Viala A, Botta A, eds. Toxicologie. 2e édition. Paris : Lavoisier, 2005 : 737-9.
- [13] Aouacheri W, Saka S, Djafer R. L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. Ann Toxicol Anal 2009 ; 21 : 125-9.
- [14] Villar D, Buck WB, Gonzalez JM . Ibuprofen, aspirin and acetaminophen toxicosis and treatment in dogs and cats. Vet Hum Toxicol 1998, **40** (3), 156-162.
- [15] Wright RO, Lewander WJ, Woolf AD. Methemoglobinemia : Etiology, pharmacology, and clinical management. Ann Emerg Med 1999, **34** (5), 646-656

- [16]] **Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N & Atamer Y** (2008) .The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J Int Med Res* 36, 771-776.
- [17] **F .Tessier, P. Marconnet** .Revue Science & Sports (1995) 10.1-13 Elsevier, Paris
- [18] **Grandjean, D. (2005a)**. "Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien." *Le Nouv Prat Vét* 22: 11-15.
- [19] **FAVIER. A. 2003**. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-11
- [20] **Halliwell. B, Gutteridge .JMC** (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, San Diego. 186: 1-85.
- [21] **Delattre. J, Beaudeuxet. J, Bonnefont.L, Rousselot.D**. 2005. Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques* . P 87 .108.
- [22] **Claude-Louis Leger**. La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 3, 258-65, Mai - Juin 2000, Dossier : Les vitamines liposolubles
- [23] **Marieb, E.N**. *Essentials of Human Anatomy and Physiology*(9^e éd.), San Francisco (CA), Pearson/Benjamin Cummings, 2009, 632 p
- [24] **Wilson, D.D., S. Lahaye, J. Courchesne et E. Prégent**. *Examens paracliniques*, Montréal, Chenelière/McGraw-Hill, 2010, 696 p
- [25]**Dean, L.** et National Center for Biotechnology Information (NCBI). *Blood Groups and Red Cell Antigens*, Bethesda (MD), NCBI, 2005.[En ligne :www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?call=bv.View..ShowTOC&rid=rbcantigen.TOC&depth=2]
- [26] **Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter**. *Molecular Biology of the Cell*(5^e éd.), New york, Garland Science, 2007, 1392 p.
- [27] **Rhone –Alpes**. Fiche pratique infirmiere ; Les effets hematologique lie a la chimiothérapie ; p 3.BPA-FPI1501. *Hemato*. Version validée le 24/ 01/2015.

[28] **A.Ben Saad ,S.Jaballi, A.Elkamel** .Impact de l'anémie sur l'évolution et le pronostic de la BPCO. À propose de la 1242 Patients ,Ruvue des Maladies Respiratoires 2017 ,Vol . 34 : A57

[29]**Emanuel. A, Thierry.W, Laure. F , Mustapha.M.** Neutropénie de l'adulte et sujet âgé . Diagnostique , étiologique et prise en charge thérapeutique mt , vol. n° 5, 2008.

[30] **M.C .Husson.** Révulation thérapeutique; médicament utilises en cancérologie(4^{ème} édition) , 2001,pp40.

[31]. **Bismuth C., Baud F., Conso F., Dally S., Fréjaville J.-P., Garnier R., Jaeger A.** Flammarion Médecine-Sciences, 5^{ème} édition, Paris 2000.

[32] **G.Fillet.** Hématotoxicité médicamenteuse Revue Medicale de Liege 1987

[33] **Ibrahim T, Agnihotri S, Agnihotri AK**(2013) Paracetamol Toxicity- An Overview. Emergency Med 3: 158.

[34] **Wallace KP, Center SA, Hickford FH et al.**S-adenosyl-L-methionine (SAMe) for the treatment of acetaminophen toxicity in a dog. J Am Anim Hosp Assoc 2002, **38**, 246-254.

[35] **Scellier C** . Les effets secondaires des médicaments sur les paramètres et constituants hématologiques du chien et du chat. Th D ENVT 1998 n 21022.

[36] **Cullison RF:** Acetaminophen toxicosis in small animals: clinical signs, mode of action, and treatment. Compend Cont Educ 1984, **6** (4), 315-320.

[37] **Hjelle JJ, Grauer GF.** Acetaminophen-induced toxicosis in dogs and cats. J Am Vet Med Assoc 1986, **188** (7), 742-746.

