

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Sciences
De la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire De Fin d'études Pour L'obtention du diplôme
Des études Supérieures (D.E.S)

جامعة محمد السادس بن باديش
كلية علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم الجرد : 1569

Option : Biochimie

Bc.07/20

Thème

Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur le
système immunitaire chez les souris Albinos NMRI swiss

Membres de Jury :

Examineur : M^{em}. Bouhafs Leila

Encadreur : D^r. Kebeiche Mohamed

Présenté par :

Bouhroum Soumia

Bitat Loubna



Année Universitaire : 2009-2010

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout d'abord DIEU qui nous a donné le courage et la volonté pour mener ce travail à terme, nos remerciements sont aussi adressés à:

Dr. Kebeiche Mohamed encadreur, nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude, pour l'assistance pleine et entière qu'il n'a cessé de nous apporter tout au long de l'élaboration de ce projet de fin d'études. Nous portons ici le témoignage de notre reconnaissance envers sa modestie, sa compétence, son dévouement et son souci du travail bien fait. Nous tenons aussi à le remercier pour sa disponibilité et ses conseils précieux,

Nous remercions également tous ceux qui nous aident en courage de près ou loin durant la réalisation de ce projet particulièrement: Au membre de laboratoire central de Taher qui nous ont aidés de réaliser les analyses de sang (FNS). Sans oublier les personnels du laboratoire de biologie de Jijel ainsi Mr Bahri. Les deux étudiants de master: Ismail et Ahmad.

Nous ne serions bien sûr jamais là sans l'aide et le soutien de nos familles.

Merci à nos parents pour avoir toujours cru en nous.

Tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Soumia

Loubna.

Introduction.....	1
Partie théorique	
Chapitre I: Les hydrocarbures aromatiques polycycliques.....	2
1-Définition.....	2
2-Historique.....	2
3-L'origine et distribution.....	3
4-Classification du HAPs.....	4
4-1-Selon la cancérogénicité des HAPs.....	4
4-2- Selon le nombre de cycle.....	6
4-3- Selon la toxicité.....	6
5- Les propriétés physico- chimiques des HAPs.....	8
5-2- Les propriétés chimiques.....	8
5-3- Méthode et dosage.....	11
6-Toxico-cinétique des HAPs.....	12
6-1-Vois d'exposition.....	12
6-2- Vois d'absorption et distribution des HAPs.....	13
6-3- Métabolisme et mécanisme d'action des HAPs.....	14
6-4- L'élimination des HAPs.....	19
7-2- Effet cancérogenèse et mutagenèse.....	19
7-3- Effets immunologiques.....	20
7-4- Les effets neurotoxiques.....	21
7-5- Effets hépatiques.....	21
7-6- Effets sur le système circulatoire.....	22
8- Etude de quelques HAPs.....	22
8-1- Le Benzo (α) pyrène.....	22
8-2- Le Naphtalène.....	23
Chapitre II: Le système immunitaire.....	23
1-L'immunologie.....	23
2-Le système immunitaire.....	26
2-1- Définition.....	26
2-2- le rôle du système immunitaire.....	26
2-3- L'anatomie du système immunitaire.....	26
3- La réponse immunitaire.....	26
3-1- L'antigène.....	26
3-2- L'antigénicité.....	33
3-3- L'immunogénicité.....	33
3-4- L'anticorps.....	33
3-5- Les épitopes.....	33
3-6- Les paratopes.....	33
4- Les types des la réponse immunitaire.....	34
4-1- L'immunité humorale.....	34
4-2- L'immunité cellulaire.....	34
5- Méthode d'étude de l'immuno-modulation.....	35
5-1- L'évaluation de l'immunité humorale.....	35
5-2- Quelques méthodes pour évaluée l'immunité humorale.....	35
5-3- L'évaluation des populations leucocytaires.....	35
Partie pratique: Effet immuno-modulateur du naphtalène	
1- Matériel et méthodes.....	40
1-1- Matériel.....	40
1-2- Méthodes.....	43
2- Résultats.....	46
2-1- Evaluation des Leucocytes.....	46

Discussion.....	53
Conclusion.....	55
Bibliographie.....	56

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification par le CIRC et de quelques HAPs.....	5
Tableau 2: Classification des HAPs selon la toxicité.....	7
Tableau 3: Les propriétés physiques des HAPs.....	9
Tableau 4: Numération formule sanguin chez les témoins.....	46
Tableau 5: Numération formule sanguin chez les intoxiqués.....	46
Tableau 6: Evaluation du nombre des leucocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	47
Tableau 7: Evaluation du nombre des leucocytes chez les témoins et les intoxiqués après six jours de traitement.....	47
Tableau 8: Evaluation du nombre des lymphocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	48
Tableau 9: Evaluation du nombre des neutrophiles chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	49
Tableau 10: Evaluation du nombre des basophile chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	49
Tableau 11: Evaluation du nombre des monocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	50
Tableau 12: Evaluation du nombre des éosinophiles chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	51

Liste des figures

Figure 1: Caractéristiques structurales des HAPs ayant un potentiel cancérigène.....	6
Figure 2: Présentation des 16 HAPs classés prioritaires par LSEPA.....	6
Figure 3: Formules structurales des HAPs.....	11
Figure 4: Schéma général d'activation des substances génotoxiques.....	14
Figure 5: Principales voies de métabolisme du B (a) p.....	15
Figure 6: Voie des CYP450.....	16
Figure 7: Isomères du Benzo (a) pyrène – 7, 8 dihydrodiol – 9, 10 – époxyde.....	17
Figure 8: Formation du radical cation.....	18
Figure 9: Voie des quinones.....	19
Figure 10: Benzo (a) pyrène.....	23
Figure 11: Naphtalène.....	24
Figure 12: Administration par gavage gastrique.....	41
Figure 13: Prélèvement sanguin par ponction oculaire.....	42
Figure 14: Prélèvement sanguin au niveau des veines.....	42
Figure 15: Evaluation du nombre des leucocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement	47
Figure 16: Evaluation du nombre des lymphocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement	48
Figure 17: Evaluation du nombre des neutrophiles chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement	49
Figure 18: Evaluation du nombre des basophiles chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement	49
Figure 19: Evaluation du nombre des monocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement	50
Figure 20: Evaluation du nombre des éosinophiles chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.....	51

Liste des abbreviations

a	années
Ac	Anticorps
ACR	Aldo - Céto- Réductases
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
Ag	Antigène
B (a) p	Benzo (a) pyrène
B	Bourse
BCR	Récepteur du lymphocyte B
BPDE	Benzo (a) pyrène -7, 8-dihydrodiol -9, 10- époxyde
C	Carbone
CD	Classe différentiation
CIRC	Centre de Recherche sur le Cancer.
CC- MS	Chromatographie Couplée a un Spectromètre de Masse.
CMH	Complexe majeure d'histocompatibilité
CPA	Cellule Présente l'antigène
CYP 450	Cytochromes Peroxyde 450
Cu⁺	Cuivr
DD	Dihydrodiol Déhydrogénase
EH	Epoxyde hydrolase
EPA	Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis.
Fe⁺²	Fère
FNS	Numération formule sanguin
GC- MS	Gazeuse Couplée à un Spectromètre de Masse
HACA	Hydrogène Anstraction - Carbone Addition
HAPs	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
H	Hydrogène
H₂SO₄	Hydroxytétraoxyde de Sulfure
HPLC- FLUO	Chromatographie Liquide Haute Performance Fluor métriques
Ig	Immunoglobuline
INF-α	Interféron
IL	Interleukine
IARC	International Association for Reseach on cancer
j	jour
Kg	Kilogramme
L	Liter
Log	Logarithme
Mg	Milligramme
m	moins
NK	Natural Killer
NO₂	Dioxyde d'azote
Ng	Nanogramme
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
OH	Hydroxide
PF	Point Fusion
PM	Poids Moléculaire
POP	Polluants Organiques Persistants
SO₂	Dioxyde de Souffre

Tc	Lymphocyte T cytotoxique
3-OHP	3- hydroxybenzo (a) pyrène
TCR	Récepteur du lymphocyte T
Th	Lymphocyte T helper
Tr	Lymphocyte T régulateur
UE	Union Européenne
µg	Microgramme
µm	Micromètre
1-OH. BAP	3- hydroxybenzo 'a) pyrène

Introduction

L'atmosphère contient plus de 2800 composés chimiques dont plusieurs sont toxiques pour l'homme, parmi ces composées, les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs) qui sont considérés comme une des principales familles de polluants atmosphériques susceptibles d'entraîner des cancers (Grimmer et al., 1991).

Les HAPs sont générés pendant la pyrolyse ou la combustion incomplète de matières organiques, donc androgéniques. Ces procédés comprennent l'incinération des déchets agricoles, la combustion du bois, du charbon ou des ordures ménagères mais également le fonctionnement des moteurs à essence ou des moteurs diesels.

Les HAPs sont rarement présent à très fortes concentrations dans l'environnement et se présentent particulièrement sous forme de mélange plus complexe (USEPA, 1993). Les HAPs sont biodégradés dans le sol. Dans les eaux la plupart des HAPs sont adsorbés sur les sédiments. Ils sont également produits lors de la combustion de cigarette (Smith et Harrison, 1996).

La population humaine est donc généralement exposée à un mélange de HAPs et ceci quelle que soit la voie d'exposition (orale, pulmonaire et cutanée). Pour la population générale. La principale source d'exposition aux HAPs est l'alimentation ainsi qu'à travers l'inhalation le plus souvent à ces HAPs renferment ou non d'autres substances chimiques et diverses particules (USEPA, 1993).

Les HAPs sont des composés organiques constitués de carbone et d'hydrogène, ils possèdent deux ou plusieurs cycles benzéniques fusionnés. Cette famille chimique compte plus d'une centaine de composés, dont seize HAPs sont considérées comme prioritaires en raison de leurs effets préoccupants sur la santé publique (USEPA, 1984).

Toute fois, les effets toxicologiques de tous les HAPs sont imparfaitement connus. Toutefois, les données expérimentales disponibles chez l'animal ont montré que certains HAPs pouvaient induire spécifiquement de nombreux effets sur la santé tels que des effets systémiques (effet immunologiques, hépatiques, hématologiques et développement d'athérosclérose), des effets sur la reproduction ainsi que des effets génotoxiques et cancérigènes (Biosset et Narbonne, 1996).

Compte tenu de l'effet toxique occasionné par le naphthalène, le plus simple HAP, nous nous sommes intéressés par l'évaluation de l'effet immuno-modulateur par quelques paramètres de ce toxique chez les souris *Albinos NMRI Swiss*. Pour ce faire nous avons procédé comme suit : *A priori*, les animaux sont traités par une mono-dose quotidienne de 50 mg/kg de souris pendant 6 jours ; et *à fortiori*, une étude immunologique est réalisée afin d'évaluer l'impact toxique sur le système immunitaire des souris.

Partie Theorique

1. Définition:

Les hydrocarbures polycycliques aromatiques: communément appelés HAPs (François, 2000). Ils sont des substances toxiques d'origine naturelle et anthropique qui se forme au cours de processus de pyrolyse ou de combustion incomplète des matières organiques: incendies, volcans, gaz d'échappement et rejet d'hydrocarbures pétroliers dans les eaux (Briefert et Perraud, 2003).

Les HAPs sont une famille de composés organo-chimiques, constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène de formule C_nH_m dont la structure des molécules comprend de plusieurs cycles aromatiques (2 à 10) non substitués et condensés (Lemiere et al. 2001). Ces composés d'hydrocarbures sont composés d'une molécule obtenue suite à la fusion d'un nombre variable de cycle benzénique. Le plus simple d'entre eux est le naphthalène ($C_{10}H_8$), le plus complexe le coronène ($C_{24}H_{12}$) (Sheu et al., 1997).

Les HAPs se rencontrent tant dans les biotopes terrestres qu'aquatiques, aussi bien continentaux qu'océaniques. Ils constituent les principaux hydrocarbures carcinogènes dont les représentants les plus communs et les plus redoutables sont les benzopyrènes (François, 2000).

2. Historique

Depuis de nombreuses années, les HAPs sont très étudiées car ce sont des composés présents dans tous les milieux environnementaux et qui montrent une forte toxicité. D'ailleurs, c'est une des raisons qui a conduit à leur ajout dans la liste des polluants prioritaires par l'agence de protection de l'environnement des États-Unis (EPA US Environmental Protection Agency), dès 1976. Les HAPs font par ailleurs l'objet de recherches actives chez les astrophysiciens et iatrochimistes, depuis qu'Alain Eger et Jean-Lou Pugetles ont proposés en 1984 comme responsables de l'émission interstellaire des bandes infrarouge entre 3 et $15\mu\text{m}$ (François, 2000)

Aujourd'hui, ils font également partie des listes de l'OMS (Organisation mondiale de la santé) et de la communauté européenne. Bien qu'ils ne soient pas cités dans la liste déclaratoire de la Convention de Stockholm portant sur les polluants organiques persistants (POP), ils sont répertoriés en tant que tels dans le protocole d'Aarhus (Marc, 2007)

Les émissions de HAPs (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) présentées couvrent les 4 HAPs suivants : benzo (a)pyrène, benzo (b) fluoranthène, benzo (k) fluoranthène et indeno (1, 2,3-cd) pyrène. Ces 4 HAPs sont ceux définis par le Protocole d'Aarhus relatif aux POP

(Polluants Organiques Persistants) de 1998 et par le règlement n°850/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 Avril 2004. Les HAPs se forment dans des proportions relativement importantes lors de la combustion et tout particulièrement celle de la biomasse qui s'effectue souvent dans des conditions mal maîtrisées (par exemple en foyer ouvert) dans le secteur résidentiel. Tous les secteurs contribuent à ces émissions dans des proportions variables. Les deux principaux secteurs qui prédominent sont:

- le résidentiel/tertiaire : 74% des émissions totales en 2007 (combustion de la biomasse),
- le transport routier : 20%, en particulier les véhicules diesel.