[38] **Laura P. James, Lynda Letzig, Pippa M. Simpson, Edmund Capparelli, Dean W. Roberts, Jack A. Hinson, Timothy J. Davern, and William M. Lee** Pharmacokinetics of Acetaminophen-Protein Adducts in Adults with Acetaminophen Overdose and Acute Liver Failure 2009, Vol. 37, No. 8 26195/3492463 Printed in U.S.A.

[39] **Prescott L F** 2000 .Paracetamol : past, present, futur. In : Bidault M 2011 : Prise en charge des intoxications au paracétamol : Etudesretrospective sur trois ans dans le service des urgences adultes du CHU de limoges ; p (15-18). Université de limoges

[40] **Craige R.C., Stitzel. R.** - *Modern pharmacology.* - 4^{ème} éd. - Boston: Little Brown and company, 1994. Chap.39, Opiod and nonopioid analgesics. p. 431-437

- [41] **Le marec C** 2005 . Histoire du paracétamol. Le praticien en anesthésie. Réanimation. In : Aissat S 2010 : Mesure de l'impact toxique du paracétamol thérapeutique chez 11 alcooliques adultes dosage de quelques maueurs hépatique, évaluation du danger intoxiqués par ce médicament ; p 6. Université Mouloud Mammeri de tiziOuzzo
- [42] **Danel .V, Barriot. P.** *Intoxications aiguës en réanimation.* - 2ème éd.- Rueil Malmaison, 1999. Intoxications par antalgiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens.- p. 355-378
- [43] **Beaulieu P** 2013 : La douleur, guide pharmacologique et thérapeutique ; p 51, 49, 50 ; Maloine. Canada
- [44] **Marzuillo, P., Guarino, S., & Barbi, E.** (2014). Paracetamol: a focus for the general pediatrician. *European Journal of Pediatrics*, 173(4), 415–25.
- [45] **Roujas. F, Sorkine. M** - *Intoxications aiguës.* - Paris : Masson, 1989. Intoxications médicamenteuses : Le paracétamol. p. 72-77
- [46] **Mukundabantu V** 2006 : [1/04/2016]. Investigation sur l'usage du paracétamol et de l'aspirine au Rwanda : cas de la ville de Butare.[En ligne] .http ;www.UWC.ac.Za/ics/de fault aspweb.page ID.
- [47] **El bahri** 2015: Intoxication aigue au paracétamol chez l'enfant; Thèse de doctorat; p 18. Université Mohammed v-rabat
- [48] **Gimenez F., Calop J., Limat S., et al.** - *Pharmacie clinique et thérapeutique.*- 4ème éd.- Issy Les Moulineaux : Elsevier Masson, 2012. Chap.30, traitement de la douleur, p. 575-602
- [49] **Faber K., Rauber-Luthy C., Kuper .S, Chmidt H., et al.** [19/11/2013] - *Intoxication aiguë au paracétamol.* [En ligne]. - Adresse URL :
<http://www.medicalforum.ch/docs/smf/archiv/fr/2010/2010-38/2010-38-120.pdf>
- [50] **Boucher A.** – Exposition chronique à doses excessives de paracétamol au cours des dépendances aux antalgiques associant opiacés et paracétamol. - *Vigitox.* 2011. 46, p. 12
- [51] **FDA.** [23/09/14] - *Executive summary.* [En ligne]. – Adresse URL :
http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/02/briefing/3882b1_13_mcnail-acetaminophen.htm
- [52] **El abbouni A** 2012 : Prise en charge des intoxications au paracétamol : Etude rétrospective sur cinq ans dans le Service des Urgences adultes du CHU de Nancy ;

Thèse de doctorat ; p 21. Université de lorraine

[53] **J.Descotes,F.Testud,P.Frantz** . Les urgences en toxicologie 1992 p. 202-203

[54] **Viel E, Eledjam JJ**. Pharmacologie des AINS et indications pour l'analgésie périopératoire. In : Anesthésie-Réanimation. Conférences d'actualisation. Société française d'anesthésie réanimation. Paris : Elsevier, 2000 : 323-33.

[55] **Wirtha HP, Hürlimann R, Flückigera T**. Les AINS et les inhibiteurs de la COX-2 : principaux effets indésirables. Forum Med Suisse 2006 ; 6 : 284-90.

[56]] **Burian M, Geisslinger G**. COX-dependant mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. Pharmacol Ther 2005 ; 107 : 139-54.

[57] **James LP, Letzig LG, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA, et al**. Pharmacokinetics of acetaminophen protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. Drug Metab Dispos 2009 ; 13 : sous presse

[58] **Guzy J, Chovanová Z, Mareková M, Chavková Z, Tomeèková V, Mojghová G, et al**. Effect of quercetin on paracetamol-induced rat liver mitochondria dysfunction. J Biol Bratislava 2004 ; 59 : 399-403.

[59] **Campbell A, Chapman M**. Handbook of poisoning in dogs and cats, Blackwell science 2000. Dogs. Paracetamol 205-211

[60] **Packer L, Tritschler HJ and Wessel K** (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 22, 359-378.

[61]. **MacNaughton SM** . Acetaminophen toxicosis in a Dalmatian. Can Vet J 2003, **44** (2), 142-144.

[62]] **Rumack BH, Matthew H**. Acetaminophen poisoning and toxicity. Pediatrics 1975;55:871-6.

[63] **Gaunt SD, Baker DL, Green RA** . Clinicopathologic evaluation of N-acetylcysteine therapy in acetaminophen toxicosis in the cat. Am J Vet Res 1981, **42** (11), 1982-1984.

[64] **Fernandez FR, Davies AP, Teachout DJ et al** . Vitamin K-induced Heinz body formation in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 1984, **20**, 711-720.

[65] **Harvey JW, Sameck JH, Burgard FJ** . Benzocaine-induced methemoglobinemia in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1979, **175** (11), 1171-1175.

- [66] **Borg J, Reeber A. (2004).** Le stress oxydant, In *biochimie métabolique*, les cours du PCEM. Coll Ellipse, pp 217-234.
- [67] **Liao YP, Hung DZ, Yang DY .** Hemolytic anemia after methylene blue therapy for aniline-induced methemoglobinemia. *Vet Hum Toxicol* 2002, **44** (1), 19-21.
- [68] **Caldin M, Carli E, Furlanelle L et al .** A retrospective study of 60 cases of eccentrocytosis in the dog. *Vet Clin Pathol* 2005, **34** (3), 224-231
- [69] **Houston DM, Myers SL :** A review of Heinz-Body anemia in the dog induced by toxins. *Vet Hum Toxicol* 1993, **35** (2), 158-161.
- [70] **Tremellen K (2008)** Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 14, 243-258.
- [71] **Faivre Cl, Lejeune R, Staub H, Goetz P. Zingiber officinale Roscoe.** *Phytotherapie*, 2006 ; 4(2) : 99-102.
- [72] **Mac Laren D. (2007).** Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier
- [73] **Pincemail. J, Bonjean. K, Cayeux. K, Defraigen J O. 2002.** Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239
- [74] **Valko. M, Rhodes. C J. B, Moncol. J, Izakovic. M, Mazur. M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
- [75] **Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1989).** Free radicals in biology and medicine. 2nd edition. Clarendon Press, Oxford. 543p.
- [76] **Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J. (2003).** Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris. 317p1457-1467.
- [77] **Toussaint Lagrost J.F., Jacob. M.P. L, Chapman. J.(2003) -** L'athérosclérose: physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques. Ed.Elsevier Masson, Paris. 776 p.
- [78] **Comhair S.A.A., Erzurum S.C. (2002).** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **283(2)**: 246-255

- [79] **Shimizu H** 2004 : Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population. In: Manallah A 2012 : Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *olea europaea L* ; p 8. Université Ferhat Abbas-Sétif
- [80] **Romão1, Tovar J, Fonseca SG, Moraes RH, Cruz AK, Hothersall JS, Noronha-Dutra AA, Ferreira SH, Cunha FQ.** Glutathione and the redox control system trypanothione /trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. against nitrosothiol-induced cytotoxicity *Braz J Med Biol Res*, 2006 ; 39(3) : 355-363.
- [81] **Reichel F-X. (2010).** Guide pratique de toxicologie. 2e édition. De Boeck, Bruxelles. 202, 203, 148.
- [82] **Serdar Z, Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A.** Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem*, 2006 ; 39(8) : 794-803
- [83] **Powers SK and Lennon SL** (1999) Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 58, 1025-1033
- [84] **Renuka B., Rajurkar Z.H., Govind T.G.,** 2003- Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*. Vol. 85(9): 1355-1360.
- [85] **Zhihua. J, Elais S.J., Ying M., Linda. J, Jinming S., Siqi Z., Shujun. L, Ruiying. W, Tianzhu Z., Ganglin Y., Junqiu. L, Jianong S., Guimin. L.** 2004- Expression of selenocysteine-containing glutathione S-transferase in *Escherichia coli*. *Biochem and Bioph Res Commun*. Vol. 321(1): 94-101.
- [86] **Powers SK and Lennon SL** (1999) Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 58, 1025-1033.
- [87] **Rahman K.** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, 2007 ; 2(2) : 219–36.
- [88] **Deaton CHM, Marlin DJ.** Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract*, 2003 ; 2(3) : 278-91.
- [89] **Pryor WA** (2000). Vitamin E and heart disease : basic science to clinical intervention trials. *Free Rad Biol Med*, 28 : 141-64.
- [90] **Gey KF** (1998). Vitamin E plus vitamin C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors*, 7 : 113-74.