Les autres secteurs contribuent faiblement aux émissions (moins de 3%). Sur la période 1990-2005, les émissions ont diminué de 48%. Cette baisse est observée dans l'ensemble des secteurs qui contribuent aux émissions, sauf dans le transport routier. L'évolution des émissions suit d'assez près celle des conditions climatiques, traduisant ainsi le lien entre les émissions et la consommation d'énergie comme le reflète l'année 1991 qui constitue le pic des émissions sur la période. La pénétration d'appareils de combustion de biomasse plus performants dans le secteur domestique devrait conduire à réduire progressivement les émissions dans le futur (Marc, 2007).

3. L'origine et distribution

Les HAPs sont en général présents dans l'environnement sous forme de mélanges et largement répartis. Ils se trouvent avant tout dans le pétrole et le charbon ainsi que dans les produits qui en sont issus comme les huiles minérales, les bitumes, les vapeurs émanant des goudrons, les suies mais aussi dans les algues, les bactéries et les plantes supérieures (Briefert et Perraud, 2003)

Les HAPs se forment lors d'une combustion incomplète pratiquement de toutes les substances organiques ou des processus de pyrolyse: on les trouve dans les gaz d'échappement des véhicules automobiles, les principaux composés libérés sont le benzo (a) pyrène, le benzo (k) fluoranthène, le benzo (b) fluoranthène, le benzo (g, h, i) pérylène, le benzo (a) anthracène et le fluorène, et les constituants d'aérosols solides qu'ils contiennent (Rosario et al, 2005).

Ils se trouvent dans les moteurs diesels plus que dans les moteurs à essence (le naphthalène et l'acénaphthalène) (EFSA, 2008a). Ils se trouvent dans les gaz de combustion des foyers domestiques (où la production d'HAPs est favorisée par les températures élevées et les faibles taux d'aération) ainsi que des centrales thermiques où les principaux composés émis sont le phénanthrène, le fluoranthène, le pyrène et le chrysène (EFSA, 2008b).

Les émissions des fours à bois sont de 25 à 100 fois supérieures à celles issues de la production de fours à charbon. Mais également se trouvent dans la fumée de tabac: dans la fumée d'une seule cigarette, on a mesuré 10 à 100 ng de benzo (a) pyrène (Reichl et al., 2004) L'industrie pétrolière: l'extraction, le transport de pétrole et les activités des raffineries, constituent une autre cause importante de pollution de l'air, des eaux continentales et de l'océan par les HAPs ainsi que les procédés industriels d'élaboration du charbon (WHO/IPCS, 1998).

Les HAPs se forment aussi lorsqu'on fait des grillades et lorsqu'on fume du poisson ou de la viande. Des aliments fumés peuvent avoir des teneurs importantes en HAPs; d'après le décret sur la viande, la teneur en benzo(a)pyrène est élevée sur les HAPs dans l'eau potable (EFSA, 2008a & b). Ce HAP est particulièrement cancérigène, qui constitue une substance de référence pour les HAPs, il ne doit pas dépasser 0,03 µg/kg dans les produits de charcuterie et les aliments contenant de la viande (Scientific Committee on Food, 2002).

Les HAPs parviennent dans les sols mais également dans les eaux avant tout par le biais du dépôt de poussières provenant des fumées ou des cendres volantes, sur lesquelles ils sont adsorbés (EFSA, 2008b). Les pollutions du sol par les HAPs se trouvent aussi fréquemment sur les lieux de stockages des huiles minérales, des cokeries ou dans les industries qui exploitent les goudrons (Dias et Vandooren, 2008).

Les huiles et matières grasses, les céréales, les fruits et légumes contribuent en moyenne le plus à l'ingestion des HAPs (SCF, 2002). La présence des HAPs dans les huiles végétales est principalement due au processus de séchage des graines. La teneur en HAPs augmente également lors de la torréfaction et du séchage des graines de café et feuilles de thé (SCF, 2002).

4. Classification des HAPs

Les HAPs peuvent être classés selon plusieurs critères

4.1. Selon la cancérogénicité des HAPs

Les HAPs sont classés par le Centre de Recherche sur le Cancer (CIRC) ainsi que par l'Union Européenne (UE) en se basant sur leur cancérogénicité. Cette classification étant la seule à avoir une valeur réglementaire en milieu du travail en France par exemple (Gaertner et Theriault, 2002).

Des préparations contenant des HAPs des secteurs d'activité sont également classés selon l'UE et le CIRC. Ces classifications sont établies sur la base de données épidémiologiques et le cas échéant d'études in vivo sur l'animal ou in vitro (Gaertner et Theriault., 2002).

❖ **Classification du CIRC (tableau 1)** (Cheu et al, 1997).

□ **Groupe 1:** L'agent ou le mélange soit cancérigène pour l'homme.

□ **Groupe 2:** 2A: L'agent ou le mélange soit probablement cancérigène pour l'homme. 2B : L'agent ou le mélange soit un cancérigène possible pour l'homme.

□ **Groupe 3:** L'agent (le mélange ou le mode d'exposition) soit inclassable quant à sa cancérigénicité pour l'homme.

□ **Groupe 4:** L'agent (le mélange ou le mode d'exposition) n'est probablement pas cancérigène pour l'homme.

❖ **Classification de l'UE (tableau 1)** (Cheu et al., 1997).

□ **Catégorie 1:** Substances et préparations que l'on sait être cancérigènes pour l'homme.

□ **Catégorie 2:** Substances et préparations pour lesquelles, il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut provoquer un cancer ou en augmenter la fréquence.

□ **Catégorie 3:** Substances et préparations préoccupantes pour l'homme en raison d'effets cancérigènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2.

Tableau 1. Classification par le CIRC de quelques HAPs (Mastrangelo et al., 1996).

HAP	CIRC	UE
Benzo (a)anthracène	2B	2
Benzo (a) pyrène	1	2
Benzo(e) pyrène	2B	2
Dibenzo (a, h) anthracène	2A	2
Benzo (b) fluoranthène	2B	2
Benzo(j)fluoranthène	2B	2
Benzo(k)fluoranthène	2B	2
chrysène	2B	2
Indéno(1,2,3,c,d)pyrène	2B	-
naphtalène	2B	-

Il convient de noter que parmi les HAPs classés pour leur cancérogénicité, ne figurent aucun HAPs gazeux mais uniquement des HAPs particulaires. Le B[a]P est le seul HAP à avoir été classé dans le groupe 1 par le CIRC (figure 1), (Bosetti et al, 2007).

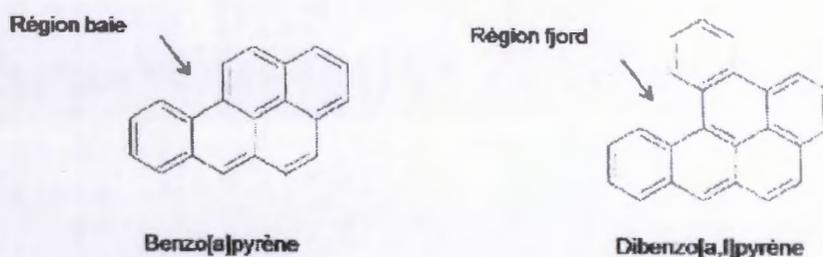


Figure 1 : Caractéristique structurale des HAP ayant un potentiel cancérogène

4. 2. Selon le nombre de cycle

Selon le nombre de cycle, les HAPs sont classés en HAPs légers (jusqu'a 03 cycles) et HAPs lourds, au delà de 03 cycles, (figure 2), (Marc, 2007).

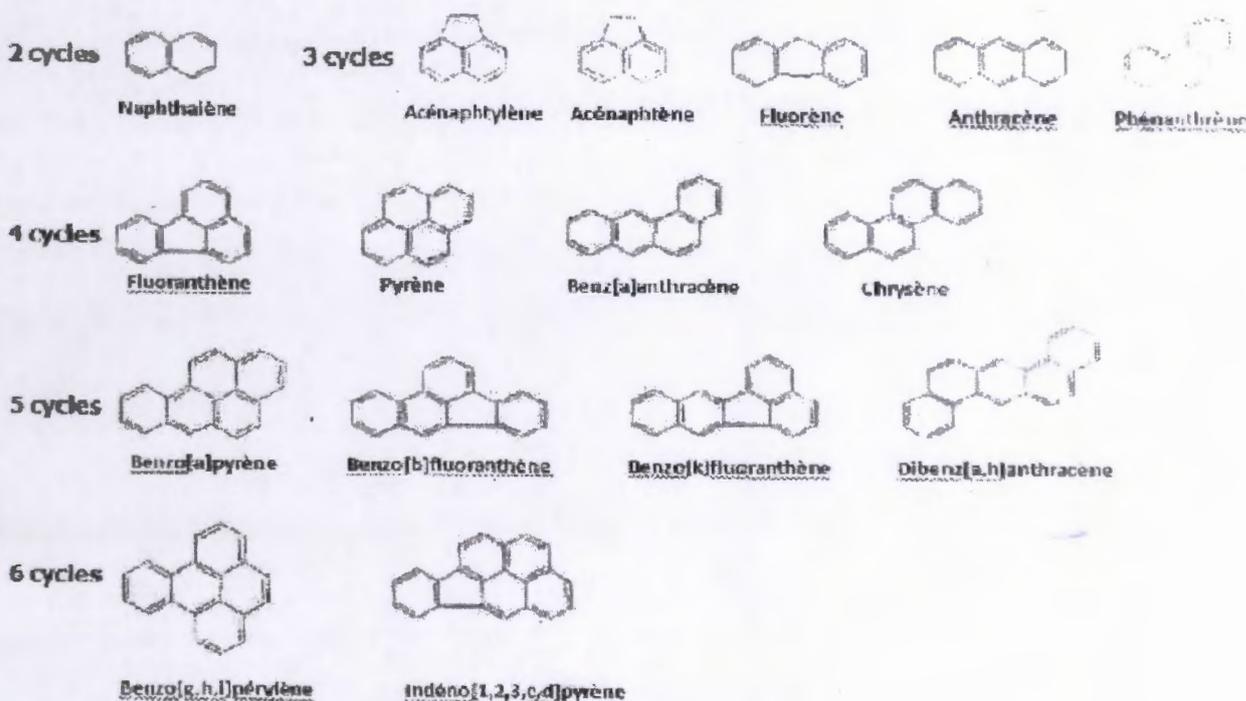


Figure 2 : Présentation des 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA

4.3. Selon la toxicité

L'une des raisons ayant conduit au classement des HAPs dans la liste des polluants prioritaires de l'USEPA est le caractère toxique de certains d'entre eux. Ceux sont des molécules biologiquement actives qui, une fois absorbées par les organismes, se prêtent à des réactions de transformation sous l'action d'enzymes conduisant à la formation d'époxydes et/ou de dérivés

hydroxylés. Les métabolites ainsi formés peuvent avoir un effet toxique plus ou moins marqué en se liant à des molécules biologiques fondamentales telles que les protéines, l'ARN, l'ADN et provoquer des dysfonctionnements cellulaires (tableau 2), (Pouget et al., 2000), (Pitts et al., 1978) .

Tableau 2 : Classification des HAPs selon la toxicité.

Toxicité des HAPs				
HAPs	Toxicité	Cancérogénèse	Mutagenèse	Rapporté dans
Naphtalène	Modérée	Non confirmée		EPA-TSCA
Acénaphthène	Modérée		Constatée	EPA-TSCA
Acénaphthylène	Modérée		Constatée	EPA-TSCA
Fluorène	Faible		Constatée	EPA-TSCA, IARC
Phénanthrène	Modérée		Constatée	EPA-TSCA, IARC
Anthracène	Modérée		Constatée	EPA-TSCA, IARC
Fluoranthène	Modérée	Non confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Pyrène	Modérée	Non confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Benzo(a)anthracène	Elevée	Confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Chrysène		Confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Benzo(b)fluoranthène		Confirmée	Constatée	IARC
Benzo(k)fluoranthène		Confirmée	Constatée	IARC
Benzo(a)pyrène	Elevée	Confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Benzo(e)pyrène		Non confirmée	Constatée	IARC
Indeno(1,2,3-cd)pyrène		Confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC
Benzo(g,h,i)pérylène		Non confirmée	Constatée	IARC
Dibenzo(a,h)anthracène	Elevée	Confirmée	Constatée	EPA-TSCA, IARC

5. Les propriétés physico-chimiques des HAPs

5.1. Propriétés physiques

Les HAPs sont semi volatils (point d'ébullition compris entre (200 et 500 °c) et se présentent à l'état pur sous forme de solide (à 20 °c) ou de liquide plus ou moins visqueux (leur viscosité à des températures plus élevées) (Lumière et al., 2001).

La solubilité des HAPs dans l'eau est faible pour les légers (1 à 3 mg/l), voire très faible pour les plus lourds (1 µg/l à 1 mg/l), cette dernière diminue lorsque le poids moléculaire augmente. (Lumière et al., 2001)

Les HAPs ont des propriétés hydrophobes, ils sont lipophiles et solubles dans nombreux solvants organiques, ainsi ils sont potentiellement bio accumulés et concentrés dans les sols et dans les sédiments des cours d'eau ainsi que dans les plantes et à travers la chaîne nutritionnelle (Bliefert et Perraud, 2003).

On trouve des HAPs non dissous, adsorbés sur les sédiments et les composés en suspension et également en solution, dans presque toutes les différentes catégories d'eau (Shuttleworth, 1995).

La persistance des HAPs augmente avec le nombre de cycles de la molécule, par exemple le naphthalène et les composés de faible poids moléculaire, étant plus solubles et plus volatils sont peu persistants et donc peu bioaccumulables, par exemple, la demi-vie dans les sols du benzo (k) fluoranthène est de plusieurs années (jusqu'à 9 selon les sources) alors que celle du fluoranthène est de 1 à 2 mois (Shuttleworth, 1995).

La densité des HAPs est généralement supérieure à 1 ils sont immiscibles à l'eau. Les HAPs sont généralement biodégradables dans les sols, les molécules les plus légères étant les plus rapidement dégradées, le milieu doit tout fois être suffisamment aérobie, ils peuvent être fixés par la matière organique des sols. (Bliefert et Perraud, 2003).

Les valeurs de coefficient de partage octano /eau ($\log K_{ow}$) pour les HAPs usuels sont comprises entre 3 et 7 (non polaires ou apolaires, les points de fusion et d'ébullition élevés). (Lumière et al., 2001).

Le tableau 3 présente les propriétés physiques des HAPs (Shuttleworth, 1995). P_e = point d'ébullition, j = jours, m = mois, a = années), PM = poids moléculaires et P_f = point de fusion.

5.2. Propriétés chimiques

Les HAPs de base sont le benzène qui comprend un anneau à six atomes de carbone, chacun relié à l'un de ses voisins par une double liaison et un atome d'hydrogène (C_6H_6), ils contiennent de 2 à 10 cycles benzéniques ; le naphthalène (2 cycles), l'anthracène (3 cycles), le

chrysène et le pyrène (4cycles) ...ext, (figure 3), (Doonaert et Pichard , 2003) . Dans l'atmosphère, les HAPs de 2 ou 3 cycles sont sous forme gazeuse, alors que les HAPs de 4à6 cycles sont sous forme particulaire dont 70% sont adsorbés sur des particules ultrafines (< 0,5µm) (Demaio et Corn.,1966), certains HAPs de 3 et 4 cycles (anthracène , phénanthrène , pyrène , fluoranthène) se retrouvent à la fois dans la phase gazeuse et dans la phase particulaire (Sheu et al., 1997).

Tableau 3 : Les propriétés physiques des HAPs

HAPs	PM	Solubilité dans l'eau à 25°C (en mg/l)	Pf(°c)	Pe(°C)	densité	Coefficient de partage octano/eau (log kow)	Demi-vie dans les sols
naphtalène	128	31,7	80	218	1,02	3,37	20-50j
Fluorène	166	1,68	114	298	1,2	4,18	30-60j
phénanthrène	178	1	101	338	1,18	4,46	2-200j
anthracène	178	0,045	215	340	1,25	4,5	2-20m
fluoranthène	202	0,206	107	384	1,20	4,9	30-60j
pyrène	202	0,132	151	396	1,27	4,88	1-5a
Benzo(a)panthracène	228	0,0094	435	438	1,27	5,63	1-3a
chrysène	228	0,0018	258	441	1,27	5,63	1-3a
Benzo(b)fluoranthène	252	0,0015	167	487	1,27	6,04	1-2a
Benzo(k)fluoranthène	252	0,0080	217	481	-	6,21	2-6a
Benzo(a)pyrène	252	0,0016	178	496	1,35	6,06	2-20m
Dibenzo(ah)anthracène	278	0,0050	263	498	1,28	6,86	1-2a
Benzo(ghi)pérylène	276	0,0007	278	500	1,3	6,78	1-2a
Indéno(123cd)pyrène	276	0,0002	164	505	1,07	6,58	1-2a

Le nombre des isomères augmente considérablement avec le nombre de cycle aromatique, ils peuvent être alkyles, les HAPs sont des substances plus colorées et cristallines a température ambiante (Jean, 1994).

Réactivité des HAPs : dans l'air, ils peuvent réagir avec les ultra-violets et avec d'autres polluants comme l'ozone, le dioxyde d'azote (NO₂) et le dioxyde de soufre (SO₂) pour produire

des diones, des nitro- HAPs et des acides sulfoniques. Les composés ainsi formés peuvent être parfois plus dangereux que les composés parents (Nikolaou et al., 1984).

-Photo oxydation des HAPs : la photo oxydation des HAPs produit des composés oxygénés, dont certains sont de probables cancérogènes (Durant et al., 1996), (Lundstedt et al., 2007).

-Réaction avec les oxydes d'azote : conduit à la formation de nitro-HAP. Les composés ainsi formés peuvent être des mutagènes directs (Pitts et al, 1978), (Tokiwa et al., 1994).

-Réaction avec l'ozone : L'ozone réagit facilement avec les HAPs. Plusieurs réactions ont été identifiées, les produits de réaction sont des diacides, des quinones ou des cétones (Pitts et al, 1980). Certains d'entre eux sont des mutagènes directs dans le test d'Amès. C'est le cas du benzo[a]pyrène-4,5-oxide.

□ Réaction avec des composés soufrés : les HAPs peuvent réagir avec SO₂, SO₃ ou H₂SO₄. Les produits de réaction sont des acides sulfoniques et sulfoniques (Jager et Rakovic, 1974), (Tebbens et al, 1966).

La formation des HAPs : après de nombreux travaux de recherche sur le processus de formation des composés aromatiques polycycliques; 02voies réactionnelles importantes sont proposées dans la littérature. La première fait intervenir les radicaux C₅H₅ qui permettent, après réarrangement, l'addition d'un nouveau cycle aromatique sur le compose initial .La seconde voie de formation des HAPs s'effectue par abstraction de l'hydrogène atomique et addition de l'acétylène sur un cycle aromatique, mécanisme couramment nommé (HACA) (Hydrogène Abstraction – Carbone Addition). Notons que l'addition de deux cycles aromatiques permet également la formation de compose poly aromatiques. (Véronique et Mandore, 2008).

Pour les espèces plus lourdes, le processus de formation des HAPs s'effectue principalement par le mécanisme HACA, jusqu'à la production des particules de suie. Ces dernières sont, en effet formées par la réaction de croissance de ces HAPs que produisent des petites particules sphériques (nucléation). Celles-ci augmentent leur volume par coagulation, croissance de surface (adsorption chimique de gaz), et agglomération jusqu'à atteindre la taille de quelques nanomètres (20 à 80nm) (Véronique et Vandooren, 2008)

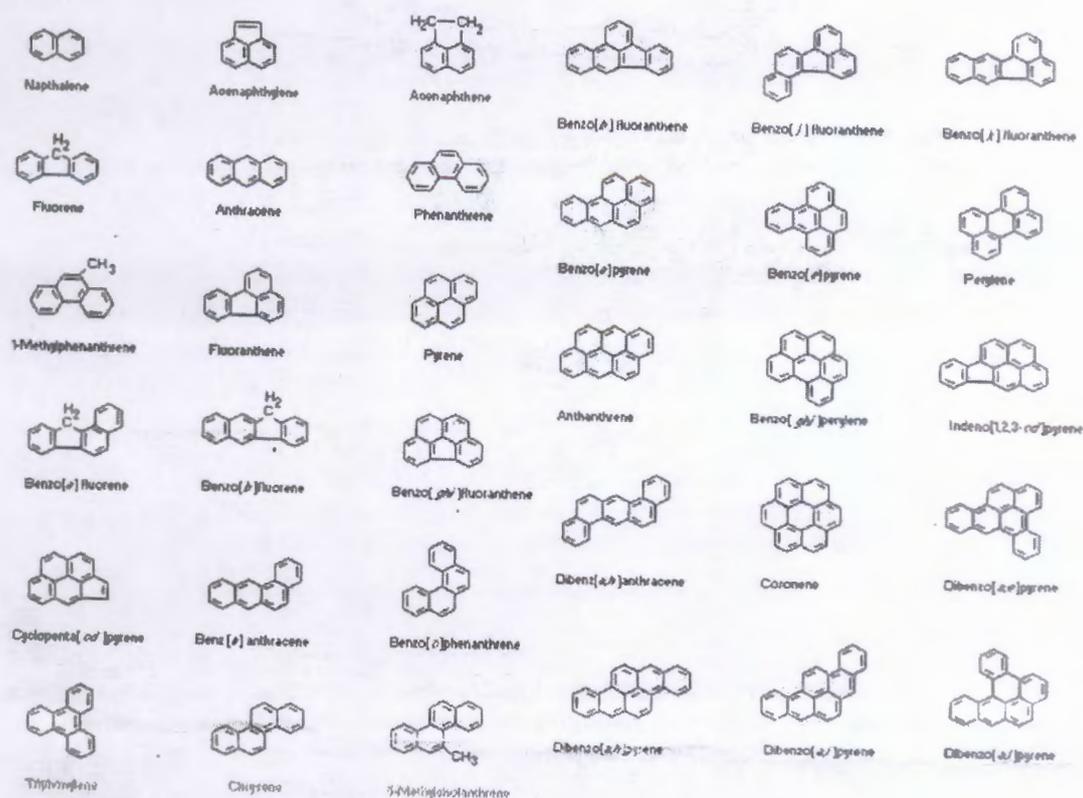


Figure 3 : Formules structurales des HAPs

5.3. Méthode de dosage

5.3.1. Méthode d'analyses : détermination des HAPs par chromatographie d'échange d'ions en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)

5.3.1.1. Domaine d'application: cette méthode permet l'identification et la quantification d'une quarantaine de HAPs dans les quatre grands groupes de matrices suivants: matières solides (sols, sédiments, boues, matières dangereuses solides, etc.), matières liquides aqueuses (eaux en général, rejets liquides, matières liquides aqueuses dangereuses, etc.), matières liquides organiques (huiles, matières liquides organiques dangereuses, etc.) et rejets dans l'air (air ambiant et atmosphère). Le domaine d'étalonnage utilisé pour le dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) se situe entre 0, 1 et 5, 0 ng/μl de HAPs. (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2008).

5.3.1.2. Principe et théorie: la détermination de la concentration des HAPs s'effectue principalement en trois étapes. La première étape consiste à extraire les HAPs à l'aide de dichlorométhane après l'ajout d'étalons de recouvrement (« surrogates »). Dans la seconde étape, il y a transfert de solvant du dichlorométhane à l'hexane si les HAPs sont purifiés sur colonne de gel de silice/alumine. Finalement, dans la troisième étape, l'extrait est concentré puis analysé par

chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) fonctionnant dans le mode d'acquisition d'ions sélectifs.

La concentration des HAPs est déterminée par comparaison des surfaces chromatographiques obtenues à un temps de rétention donné entre l'échantillon et celles de chacun des étalons de HAPs, tout en tenant compte des surfaces obtenues pour les étalons volumétriques (standards internes). Le résultat obtenu est rapporté corrigé en fonction de la récupération de l'étalon de recouvrement associé à un groupe de HAPs. (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2008).

5.3.2. Méthode de dosage des HAPs cancérigènes

Les HAPs sont responsables de cancer du poumon, de la peau et de la vessie, les salariés de certains secteurs industriels mais également la population générale y sont exposés, le B(a)p a été classé par le dosage du 1-hydroxypyrene (1-OHP), métabolite du pyrene non cancérigène.

Le dosage de ces métabolites ayant un double objectif, premièrement une méthode de dosage du 3-hydroxybenzo (a)pyrene (3OH BAP), métabolite du B(a)P (Marie, 2007), doit être mise au point de façon à évaluer les expositions professionnelles et si possible environnementales. Deuxièmement, la méthode doit être validée par des dosages urinaires dans la population générale et des populations exposées.

Méthode: utilisation d'une chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur fluorimétrique (HPLC-FLUO). Evaluation des niveaux urinaires chez 12 témoins dont 6 fumeurs, et chez 31 salariés des secteurs de l'aluminium et du silicium (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2008).

5.3.3. Méthode immunologique

Plusieurs méthodes immunologiques ont été développées pour détecter B (a)P et de ses métabolites dans le plasma et l'urine. Les anticorps réagissent avec un certain nombre de B (a)p métabolite ainsi que plusieurs autres HAPs, les concentrations plasmatique de B (a)p (Gyorffy et al., 2004).

6. Toxicocinétique des HAPs

6.1 Voies d'exposition.

Pour la population générale, les voies d'exposition aux HAPs sont digestive par l'ingestion d'aliments contaminés et pulmonaire liée au tabagisme et à la pollution atmosphérique, notamment en zone urbaine et péri-industrielle (CITEPA , 2009) .

En milieu professionnel, la voie d'exposition est essentiellement pulmonaire par l'inhalation d'air contenant de très fortes concentrations en HAPs pouvant atteindre le mg/m³ et des concentrations en B[a]P pouvant être parfois 5000 fois plus élevées que dans l'environnement (Ministère de l'emploi, 2005).

Il existe également une absorption cutanée des HAPs lors du contact direct avec des produits ou indirects avec des éléments souillés et aussi par retombées atmosphériques de poussières en suspension (Moody et al., 1995).

L'exposition est caractérisée par plusieurs paramètres, à savoir: les concentrations atmosphériques des différents HAPs, le coefficient de partition entre la phase particulaire et la phase gazeuse ainsi que la taille des particules. Seules les particules de diamètre inférieur à 10 µm (PM10) peuvent atteindre l'appareil pulmonaire et sont dites particules inhalables (Vanrooij et al., 1993).

6.2. Voies d'absorption et distribution des HAPs

Les HAPs, très liposolubles, sont absorbés par le poumon, l'intestin et la peau (Lemiere et al., 2001).

Absorption respiratoire : en fonction de la granulométrie et la composition des particules, il existe une clairance muco-ciliaire qui fait remonter les particules dans l'arbre respiratoire (Reichl et al., 2004).

Elles sont alors avalées et entrent dans l'organisme par voie digestive. Les particules les plus petites se déposent directement dans le parenchyme pulmonaire profond où une métabolisation a lieu.

Absorption digestive : rapide, facilité par les aliments riches en graisse (Reichl et al., 2004).

Absorption cutanée : chez l'homme, in vitro, la dose absorbée est de 1 à 3 % de la dose appliquée (Moody et al., 1995). Elle constitue une voie d'entrée importante pour les HAPs dans le cas d'expositions professionnelles. Il a été estimé chez des salariés des fours à coke que l'absorption du pyrène par la peau contribuait pour 50 % à la dose interne (Vanrooij et al., 1993) voire même 90 % chez les salariés utilisant de la créosote pour l'imprégnation du bois (Vanrooij et al., 1993).