[91] **Kristoffer T. Cumming¹, Truls Raastad¹, Geir Holden¹, Nasser E. Bastani², Damaris Schneeberger¹, Maria Paola Paronetto³, Neri Mercatelli³, et al.** Effects of vitamin C and E supplementation on endogenous antioxidant systems and heat shock proteins in response to endurance training 2014 | Vol. 2 | Iss. 10 | e12142 Page 3

[92] **Stahl W, Sies H** (2002). Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 15(5): 291-296.

[93] **Rao.A.V et Rao.L.G.**(2007) .Carotinoids and human health .Pharmacological research , vol . 55,n° 3,pp. 207-216.

[94] **Van Stijn M F ;Ligthart-Melis GC et al.** 2008: Antioxydant enriché entéral nutrition and oxidative stress after major gastrointestinal tract surgery. In: Krim M 2014: L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats ; p 13. Université Badji Mokhtar-Annaba.

[95] **Singh H., Sodhi S., Kaur R.** (2006, Dec) Effects of dietary supplements of selenium, vitamin E or combinations of the two on antibody responses of broilers. *Br. Poult Sci*,47 (6): 714-719.

[96] **Marie-Françoise et Christopher Ardin.** *Guide des additifs alimentaires.* Avril 1988 ; Editions de Vecchi, pages 127 à 130

[97] **Poulin .JE, Cover. C, Gustafson. Mr, Kay .Mb.** (1996). Vitamin E prevents oxidative modification of brain and lymphocyte band 3 proteins during aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93 : 5600-3.

[98] **Bourgeois C.** (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Editions TEC & DOC, Paris. 708p

[99] **STAHL, W., SIES, H.** *Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids.* Diabetes, 1997, vol 46 (2), p S14-S18.

[100] **Center, S. A.** (2004). Metabolic, antioxidant, nutraceutical, probiotic, and herbal therapies relating to the management of hepatobiliary disorders. *Vet. Clin. Small Anim.* 34, 67-172.

[101] **Ruiz, J.A., Guerrero, L., Arnau, J., Guardia, M.D., & Esteve-Garcia E.** (2001). Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamine E or β -carotene as antioxidants and different supplement fats. *Poult. Sci*, 80, 976-982.

- [102] Sakouhi, F., Harrabi, S., Absalon, C., Sbei, K., Boukhchina, S., Kallel, H. (2008). α -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives: Changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*, **108** :833-839.
- [103] Cachia O, Léger C, Descomps B. (1998). Monocyte superoxide production is inversely related to normal contents of alpha-tocopherol in low-density lipoprotein : physiological implications. *Atherosclerosis*, 138 : 263-9.
- [104] Cynamantta, Isenberg. JN, Nguyeae . CH, Erythrocyte malondialdehyde statu. *Clin Chin Acta* 1985 ; 151-169- 76.
- [105] Beutler E, Durgen O, Kelly BM. (1963). *J. Lab . Clin. Med*, 51(5) :882-8. World Health Organization 2nd ed, New York, springer- Verlag 1989.
- [106] Ellman G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groupe .*Archives of Biochemistry and Biophysics* 82 ,70-77 endocrinology that relate to the influence of dietary factors on the pathogenesis of prostate cancer. *Eur Urol* 35 ,443-455.
- [107] Alin .P ; Mannenvik. B & Jonvall, H(1985)
- [108] Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol* ; 105 : 121-127
- [109] Marklund .S, Marklund. G .Involument of the superoxyde anion radical in the auto oxidation of pyrogallol and convencent assay for superoxyde dismutase *EUR. J. Biochim* 1974 ,47 ; 469-74.
- [110] Jain sk, Mohamadas N, Clark. MR, Shobel. The effet of MDA on product of lipid peroxidation on the deformabilites debohation and S1 survival of erythrocyte bay heamatol . 1983 ; 53 :247-52
- [111] Hall R., Malia R.G. 1991. Basic haematological practice .In: Medical laboratory haemtology (Eds. Hall R. & Malia R.G.). Butterworthe-Heinemann Ltd, oxford, 84-112
- [112] Pearson T.C. (1991) Apparent polycythaemia .*Blood Rev* 5 :205-213
- [113] Fisher-Wellman K, Bloomer R.J. Acute exercise and oxidative stress : a 30 year history. *Dynam. Med.*, 2009, **8**, 1-25.
- [114] Merlot.E. *Conséquences du stress sur la fonction immunitaire chez les animaux d'élevage INRA Prod. Anim.*, 2004, 17 (4), 255-264
- [115] Dhabhar F.S., McEwen B.S., 2001. Bidirectional effects of stress and glucocorticoid hormones on immune function: possible explanations for paradoxical observations. In: Ader R., Felten D.L. and Cohen N. (eds), *Psychoneuroimmunology*, 301-338. Academic Press, New York.