Les études chez l'animal montrent que les HAPs sont rapidement transportés de la voie d'entrée vers d'autres organes via le sang et les vaisseaux lymphatiques. La distribution est rapide, quelle que soit la voie d'entrée et les HAPs sont détectés dans pratiquement tous les organes. Un stockage se fait dans le foie, les reins et le tissu adipeux (Miller et Ramos., 2001).

Les HAPs, très lipophiles peuvent entrer dans les cellules en franchissant la membrane plasmique. Une fois dans la cellule, ils s'associent généralement avec des molécules

hydrophobes qui participent à sa distribution à travers les compartiments intracellulaires. La plupart des HAPs s'accumulent préférentiellement dans la mitochondrie et le noyau (Gaertner et Theriault., 2002).

6.3. Métabolisme et mécanisme d'action des HAPs

Les HAPs, à l'image du Benzo[a]pyrène sont des procarcinogènes et nécessitent une activation métabolique par des enzymes pour acquérir des propriétés électrophiles et exercer leurs effets toxiques. Cette bio activation dont la fonction première est de détoxifier l'organisme transforme des molécules inertes en intermédiaires réactifs pouvant réagir sur les biomolécules dont l'ADN (Miller et Ramos. , 2001) , (figure4) .

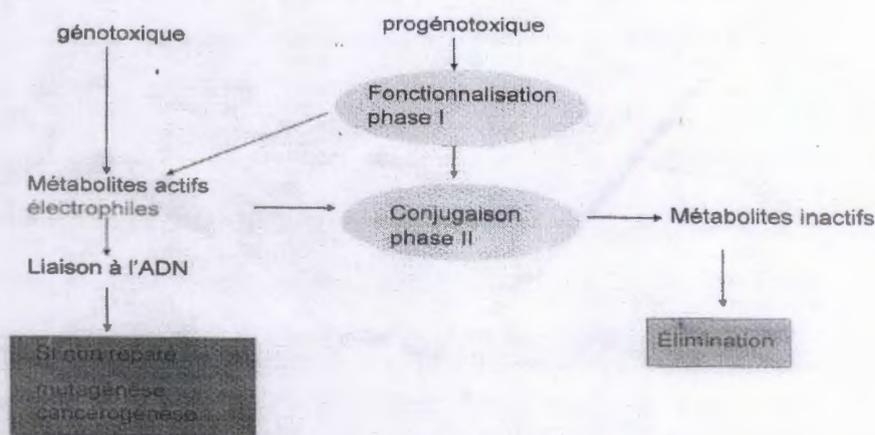


Figure4 : schéma général d'activation des substances génotoxiques

6.3.1. Voies de métabolisation des HAPs

Il existe 3 principales voies de métabolisation des HAPs (Xue et Warshawsk. , 2005) , (Figure5) . La plus importante implique la famille des cytochromes P450 (CYP450) qui catalyse la mono- oxygénation des HAPs en époxyde. La 2^{ème} voie repose sur la formation d'un radical cation suite à l'oxydation à un électron des HAPs, catalysée par des cytochromes P450 peroxydase.

Enfin une voie mise en évidence plus récemment implique la formation de o-quinones à partir de catéchols, catalysée par des dihydrodiols déshydrogénases. Dans une moindre mesure, les HAPs peuvent être activés par des prostaglandines synthétases et lipoxygénases (Miller et Ramos. , 2001).

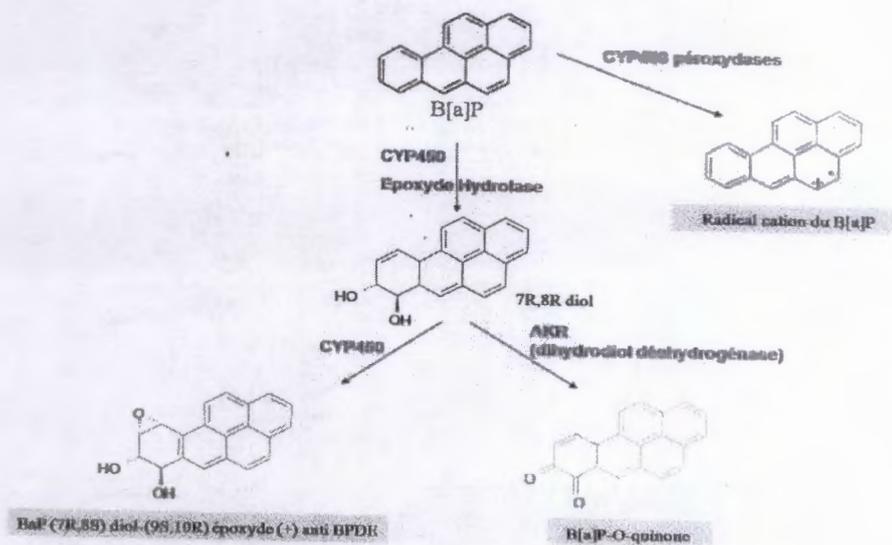


Figure 5 : principales voies de métabolisme du B (a)p

6.3.1.1. La voie des CYP

Les cytochromes P450 réalisent une mono-oxygénation du B[a]P en époxyde sur les carbones C7 et C8 (Figure 6). L'hydrolyse de cet époxyde par un époxyde hydrolase (EH) conduit à la formation d'un dihydrodiol qui subit une nouvelle époxydation sur les carbones C9 et C10 par les CYP450 pour donner un diol époxyde ou Benzo (a) pyrène – 7, 8 dihydrodiol – 9, 10 – époxyde (BPDE), métabolite terminal du B[a]P extrêmement réactif vis-à-vis de l'ADN (Yang, 1988).

Selon la théorie de la région baie, l'anneau époxyde placé de façon adjacente à la région baie (ce qui correspond à la position 10 du groupement benzyle du BPDE), serait le site ayant la plus grande réactivité électrophile et serait le site préférentiel d'interaction covalente du BPDE avec des sites nucléophiles telles que les bases puriques de l'ADN (Marie, 2007).

Cet époxyde comporte 2 diastéréoisomères syn. et anti qui eux-mêmes possèdent 2 Énantimères optiquement actifs (+) et (-). Il existe donc 4 isomères du BPDE (Figure 7).

La formation des métabolites par les CYP et EH se fait avec une grande stéréosélectivité (Xue et Warshawsk., 2005). Elle se traduit dans des microsomes hépatiques de souris par la formation presque exclusive de l'isomère 7R,8S oxyde (Yang, 1988) qui est converti préférentiellement en 7R,8R diol. Cette réaction donne majoritairement l'isomère diol époxyde 7R, 8S, 9S, 10R c'est-à-dire l'isomère 5(+) anti BPDE.

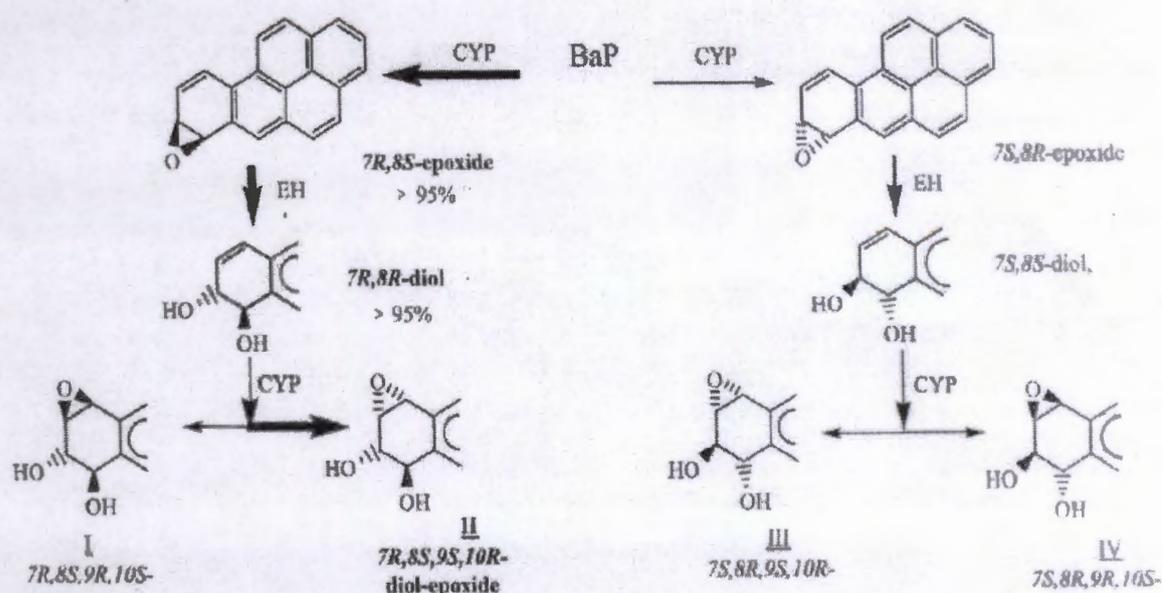


Figure 6 : voie des CYP450

Des expériences menées avec des CYP450 recombinantes humaines montrent que le B[a]P et le B[a]P-7,8-diol sont métabolisés avec un meilleur rendement par les CYP1A1 suivi des CYP1B1 puis des CYP1A2. Ces dernières sont incapables de former le 7,8 diol (Kim et al., 1998). La voie des CYP450 aboutit à la formation du BPDE, métabolite ultime du BaP, qui forme des adduits avec certaines bases de l'ADN (Kim et al., 1998).

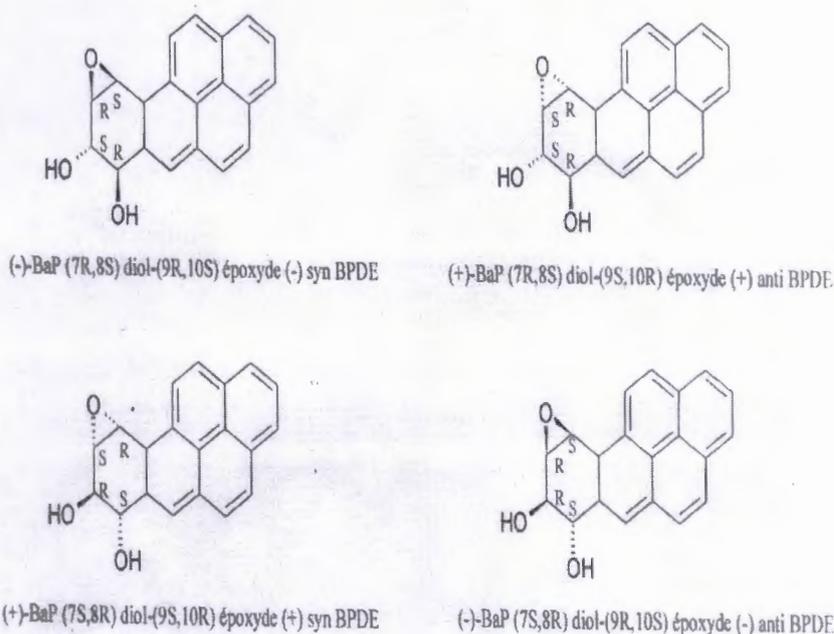


Figure 7 : isomères du Benzo (a) pyrène – 7, 8 dihydrodiol -9, 10 - époxyde

6.3.1.2. Voie d'oxydation mono-électronique par les peroxydases

La voie d'oxydation mono-électronique par les peroxydases a pour mécanisme l'oxydation à un électron du B[a]P par les peroxydases cellulaires et/ou potentiellement par les cytochromes P450 (Figure 8). Elle conduit à la formation de radicaux cations. Le radical cation, contrairement au BPDE est instable chimiquement (Kuljukkael et al, 2001).

Il peut être généré par des oxydants chimiques, mais également par électrochimie ou de façon enzymatique. La probabilité qu'un HAP perde un électron et donne naissance à un radical cation ainsi que la réactivité de ce dernier vis-à-vis de l'ADN dépendent de certains facteurs (Marie , 2007) :

- Un potentiel d'ionisation qui doit être faible pour permettre l'arrachement d'un électron.
- La localisation de la charge sur le radical cation et qui rend cet intermédiaire plus réactif vis-à-vis d'espèces nucléophiles.
- Une configuration géométrique optimale facilitant leur liaison covalente avec les sites nucléophiles de l'ADN.

Les métabolites générés par cette voie forment également des adduits avec les bases de ADN.

Les métabolites générés par cette voie forment également des adduits avec les bases de l'ADN.

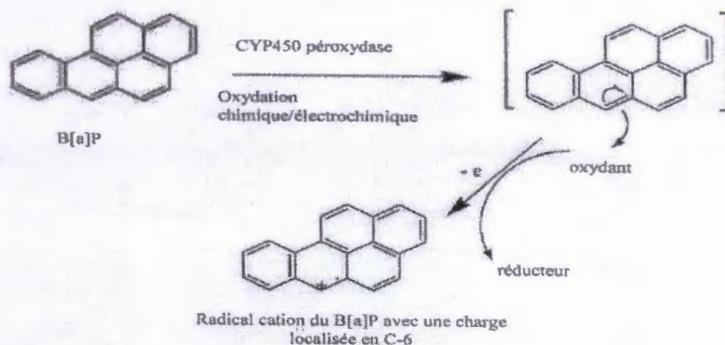


Figure 8 : formation du radical cation.

6.3.1.3. Voie des quinones

La voie métabolique des quinones met en jeu des dihydrodiol déhydrogénases (DD), enzymes appartenant à la superfamille de l'aldo-céto réductases (AKR). La métabolisation du B[a]P-diol par ces enzymes produit un catéchol (Figure 9). Ce catéchol subit deux oxydations à un électron avec la production concomitante d'espèces réactives de l'oxygène pour former des HAPs o-quinones (Smithgall et al, 1988).

La première oxydation produit un anion o-semi quinone et du peroxyde d'hydrogène suivi par une deuxième oxydation qui conduit à la formation de o-quinone et d'un anion superoxyde. En présence d'équivalents réducteurs cellulaires (ex: NADPH), les HAPs o-quinones peuvent aussi être réduites en catéchols entraînant des cycles rédox supplémentaires qui amplifient la production d'espèces réactives de l'oxygène H_2O_2 , O_2 (Penning et al., 1996). En présence de métaux rédox tels que Fe^{+2} ou Cu^+ , H_2O_2 peut donner OH.