[116] **El-Demerdash F.M., Attia A.A., Elmazouly R.H.** (2012). Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. **47(12)**: 1948-1954.

[117] **J. Haleng (1), J. Pincemail (2), J.O. Defraigne (3), C. Charlier (4), J.P. Chapelle (5)**

Le stress oxydant Rev Med Liege 2007; 62 : 10 : 628-638.

[118] **James LP, Letzig LG, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA, et al.** Pharmacokinetics of acetaminophen protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. *Drug Metab Dispos* 2009 ; 13 : sous presse. 14. Guzy J, Chovanová Z, Mareková M, Chavková Z, Tomečková V.

[119] **Josiane Cillard , Pierre Cillard.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations Josiane *Laboratoire de biologie cellulaire et végétale, UPR 3891 «Groupe de Recherche en Thérapeutique Anticancéreuse, GRETAC », Faculté de pharmacie, Rennes/ocl.2006.6666.*

[120] **Defraigne J O, Pincemaile J** (2008). Stress oxydant et anti oxydant : mythes et réalités. *Rev Med Liège (Belgique)* 63: 10-19.

[121] **Manawadi S.I., Kaliwal B.B.** (2010). Methomyl-induced alteration in mice hepatic-oxidative status. *Inter. J. Biotech. App.* **2(2)**: 11-19.

[122] **Z. Mellouk a, M. Agustina b, M. Ramirez b, K. Pena b, J. Arivalo b** .Effets thérapeutiques de la supplémentation en huile de krill (*Euphausia superba*) sur les marqueurs du stress oxydant et des dommages de l'ADN chez des rats soumis au régime cafétéria. *Anccan-1012; No. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie xxx (2016) xxx-xxx .*

Titre : L'effet préventif de la vitamine E vis-à-vis l'Hématotoxicité induite par le paracétamol

**Nature du diplôme : Master
Domaine : Science de la nature et de la vie
Option : Toxicologie et santé**

Le sang est un tissu fluide, composé de plasma et éléments figurés, et il assure plusieurs fonctions. L'hématotoxicité manifester leur activité vis-à-vis les éléments de sang, elle peut être créée par différents agents comme les médicaments (paracétamol).

En cas de surdosage le paracétamol provoque une hématotoxicité par leur métabolite actif toxique (NAPQI) qui induit un stress oxydatif. Ce stress oxydatif définit comme étant un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par le système antioxydant enzymatique et non enzymatique. La vitamine E est l'une de ces dernières qui joue un rôle antioxydant majeure contre les dommages oxydatifs.

Cette étude a été axée sur l'examen de l'effet préventif de la vitamine E contre l'hématotoxicité de paracétamol, les résultats révèlent une altération dans la fonction hématologique par augmentation des paramètres sanguins et une perturbation de statut oxydant chez les rats toxiques par paracétamol avec diminution des taux de GSH et GPX et augmentation de SOD, CAT, GST et MDA.

Nos résultats suggèrent que la vitamine E peut réduire la toxicité de paracétamol, par la conservation des taux normaux des paramètres sanguins et l'ajustement de balance oxydative par l'augmentation des taux de GSH et GPX et la diminution de l'activité de SOD, CAT, GST et la concentration de MDA.

Mots clés : Sang, Hématotoxicité, paracétamol, stress oxydatif, vitamine E

Laboratoire de recherche : Laboratoire d'immunologie de faculté des sciences de la nature et de la vie. université des Frères Mentouri, Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme Zaama Djamilia (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : BOULKANDOUL R (MA- UFM Constantine).

Examineurs : AMRANI A (MC- UFM Constantine).

TOUR H (MA- UFM Constantine).