Dans l'ADN, ces espèces réactives conduisent à la génération de bases oxydées notamment au -8- niveau de la guanine (7,8-dihydro oxo-guanine). De plus, OH est à l'origine de cassures de brins (Penning et al, 1999). Dans les membranes, une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation de la formation de malondialdéhyde) est observée. Les HAPs o-quinones sont à l'origine d'une production d'ERO mais peuvent également former des adduits à l'ADN (Burczynski et Penning, 2000).

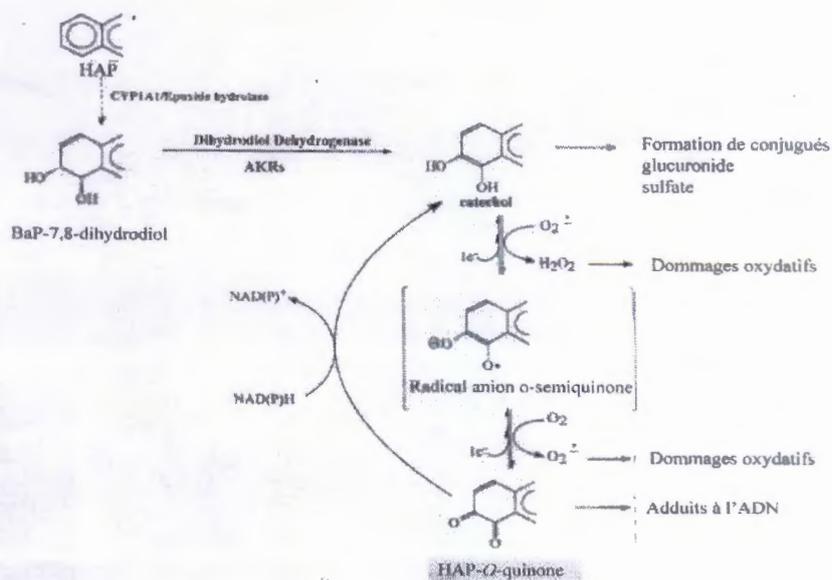


Figure9 : voie des quinones.

6.4. L'élimination des HAPs

L'élimination des métabolites des HAPs se fait majoritairement par les fèces et les urines. En ce qui concerne le B[a]P et ses métabolites, l'élimination se fait majoritairement par le biais du système hépato-biliaire et par le tractus intestinal. L'excrétion urinaire est une voie mineure (Moir et al, 1998).

7. Les effets toxiques des HAPs sur les organismes vivants

La population est généralement exposée à un mélange des HAPs et ce ci quelle que soit la voie d'exposition (orale, pulmonaire et cutané) (Grimmer et al, 1991). Généralement, la principale source d'exposition aux HAPs est l'alimentation (scientifique commette on Food, 2002).

En effet des HAPs sont formés lors de la cuisson des aliments et pendant des périodes de pollution atmosphérique se de posent sur les graines, les fruits ou les légumes que sont ensuite consommés (SCF, 2002).

La population générale est également exposée par voie pulmonaire, le plus souvent, à un mélange de HAPs contenant on non d'autres substances toxicologie de tous les HAPs sont imparfaitement connus tout fois, les données expérimentales disponibles chez l'animal ont montré que certains HAPs pouvaient induire spécifiquement de nombreux effets sur la santé, des effets systémiques (effets sur hépatiques, hématologiques, immunologiques et développement d'athérosclérose) et des effets sur la reproduction ainsi que des effets génotoxiques et cancérogène (François , 2000).

Les HAPs peuvent être à l'origine d'une toxicité aiguë et surtout d'une toxicité chronique (Bosetti et al., 2007), (Szczeklik et al., 1994)

Les HAPs contribuent fortement à la réduction du développement de tous les organes et de plus à une pigmentation locale de la peau. L'exposition simultanée aux HAPs et aux UV peut provoquer une dermatite photo toxique accompagnée de conjonctivite. Cette toxicité est très modérée et aucun cas de décès n'a été rapporté.

Les HAPs peuvent être à l'origine d'irritations pulmonaires et d'eczéma et de troubles de l'immunité avec en particulier une diminution des immunoglobulines G et A sériques qui a été rapportée chez des salariés travaillant dans une fonderie (Szczeklik et al., 1994).

Des études épidémiologiques ont montré une association entre des niveaux d'expositions professionnelles élevés aux HAPs chez les salariés de certains secteurs industriels (cokerie, fonderie, utilisation de dérivés de houille...) et une augmentation des risques de cancer du poumon, de la vessie et de la peau (Mastrangelo et al., 1996). Ces cancers figurent dans le tableau des cancers reconnus comme maladies professionnelles en France.

7.1. Effet hématologique

Les HAPs peuvent engendrer des anémies des leucémies lors d'expositions prolongées, hypoplasie médullaire....ext. (Descotes et al., 1992).

Hypoplasie médullaire : Elle est dosé dépendante au bout d'un délai variable (quelque mois ou années) peut apparait une dépression médullaire touchant une ou plusieurs lignées hématopoïétiques (avec prédominance de la thermo pence éventuellement associée a une leucopénie) la poursuite de l'exposition en traine l'évolution vers l'aplasie médullaire. En cas d'exposition par les HAPs, on observe des anomalies hématologiques minimales (diminuerai discrète de l'hémoglobine) le risque d'aplasie est important au cours de contamination par les HAPs (Descotes et al., 1992).

Effet leucémogène : On observe surtout des leucémies aiguës myéloblastiques, mais aussi des syndromes myélo et lympho-prolifératifs, leucémies c'est l'inhibition de formation des globules rouges par les HAPs (Ketterere et al., 1992).

Le risque de leucémie serait multiple par 10 pour une exposition de 10ppm et par 5 pour 5 ppm pendant 40 ans. Ce pendant, l'action leucémogène du HAP est aléatoire, sans relation avec le niveau de l'exposition (il n'y aurait par de risque zéro).

L'accent est actuellement mis sur la surveillance des concertations de HAPs sur les lieux de travail. Le respect de la teneur légale inférieure à 0,2% en poids dans les solvants garantit une

concentration atmosphérique inférieur à 1 ppm au post de travail. Les anomalies de la numération formule sont tardives et témoignent d'une intoxication avérée.

Les complications de l'exposition de HAPs sont indemnisées par les tableaux des maladies professionnelles (Descotes et al., 1992).

Effet leucopénie : C'est l'action des HAPs sur les globules blancs (les HAPs inhibent la formation des globules blancs) (Descotes et al., 1992).

7.2. Effet cancérigène et mutagène

Le principal risque par les HAPs sur la santé est la capacité d'induire le développement de cancer dans les organismes exposés (Bonassi et al., 1995).

L'induction du cancer chez les mammifères par les HAPs passe par la participation d'un groupe d'enzymes capables de transformer les composés xénobiotiques en produits solubles dans l'eau (Ketterer et al., 1992), ces enzymes sont des mono oxygénases qui appartiennent au groupe cytochrome P450 (Kim et al., 2007).

Les HAPs sont transformés en HAPs dioléoxyde qui sont alors particulièrement réactifs avec l'ADN, l'ARN et les protéines cellulaires créant ainsi de nombreuses mutations irréversibles et induisant la formation de tumeur, le site de développement des tumeurs est lié à la voie d'administration (ex : tumeurs gastriques après administration orale), des tumeurs au niveau d'autres sites que le site d'administration ont toutefois aussi été observées (le B(a)p administré par voie orale a induit des tumeurs au niveau du tractus gastro-intestinal, du foie, des poumons et des glandes mammaires chez les rats et les souris (EFSA, 2008).

Ce système enzymatique est stimulé dans un organisme par exposition aux composés lipophiles persistants (HAPs) (Albert et al., 1991). Les expositions répétées à ces composés induisent de grandes quantités d'enzymes. La capacité d'induction de ces enzymes dépend de chaque organisme ; les mammifères par exemple, ont une grande capacité d'adaptation à ces agents mutagènes et une exposition chronique aux HAPs provoque à terme la production d'anticorps dégradant les composés lipophiles persistants ; par contre, les poissons ont une capacité limitée de dégradation (Conney, 1982).

7.3. Les effets immunologiques

L'exposition aux HAPs provoque une diminution du taux d'immunoglobulines sériques (IgA, IgG et IgM) et une augmentation des IgE. Les HAPs agissent comme des allergènes. Ils provoquent l'augmentation du nombre des leucocytes (Anderson et al., 1995).

Les HAPs provoquent l'intensité de la dépression de l'immunité humorale et cellulaire notamment les enfants allaités présentent un haut risque à cause de la vulnérabilité de leur système immunitaire qui est en développement) (Morgan et al., 2006).

Les HAPs ont été démontré pour interagir avec le système immunitaire, ils stimulent une réponse immunitaire, et ayant entraine le développement de réaction immunitaire par des lymphocytes spécifiques. Les cellules cytotoxiques sont des cellules effectrices dans la réponse contre les HAPs (Anderson et al., 1995).

La tumeur induite par les HAPs provoque une réponse immunitaire à médiations cellulaire (Morgan et al., 2006).

Les HAPs jouent un rôle très important dans la croissance et le développement du système immunitaire (Conney, 1982).

Les HAPs provoquent l'apoptose des lymphocytes B engendrant ainsi la diminution de produit les immunoglobulines (Salas et Burchiel, 1998).

7.4. Les effets neurotoxiques

Les HAPs provoquent des altérations des structures et des fonctions du système nerveux central et périphérique. La pollution de l'environnement peut aller jusqu'à donner des effets neurotoxiques caractérisés (notamment en cas d'exposition accidentelle) aux processus dégénératifs, en passant par de simples déviations fonctionnelles à la normalité (Doonaert et Pichard, 2003).

Les HAPs provoquent des altérations morphologiques et fonctionnelles du cerveau, la dépression du système nerveux central, pertes de la libido, migraines, polyneuropathies périphériques (signes d'atteinte nerveuse des membres inférieurs), troubles de la coordination, et atteinte des facultés sensorielles. Des études montrent que les enfants consommant un lait maternel riche en HAPs présentes une diminution des performances psychomotrices (Grandjean et Landrigan, 2006).

7.5. Effets hépatotoxiques

Les HAPs et certains des métabolites sont à l'origine d'une augmentation de l'apoptose dans les cellules hépatiques. Ils provoquent une diminution de la vitamine A hépatique, des inflammations nécroses, hyperlipidémie, stéatose des hépatocytes géants et porphyrie (Lei et al., 1998).

Les HAPs provoquent l'évaluation du taux de gamma GT, de transaminases, de phosphatases, de cholestérol et triglycérides dans le foie (Lei et al., 1998).

7.6. Effets sur le système circulatoire

La consommation des HAPs ainsi que le diabète, l'hypertension, l'excès de cholestérol dans le sang et obésité sont les principaux facteurs de risque d'accidents cardiovasculaires, l'incidence

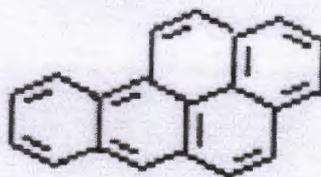
de ces derniers est trois fois élevée chez les consommateurs des HAPs, que chez les non consommateurs (Descotes et al., 1992).

8. Etude de quelques HAPs

8.1. Le benzo (α) pyrène

Le Benzo (α) pyrène (B (a)P) est un des HAPs les plus toxiques (SCF, 2002) (figure 10). En effet, il est reconnu comme cancérigène par l'IARC (International Association for Research on Cancer (Marc, 2007)). Ceci est lié à sa capacité à former des adduits avec l'ADN. Il existe plusieurs voies d'activation du B (a)P, mais la plus importante est celle des diols époxydes car elle conduit à la formation d'adduits stables (Cavallo et al., 2009).

Le B (a)P va être oxydé par les systèmes enzymatiques du cytochrome P₄₅₀, pour finalement former un époxyde. Ce dernier produit, BPDE est susceptible de réagir avec l'ADN. Ainsi, la toxicité du benzo (α)pyrène est en partie directement liée au pouvoir cancérigène de l'un de ses métabolites, le BPDE, qui se fixe au niveau de l'ADN des cellules et entraîne des mutations pouvant à terme aboutir au développement de cancers (Leger et Paget, 1984), (cavallo et al., 2009).



Benzo[α]pyrene

Figure 10 : Benzo (α) pyrène

8.2. Le Naphtalène

8.2.1. Historique

Le naphtalène a été isolé en 1820 par Garden. Sa représentation actuelle (Deux noyaux benzène), (figure 11) fut proposée par Erlenmeyer en 1868 (Wolfo, 1976).

En Allemagne, la matière première utilisée pour la production de naphthalène est le goudron de houille, qui en contient environ 10 %. La production de naphthalène étant en régression, on utilise de plus en plus des produits dérivés du pétrole (essence de pyrolyse, huiles résiduelles de pyrolyse) ; fabrication par distillation fractionnée (Dvid, 2009).

Depuis les années 1960, la dés alkylation des méthyl-naphthalènes extrait du pétrole en présence d'hydrogène et à haute température et sous haute-pression (Speight et Norbert., 2005). La teneur en naphthalène dans le produit technique est de 95 % au moins, le reste étant constitué d'impuretés telles que benzo(b)thiophènes (thionaphtènes) et, pour les naphthalènes issus du pétrole, exclusivement de méthylindènes (Iwona et Krystyna , 2004) .

8.2.2. Définition

Le naphthalène ou naphthaline ou de goudron est un hydrocarbure aromatique à deux cycles, de formule $C_{10}H_8$. Son odeur caractéristique est perçue par l'odorat humain à partir de (0,04 ppm) (Verschueren, 1996). Il a été couramment utilisé comme anti-mites. On a constaté par le suivi des maladies des travailleurs de l'industrie chimique qu'il pouvait être cancérigène (Wolfo, 1976 et 1978).



Naphtalene

Figure 11 : Naphtalène

8.2.3. Toxicologie

Le naphthalène est classé en tant que substance cancérigène de catégorie 3 par l'UE, et dans le groupe 2B par le CIRC. Dans certains cas il provoque un empoisonnement via les tractus respiratoire et digestif (Desforges et al., 1958).

Le Naphtalène comme étant le plus simple HAPs peut avoir une toxicité aigue sur la santé humain telles que :

- Une dépression du système nerveux central (Templeton et al., 1993).
- Incidence des neuroblastomes de l'épithélium olfactif (Templeton et al., 1993).
- L'apparition d'une méthémoglobinémie (Desforges et al., 1958).

- Coagulation du sang (Calabrese, 1986).
- Anémie hémolytique (Calabrese, 1986).
- Induction de cancer broncho-pulmonaire (Calabrese, 1986).

8.2.4. La bioaccumulation

Le naphthalène est bioaccumulé chez plusieurs espèces de poissons (ex : *Cyprinus carpio*, *Pimephales promelas*) (Bergstedt et al., 1979) moules (*Mytilus edulis*) et huitrea (*Ostrea edulis*) (Schaffer et al., 1981).

Le naphthalène semble pouvoir être absorbé par les racines et feuilles d'inieris en 2005 n'a pas trouvé d'études sur ses effets ni sur d'éventuels facteurs de bioconcentration (INARIS, 2007).

8.2.5. Dégradation

Compte tenu de sa structure chimique, le naphthalène est réputé très stable. Il semble très peu biodégradable en conditions normales. Un test standard n'a montré que 2 % de dégradation après 28 jours, mais des tests (non normalisés) laissent penser qu'il peut être rapidement biodégradé en conditions aérobies et dénitrifiantes lorsque mis en contact avec certains micro-organismes qui le font quasiment disparaître en 8 à 12 jours dans les meilleurs cas (Delfino et Miles, 1985), (Nielsen et Christensen, 1994), (Bauer et Capone, 1985). La Commission Européenne (CE, 1996) a retenu une demi-vie de 150 jours dans les eaux de surface. Quelques tests (non normalisés) de biodégradation en condition anaérobie et notamment dans les sédiments, laissent penser qu'il est stable dans ces conditions (Delanne et al., 1980).

1. L'immunologie

L'immunologie a pour objet l'étude des mécanismes physiologiques dont l'homme et d'autres espèces animales se servent pour se protéger de l'invasion microbienne. Les origines de la discipline remontent aux observations médicales effectuées sur des sujets qui, ayant survécu à une épidémie, étaient devenus résistants ou immuns à la même infection (Jean et Pierre, 2001). Les maladies infectieuses sont provoquées par des micro-organismes qui possèdent l'avantage de se reproduire et d'évoluer beaucoup plus rapidement que leur hôte humain. Au cours d'une infection, le micro-organisme peut implanter une vaste population de son espèce dans un individu. En réponse, le corps humain consacre un nombre considérable de cellules à sa protection, leur ensemble formant le système immunitaire (Peter, 2003).

2. Le système immunitaire**2.1. Définition**

Le système immunitaire est l'ensemble des facteurs et des processus qui protègent l'organisme contre les micro-organismes et les substances étrangères ou anormales (Franger et al., 2002).

2.2. Le rôle du système immunitaire

L'homme fait partie des organismes les plus complexes de la biosphère. Il demeure exposé en permanence aux agressions. Le système immunitaire participe au maintien de l'intégrité de l'organisme. C'est un système assurant l'élimination de tout intrus ou de toute situation dangereuse (apparition de cellules modifiées) dans l'organisme (Peter et al., 2002). Cette fonction implique la capacité à identifier les intrus ou les cellules altérées et à mettre en place rapidement des mécanismes de défense appropriés assurant leur éradication avant qu'ils n'aient eu le temps de nuire. Il est ainsi crucial pour le système immunitaire de faire d'une part, la distinction entre le soi et le non soi et d'autre part de reconnaître la situation dangereuse pour l'organisme (Eric et Pascal, 2006).

2.3. L'anatomie du système immunitaire

Le système immunitaire est constitué par des organes lymphoïdes primaires ou centraux, et des organes et tissus lymphoïdes secondaires ou périphériques (Philippe, 2007).

2.3.1. Les organes lymphoïdes primaires

2.3.1.1. La moelle osseuse

C'est un tissu hématopoïétique qui occupe l'espace libre à l'intérieur des os. Son importance pour le système lymphoïde est considérable car c'est elle qui produit la cellule précurseur de différentes populations de lymphocytes et des cellules phagocytaires (10 à 20% des cellules médullaires sont lymphocytes) (Janeway et al., 2003).

2.3.1.2. Le thymus

Le thymus est organe où se développe les cellules T, situé dans la partie supérieure de la poitrine juste à côté du cœur, il est divisé en lobes qui comportent une zone corticale et une zone médullaire et un réseau de cellules épithéliales (David, 2005).

2.3.1.3. La bourse de Fabricius

Un organe particulier aux oiseaux, il n'a pas d'équivalent chez les mammifères, il est situé à la partie terminale de l'intestin. La bourse de Fabricius est comme le thymus, un organe lymphoïde central responsable de développement de l'immunocompétence des cellules destinées à produire les lymphocytes B (Jacques, 1989).

2.3.2. Les organes lymphoïdes périphériques

2.3.2.1. La rate

La rate est un véritable filtre volumineux sur place sur le trajet de la circulation sanguine situé dans le péritoine sous le diaphragme et derrière l'estomac. Elle est constituée de deux types principaux de tissu, appelés la pulpe rouge et la pulpe blanche (Philippe, 2007).

2.3.2.2. Les ganglions lymphatiques

Ce sont des organes encapsulés qui ponctuent le réseau lymphoïde et qui contiennent des agrégats de lymphocytes et de CPA (cellule présente l'antigène) (David, 2005). Ils sont placés de façon stratégique afin d'intercepter les antigènes (Ag) provenant de la périphérie. C'est la raison pour laquelle il y a de nombreux ganglions dans les aisselles, les aines et le cou. Les ganglions sont structurellement organisés en zones (Jacques, 1989).

2.3.2.3. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses

« Mucosal associated lymphoïde tissue » : un terme générique recouvrant tous les tissus lymphoïdes non encapsulés, que l'on met en évidence dans les zones sous muqueuses des systèmes respiratoire, gastro-intestinale et urogénitale (David, 2005). Il protège ces sites d'une invasion potentielle par les agents pathogènes. Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses comme la peau, les cellules épidermiques dendritiques et plaque de Peyer (Janeway et al., 2003).

2.3.3. Les cellules de l'immunité

2.3.3.1. Les globules blancs (leucocytes)

Les cellules du système immunitaire sont appelées d'une manière générale les leucocytes, le nombre de leucocytes 5000 à 9000 par mm^3 de sang. (Eric et pascal, 2006). Elles comportent plusieurs variétés de cellules : les mononucléaires et les polynucléaires, ces derniers sont appelés granulocytes, car il s'agit de cellules à un seul noyau mais polylobé et avec des granulations intracytoplasmique qui permettent de distinguer les polynucléaires neutrophiles, éosinophile et basophiles, les granulocyte cellules mures de la lignée granuleuse localisée dans la moelle osseuse, sont des cellules sanguines mobiles dont la fonction essentielle pour les polynucléaires en particulier est de défendre l'organisme contre les agents agresseurs (Belhani et al., 1987).

2.3.3.1.1. Les granulocytes

- Les granulocytes mononuclés

Ils possèdent quelque granulation non spécifique dans le cytoplasme (Jean et Pierre, 2001).

a. Les monocytes

Les monocytes sont de grosses cellules (15 à $30\mu\text{m}$) au noyau en fer à cheval caractéristique. La membrane plasmique présente des contours irréguliers. Le cytoplasme contient de nombreux lysosomes. Ces cellules sont très mobiles grâce à des pseudopodes (Janeway et al., 2003). Les monocytes représentent 3 à 10% des globules blancs. Leur demi-vie dans le sang d'une dizaine d'heures, ils migrent ensuite dans les tissus en se différenciant en deux types cellulaires distincts : les macrophages et les cellules dendritiques myéloïdes. Les monocytes ont une fonction majoritairement phagocytaire et plus accessoirement de cellule présentatrice de l'antigène (Martin et al., 2008).

b. Les macrophages

Les macrophages sont issus de la différenciation des monocytes concomitants à leur passage dans les tissus. Ce sont de grosses cellules (de 20 à 70 μm) aux contours très irréguliers ménagés par de nombreux pseudopodes. On estime leur nombre à deux milliards par Kg de tissu en moyenne (Jean et Pierre, 2001). Lors de leur différenciation, les macrophages acquièrent une machinerie de biosynthèse des protéines abondante avec un réticulum endoplasmique granuleux et un appareil de Golgi très développés. Selon leur localisation dans l'organisme, les macrophages sont nommés différemment, ils attaquent des grosses particules (Peter, 2003).

c. Les cellules dendritiques

Ces cellules sont présentes dans tous les tissus de l'organisme à l'exception du cerveau et constituent de 0,2 à 2% de leur masse cellulaire (James et Alan, 1996). Elles ont la particularité de posséder de nombreux prolongement de leur membrane plasmique qui s'insinue autour des cellules environnantes. Ces prolongements peuvent atteindre 10 μm de long et sont très mobiles. Ils permettent à la cellule d'explorer l'élément qui l'entoure (Eric et Pascal, 2006).

- **Granulocytes polynucléaires**

a. Les granulocytes neutrophiles

Sont des cellules arrondies, de 10 à 15 μm de diamètre qui présentent une chromatine dense avec un noyau deux à cinq lobes. Le cytoplasme est important et contient des granulations neutrophiles (Jean et pierre, 2001).

Les granulocytes neutrophiles sont les leucocytes les plus nombreux du sang (50 à 70% des globules blancs). Ils sont principalement dans le compartiment sanguin, avec la moitié d'entre eux adhérant aux parois des vaisseaux, notamment au niveau de la rate, du foie et des poumons (James et Alan, 1996).

Leur demi-vie dans le sang est assez courte (moins de 24 heures). Ils entrent massivement dans les tissus lors de la réponse inflammation. Une fois passées dans les tissus, ces cellules ne retournent pas dans le sang et y résident en moyenne trois jours. Leur renouvellement est ainsi important et avoisine les 10^{11} cellules produites par jour. Ils attaquent les petites particules (Eric et Pascal, 2006).

b. Les granulocytes basophiles

Ils ont été en 1879 par P. Ehrlich. Ces cellules circulent dans le sang et représentent moins de 1% des globules blancs. Elles sont difficiles à isoler car elles ne possèdent pas de marqueurs caractéristiques (James et Alan, 1996).

Ces obstacles en font des cellules peu étudiées et longtemps considérées comme la forme sanguine des mastocytes. Leur demi-vie dans le sang est très courte (quelques heures) (Jean et Pierre, 2001).

Les basophiles sont les plus petits des granulocytes (environ 10 à 12 μm), ils présentent un noyau volumineux (2/3 de la cellule), rond ou ovalaire avec quelques fissures (Eric et Pascal, 2006).

Les basophiles produisent l'héparine (production contre les embolies) et contiennent de l'histamine qu'ils libèrent lors de réactions anaphylactiques (Belhani et al., 1987).

c. Les granulocytes éosinophiles

Ce sont des cellules arrondies, de 10 à 15 μm de diamètre. Ils présentent un noyau à deux lobes réunis par un pont chromatinien. Le cytoplasme est volumineux et contient de nombreuses granulations (Jean et Pierre, 2001). Les granulocytes éosinophiles circulent 6 à 8 heures dans le sang. Ils constituent alors 1 à 3% des globules blancs. Ils passent ensuite dans les tissus où ils résident 8 à 12 jours. On trouve ainsi ces cellules majoritairement dans les tissus et plus précisément dans les sous-muqueuses (James et Alan, 2001).

La fonction principale des granulocytes éosinophiles est la lutte antiparasitaire. Ils participent en outre à certaines manifestations allergiques comme l'asthme (Eric et Pascal, 2006). Les éosinophiles se distinguent par deux fonctions :

- La modulation des réactions d'hypersensibilité immédiate.
- Destruction des parasites (Belhani et al., 1987).

d. Les mastocytes

Les mastocytes sont distribués dans tout l'organisme, notamment au niveau des tissus connectifs et des muqueuses où ils sont souvent retrouvés proches des vaisseaux sanguins et des nerfs périphériques (Martin et al., 2008). Cette localisation stratégique leur donne de grandes chances de rencontrer d'éventuels pathogènes (Jean et Pierre, 2001). On distingue deux sous-populations de mastocytes selon les protéases contenues dans leurs granules : les mastocytes dont les granules contiennent de la tryptase et les mastocytes dont les granules contiennent de la tryptase et de la chymase (Martin et al., 2008).

- Les lymphocytes

- a. Les lymphocytes T

Ces cellules finissent leur maturation dans le thymus d'où leur nom, chaque lymphocyte T est caractérisé par l'expression d'un récepteur pour l'antigène, le récepteur du lymphocyte T (TCR), qui lui est propre et lui confère une spécificité vis-à-vis d'un antigène donné. Les lymphocytes T expriment le marqueur caractéristique CD3 (classe de différenciation 3).

Selon la nature du TCR et des corécepteurs exprimés, on distingue plusieurs sous populations lymphocytes T (Elmet et al., 1992). Les lymphocytes T expriment majoritairement (à 95%) un TCR constitué d'une chaîne α et d'une chaîne β , ils sont qualifiés de lymphocytes $T\alpha\beta$. Par usage, lorsqu'on ne précise pas le type de TCR des lymphocytes T, il s'agit des lymphocytes $T\alpha\beta$. Parmi les lymphocytes $T\alpha\beta$, on compte encore plusieurs sous populations :

Selon des critères fonctionnels, on distingue (Jean et Pierre, 2001) :

- Les lymphocytes T helper (lymphocytes Th) encore appelés lymphocytes T auxiliaires.
- Les lymphocytes T cytotoxiques (lymphocytes Tc).
- Les lymphocytes T régulateurs (lymphocytes Tr).

Selon l'expression de récepteurs caractéristiques, on distingue (Jean et Pierre, 2001) :

- Les lymphocytes T $CD4^+$ (exprimant le corécepteur CD4).
- Les lymphocytes T $CD8^+$ (exprimant le corécepteur CD8).

Dans la majorité des cas, les lymphocytes Th et les lymphocytes Tr expriment CD4. Ils contrôlent la réponse immunitaire adaptative. Les lymphocytes Tc expriment CD8. Ils éliminent les cellules infectées ou cancéreuses (phénomène de cytotoxicité) (Eric et Pascale, 2006).

- b. Les lymphocytes B

La maturation de ces cellules a lieu dans la moelle osseuse chez les mammifères et dans un petit organe spécialisé (les bourses de Fabricius) chez les oiseaux, d'où leur nom (David, 2005). Chaque lymphocyte B est caractérisé par l'expression d'un récepteur pour l'antigène, le récepteur du lymphocyte B (BCR), qui lui est propre et lui confère une spécificité, vis-à-vis d'un antigène donné. Ce récepteur est une immunoglobuline membranaire. En outre, les lymphocytes B possèdent les marqueurs caractéristiques CD19, CD21, (Ig α) et (Ig β) (Jean et Pierre, 2001). Les lymphocytes B se différencient, au cours de la réponse immunitaire adaptative humorale, en plasmocytes. Les plasmocytes représentent le dernier stade de différenciation des lymphocytes B. Ils apparaissent comme de grosses cellules de 15 μ m. présentant un cytoplasme avec un

appareil de Golgi et un réticulum endoplasmique granuleux développés, signe d'une biosynthèse très active d'anticorps. Leur durée de vie varie de quelques jours à plusieurs mois (Eric et Pascal, 2006).

c. Les cellules NK (Natural Killer)

Ils circulent en permanence dans le sang et représentent en moyenne 15 % des lymphocytes sanguins. On trouve aussi des cellules NK dans l'utérus et les sinus sanguins du foie et de la rate. Leur demi-vie est dizaine de jours (David, 2005).

Les cellules NK sont des cellules de l'immunité innée qui possèdent un jeu de récepteurs leur permettant d'identifier leurs cellules cibles : les récepteurs des cellules NK (NKR). De plus, elles possèdent des marqueurs caractéristiques tels que CD16 et CD56. Les cellules NK sont des cellules cytotoxiques spécialisées dans la lyse des cellules tumorales ou infectées par des antigènes (Martin et al., 2008).

2.3.3.2. Les marqueurs des cellules immunitaires

CD : molécule de la surface reconnue par un groupe d'anticorps monoclonaux. On désigne par le sigle CD suivi d'un nombre (Charles et al., 2003).

CMH : le complexe majeur d'histocompatibilité, ces molécules codées par des gènes situés dans le CMH ne sont pas hautement polymorphes comme les molécules du CMH de classe I ou de classe II ; elles présentent une gamme très restreinte. (Charles et al., 2003).

CD1 : est un polypeptide exprimé sur les thymocytes corticaux immatures et différentes cellules dendritiques lymphoïdes et non lymphoïdes ainsi que sur les monocytes et certains lymphocytes B. (Charles et al., 2003). Les CD1 assurent la présentation d'antigènes lipidiques à différents types de cellules T, ils interagissent en outre avec les cellules NK (Jean, 2001).

CD3 : est un polypeptide constitué de 3 chaînes ; deux glycoprotéines CD3 γ et CD3 δ de 25KD et 20KD respectivement, et un peptide CD3 ϵ de 20 KD non glycosulé. Les gènes codants pour les chaînes γ , δ et de la molécule CD3 ont été clonés et séquencés. Le CD3 est immunoglobuline présente au cours de différenciation des thymocytes, qui associé au récepteur TCR pour transmettre le signal dans les cellules (Jacques, 1989).

CD4 : protéine de surface importante pour la reconnaissance par le récepteur T des peptides antigéniques fixés aux molécules du CMH de classe II, elle agit comme un corécepteur en se liant à la surface latérale des molécules du CMH classe II (Charles et al., 2003).

CD8 : protéine de surface importante pour la reconnaissance par le récepteur T des peptides antigéniques fixés aux molécules du CMH de classe I, elle agit comme un corécepteur en se liant à la surface latérale des molécules du CMH classe I (Charles et al., 2003).

CD40 : molécule de la surface du lymphocyte B, elle contribue au déclenchement de la prolifération de cette cellule en interagissant de cette ligand qui est exprimé sur les cellules T auxiliaires actives (Charles et al., 2003)

CD45 : ou antigène commun leucocytaire, tyrosine phosphatase transmembranaire présent sur tous les leucocytes, elle est exprimée sous des isoformes variées sur différents types cellulaires, comprenant les divers sous types des cellules T .Ces isoformes portent habituellement la dénomination CD45R suivi de la lettre désignant l'exon dont la présence détermine des profils distincts de liaison à l'anticorps (Charles et al., 2003).

3. La réponse immunitaire

3.1. L'antigène (Ag)

Ag est une molécule qui se lie spécifiquement au paratope d'une immunoglobuline et au paratope du récepteur du lymphocyte T (TCR). Cette molécule est le plus souvent de nature peptidique ou glucidique ; il peut s'agir aussi de lipides ou d'acides nucléiques (Eric et Pascal, 2006).

3.2. L'antigénicité

L'antigénicité est la propriété que possèdent tous les antigènes de se lier spécifiquement aux paratope d'une immunoglobuline et au paratope du TCR (Eric et Pascal, 2006).

3.3. L'immunogénicité

L'immunogénicité est la propriété que possèdent certains antigènes de provoquer une réponse immunitaire spécifique dans un organisme (Eric et Pascal, 2006).

3.4. L'anticorps (AC)

Ac sont appelés les immunoglobulines car on les trouve, après électrophorèse du sérum dans les fractions protéiques α , β et γ globulinique ce sont des glycoprotéines globulaires synthétisées par les lymphocytes et retrouvées dans le plasma et dans d'autres liquides biologiques (Philippe, 2007). On distingue cinq classes d'immunoglobulines : IgG, IgM, IgA, IgE et IgD, la

structure des cinq classes d'immunoglobuline repose sur le même modèle de base. Les IgG sont les principaux anticorps plasmatique (Martin et al., 2008).

L'IgG : est sérique et constitue le principal anticorps au cours de la réponse secondaire à la plupart des antigènes. Chez l'homme, elle est transférable à travers le placenta pour assurer la protection de l'enfant pendant la période néonatale. Elle fixe aux récepteurs des neutrophiles et des macrophages (David, 2005).

L'IgM : c'est la première classe d'Ig qui est produite au cours du développement du système immunitaire et au cours du développement de la réponse immune primaire (David, 2005).

L'IgD : est présente sous forme de traces dans le sérum, mais fait fonction de récepteur à la surface des cellules B, où elle est coexprimée avec l'IgM. L'IgD apparaît sur les cellules B qui se différencient à la suite de leur activation, mais est absente des cellules mûres productrices d'anticorps (David, 2005).

L'IgA : abondante dans la sécrétion où elle protège les membranes des muqueuses. On la trouve aussi dans le colostrum et elle est particulièrement importante dans la protection des nouveau-nés dans les espèces où l'IgM ne peut pas traverser le placenta (David, 2005).

L'IgE : se lie aux récepteurs de haute affinité des mastocytes et des basophiles, ce qui induit ces cellules à libérer certains médiateurs pharmacologiquement actifs après un contact avec les infections, mais elle est aussi responsable des réactions de l'asthme ou le rhume des foins (David, 2005).

3.5. Les épitopes

Les épitopes sont des motifs structuraux de l'antigène appelés déterminants antigéniques qui lient aux paratopes des immunoglobulines ou des TCR. La taille des épitopes est de l'ordre de 1 à 3 nm (Eric et Pascal, 2006).

3.6. Les paratopes

Les paratopes des anticorps et des TCR ne reconnaissent pas l'antigène dans sa globalité, mais une petite région de l'antigène appelée site antigénique ou déterminant antigénique ou épitope (Eric et Pascal, 2006).

4. Les types de la réponse immunitaire

Quand l'antigène pénètre dans l'organisme, deux types différents de réponse immunitaire peuvent survenir :

4.1. L'immunité humorale

L'immunité humorale met en jeu la production d'anticorps qui sont dirigés contre les substances et les agents pathogènes étrangers, ces anticorps se trouvent dans les liquides extracellulaires, tels que le sérum sanguin, la lymphe, le liquide interstitiel et les mucoosités (Halliday et al.; 1987).

Des cellules appelées lymphocytes B est les cellules à l'origine de la production des anticorps. La réponse immunitaire humorale a pour principales cibles : Les bactéries, les toxines bactériennes et les virus qui circulent librement dans les liquides organiques (Pezzutto et Gerd, 2005).

Un lymphocyte B se lie directement à l'antigène libre dont il est spécifique, la participation d'un lymphocyte T helper (TH) peut aussi stimuler le lymphocyte B spécifique. Les lymphocytes B présente des antigènes à des lymphocytes T auxiliaire (helper). Les lymphocytes B activé se différencient en plasmocytes. Les plasmocytes prolifèrent et produisent des anticorps dirigés contre l'antigène (Peter et Franger, 1998).

4.2. L'immunité cellulaire

À côté de la réaction immunitaire humorale, il existe une deuxième réaction immunitaire, la réaction à médiation cellulaire. La réaction de son existence apparait depuis les expériences de Kock en 1891. On a ultérieurement démontré que les lymphocytes sont à l'origine de cette réaction immunitaire en donnant naissance après stimulation antigène à des cellules effectrices capables d'assurer soit directement (lymphocytes T cytotoxiques) soit par l'intermédiaire de médiateurs (Cytokine) agissant sur d'autres catégories cellulaires à l'origine d'une réaction inflammatoire, l'élimination de l'antigène (Peter et Franger, 1998).

La réponse immunitaire à médiation cellulaire est le plus efficace contre les bactéries et les virus qui se trouvent dans les phagocytes ou les cellules hôtes infectées et contre les mycètes, les protozoaires et les helminthes (Gerard et Funke, 2003).

5. Méthode d'étude de l'immuno-modulation**5.1. L'évaluation de l'immunité humorale**

L'évaluation de l'immunité humorale s'effectue par la réaction (Ag-Ac). La réaction Ag-Ac est due à l'interaction entre les épitopes d'antigène et les paratopes de l'anticorps. Cette réaction est réversible et l'application de la loi d'action de masse à l'équilibre permet la mesure de la constante d'association. Cette propriété permet de définir l'affinité d'un anticorps pour un

antigène monovalent (Jean et Pierre, 2001). On parle alors d'avidité d'un antisérum constitué d'un mélange d'anticorps d'affinités différentes et de spécificités épitopiques différentes. L'avidité d'un antisérum dépend de l'affinité des anticorps pour chaque épitope de l'Ag. Elle augmente avec le nombre de liaisons de l'anticorps sur différents épitopes du même Ag. L'avidité d'un l'antisérum est beaucoup plus élevé que la somme affinités de chaque anticorps pour chaque épitope (Philippe, 2005).

Ces anticorps sont donc très précieux et très largement utilisés pour l'identification d'un Ag au d'un mélange et pour le dosage d'Ag en solution. On peut utiliser deux sources d'anticorps : les anticorps monoclonaux, parfaitement homogènes mais ne reconnaissant qu'un seul épitope et les anticorps polyclonaux, contenus dans des antisérums, qui permettent des liaisons de très haute avidité avec les Ag. Cependant rien ne permet de connaître exactement la nature des anticorps contenus dans un antisérum. La spécificité de l'antisérum doit donc toujours être contrôlée et les anticorps indésirables doivent être éliminés par absorption. On se souviendra en effet qu'un même anticorps peut réagit avec différents Ag en se liant avec des affinités différentes à des épitopes différents ou en reconnaissant un épitope commun à différents Ag (Pezzutto et Gerd. ; 2005).

On distingue deux grands types d'applications de la réaction Ag-Ac.

Le premier correspond à la détection et au dosage des antigènes par des méthodes dont il faut vérifier la spécificité, la reproductibilité et la sensibilité. Grâce à l'utilisation de solutions standards d'Ag pur de concentration connue, les résultats du dosage immunologique pourront être exprimés en unités de masse (ex : mg/L).

La deuxième application concerne la détection et le titrage des anticorps vis-à-vis d'un Ag ou d'un mélange d'Ag. Dans ce cas l'hétérogénéité de la réponse anticorps ne permet pas d'exprimer les résultats en unités de masse. On définit plutôt pour chaque méthode une valeur seuil du rapport signal/bruit de fond au-dessus de laquelle la réaction est considérée comme positive. Les résultats sont donc qualitatifs, plus ou moins. On peut cependant rendre ces réactions semi-quantitatives en les répétant avec des dilutions croissantes de base 2 ou de base 10 de l'échantillon à étudier. On appelle titre d'anticorps l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction positive. Ce titre reflète à la fois la concentration des anticorps et leur avidité (Jean et Pierre, 2001).

5.2. Quelques méthodes pour évaluée l'immunité humorale

5.2.1. L'immunofluorescence : qui utilise des Ac couplés à des fluorochromes permet d'identifier et de localiser des molécules antigéniques (Noëlle, 1995).

5.2.2. Dosage radio immunologique : cette méthode repose sur la compétition et l'utilisation d'Ag marqués par des isotopes radioactifs (Noëlle, 1995).

5.2.3. Dosage immuno-enzymatique : (méthode d'ELISA) cette méthode basée sur l'identification et dosage d'Ac dans un milieu liquide (Helen et al., 2004).

5.2.4. La précipitation : la précipitation est due à la formation d'un réseau tridimensionnel de molécules d'Ag réunies par des Ac, lorsque l'on met en présence des Ag à épitopes multiples et des Ac multivalents (Noëlle, 1995).

5.2.5. L'agglutination : la réaction d'agglutination est provoquée par la fixation d'Ac à des Ag de surface ou à des Ag solubles fixés à des particules de grande taille (Helen et al., 2004).

5.2.6. Les réactions de neutralisations : on parle neutralisation lorsqu'un Ac, se fixant au site antigénique qui lui correspond, neutralise ou inhibe la ou les fonctions des molécules portant l'épitope reconnu (Noëlle, 1995).

5.3. L'évaluation des populations leucocytaires

Pour évaluée la population leucocytaire en utilise la numération formule sanguin (FNS).

La FNS : examen hématologique complète est l'analyse quantitative (numération) et qualitative (formule) des éléments figures du sang (Noëlle, 1995).

Les valeurs obtenues (%) (Noëlle, 1995) :

Chez adulte :

- Granulocytes neutrophiles : 50 à 80%
- Granulocytes éosinophiles : 1 à 4%
- Granulocytes basophiles : 0 à 1 %
- Monocytes : 2 à 10 %
- Lymphocytes : 20 à 40 %

Chez enfant :

- Granulocytes neutrophiles : 40 à 60 %
- Granulocytes éosinophiles : 1 à 4 %
- Granulocytes basophiles : 0 à 1 %
- Monocytes : 2 à 10 %
- Lymphocytes : 35 à 60 %

5.3.1. La numération des lymphocytes

L'étude des populations lymphocytaires a été rendue possible lorsqu'il a été montré qu'elles exprimaient des marqueurs de surface différents. Toutes les analyses doivent être effectuées sur du sang anticoagulé frais (Helen et al., 2004).

Des anticorps sont utilisés pour identifier les lymphocytes T et B, ces antisérums reconnaissent des Ag CD exprimés de manière caractéristique, les cellules sont identifiées et comptées dans un cytomètre de flux qui mesure la fluorescence générale par chaque cellule, des échantillons de sang total sont incubés avec les anticorps marqués, les cellules aspirées dans l'instrument passent par un manchon liquide, la lumière fluorescente de la surface cellulaire est détectée par des senseurs et analysée par l'ordinateur incorporé (Pezzutto et Gerd. ;2005). Les populations cellulaires varient par leur taille et leur granularité, ces propriétés peuvent servir à l'identification de populations cellulaires dans le sang avant l'analyse. En imposant des limites à la taille cellulaire et à la granularité, on peut sélectionner une population cellulaire afin que les analyses ultérieures soient restreintes à ces cellules, les résultats sont exprimés sous forme d'histogrammes avec l'intensité de la fluorescence générée par les anticorps et le nombre de cellules en ordonnée. On peut classer les cellules en quatre groupes selon qu'elle réagissent avec les deux anticorps, avec l'un des deux ou avec aucun, la proportion respective de chaque sous population est alors exprimée par la densité des points, l'ordinateur de l'instrument peut fournir des données quantitatives, les résultats devraient toujours être exprimés en nombres absolus, basés sur le nombre total de globules blancs, les résultats sont obtenus rapidement et facilement par les utilisations compétentes; les résultats sont exacts à cause du grand nombre de cellules comptées (Philippe, 2005).

5.3.2. La numération des neutrophiles et monocytes

Les nombres absolus de ces cellules peuvent être facilement déterminés à partir du comptage total des leucocytes et formules sanguines. Elles peuvent être séparées du sang total par sédimentation et leurs propriétés fonctionnelles étudiées en fonction de différentes phases d'activité (Helen et al., 2004).

La chimiotaxie: est le déplacement cellulaire dirigé par un agent attractif. Pour l'étudier, on utilise habituellement la caséine, la capacité du sérum du patient de générer des facteurs chimiotactiques peut être testée par incubation du sérum frais, après l'incubation, le filtre est fixé et coloré (Helen et al., 2004).

La phagocytose: ou ingestion de matériel étranger, peut être mesurée par incubation des cellules avec des matériels étrangers. Des études croisées utilisant des contrôles normaux pour leur capacité de phagocytes des particules opsonisées avec du sérum normaux (Helen et al., 2004).

Partie pratique

1. Matériel et méthodes

Le présent travail a été effectué au niveau du département de biologie de l'université de Jijel et les analyses immunologiques ont été réalisées au laboratoire privé *LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES* (Dr. Bourouiad, Taher, Jijel).

1.1. Matériel

1.1.1. Entretien des animaux

L'étude expérimentale a été réalisée sur des souris femelles et mâles Albinos NMRI Swiss (institut Pasteur d'Alger).

Ces souris pesant environ (25 – 32g) sont élevés dans des cages en respectant les dimensions 42cm de long x 31cm de large x 16cm de hauteur (les cages ont été nettoyées un jour par semaine). Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture (croquettes à base de maïs).

L'animalerie est maintenue à une température de 21 à 22° c, une hygrométrie de 60%, une luminosité 12/24 et une aération réalisée à l'aide de deux extracteurs. Les souris sont réparties en 2 lots:

Lot 1 : lot témoin composé de 05 souris.

Lot 2 : lot traité par le naphthalène, composé 05 souris.

1.1.2. Traitement des animaux

Les souris ont été traitées par le naphthalène sous forme cristallisé qui est un hydrocarbure aromatique polycyclique. Nous avons administré quotidiennement par voie orale (gavage gastrique) (figure 12) et pendant 06 jours.

La dose administrée pour chaque souris a été calculée selon le poids de chaque souris.

On dispose 50 mg de naphthalène dans 10ml d'huile pour 1000g de souris.

Donc pour une souris de 30 g par exemple, on aura :

$$50\text{mg} \rightarrow 1000\text{g}$$

$$X \rightarrow 30\text{g}$$

$$X = 1,5 \text{ mg.}$$

On a 50mg dilué dans 10ml d'huile.

Donc pour 1,5mg, on aura :

$$50\text{mg} \rightarrow 10\text{ml}$$

$$1,5\text{mg} \rightarrow X$$

$$X = 0,3 \text{ ml}$$

Pour les souris témoins : une souris de 1000g administré 10ml d'huile.

Donc :

$$1000\text{g} \rightarrow 10\text{ml}$$

$$30\text{g} \rightarrow X$$

$$X = 0,3\text{ml}$$

Lot 1 : recevant 0,3 ml d'huile quotidiennement, pendant 06 jours.

Lot 2 : recevant 0,3 ml d'un mélange d'huile plus naphthalène pendant 06 jours.



Figure 12 : Administration par gavage gastrique

1.1.3. Prélèvement sanguin

Pour évaluer l'effet du naphthalène sur l'immunité des souris, nous avons prélevé le sang dans des tubes héparinés (pour FNS) et dans des tubes secs (pour les immunoglobulines) sur des souris jeûnes 12^h au moins au niveau de l'œil et des veines (figure 13,14) et après anesthésie légère par l'éther (pour immobiliser un peu l'animal et au même temps garder la circulation sanguine).

Le prélèvement doit être disposé dans de la glace pour éviter la consommation de l'oxygène par les globules rouges et être adressé au laboratoire analyse sans retard.

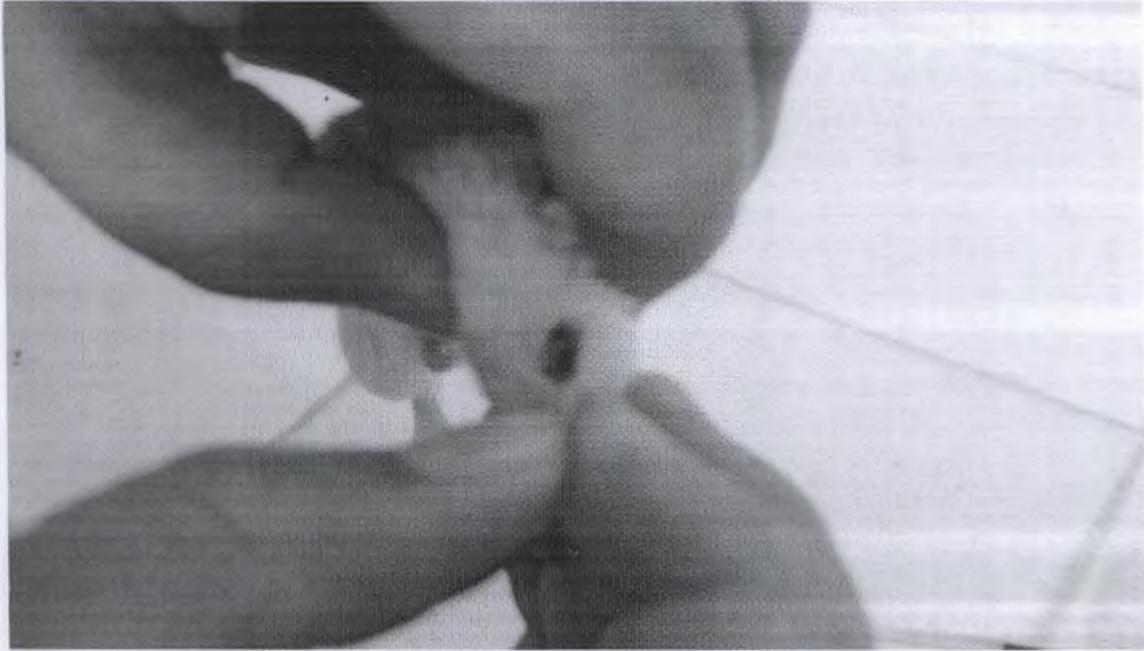


Figure 13 : Prélèvement sanguin par ponction oculaire.

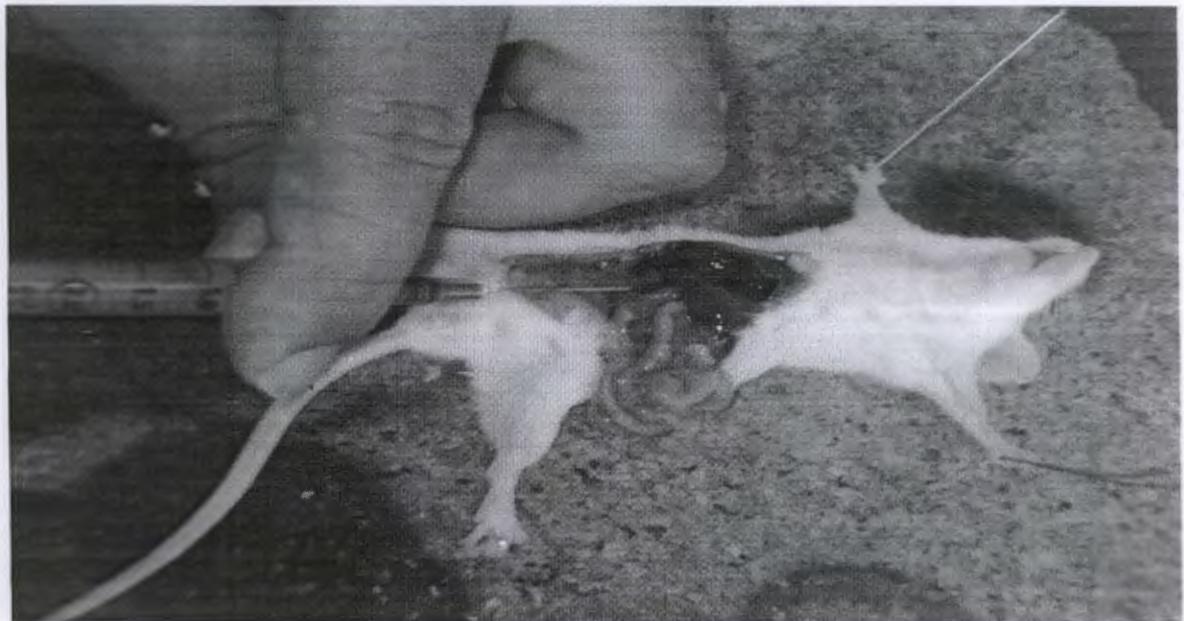


Figure 14 : prélèvement sanguin au niveau des veines.

1.2. Méthodes

L'exploration de l'immuno-toxicité a nécessité l'analyse de quelques paramètres sanguins du système immunitaire. Le prélèvement du sang a été effectué pour déterminer les paramètres suivants:

- Les neutrophiles
- Les Basophiles
- Les éosinophiles
- Les lymphocytes
- Les monocytes

1.2.1. Numération des paramètres sanguins

La numération des paramètres sanguins peut être réalisée automatiquement à l'aide d'un compteur, qui est un analyseur sanguin automatisé pour échantillon de sang entier.

Cette technique de laboratoire a pour but de compter les éléments figurés du sang, donc elle consiste à déterminer le nombre des cellules contenues dans un certain volume de sang, au moyen d'une technique de-quantification électronique.

1.2.1.1. Numération des globules blancs

On compte avec précision le nombre de globules blancs ou de leucocytes contenus dans un volume de sang dilué dans les proportions déterminées, et pour réaliser cette technique on utilise un liquide de dilution qui détruit les autres globules (globules rouges) et les plaquettes mais les leucocytes restent intacts. Que l'on peut compter par la méthode automatique suivante :

Méthode automatique

La méthode de *Coulter* compte et mesure exactement les cellules sanguines par la détection et la mesure des changements dans la résistance électrique. Une suspension des cellules sanguines passe à travers un micro orifice simultanément avec un courant électrique. Chaque cellule passe à travers le micro orifice provoque un changement d'impédance, traduit par une brusque variation de potentiel. Les impulsions correspondent à chaque passage, fournissent deux informations:

- Le nombre d'impulsion au cours de l'analyse d'un volume du sang constant.
- L'amplitude de l'impulsion est proportionnelle au volume de la cellule compté.

Enfin, les plus récents de même échantillon du sang le comptage porte sur un grand nombre de cellules, ce qui augmente la précision et la reproductibilité des résultats. Le coulter permet de déterminer rapidement les paramètres sanguins.

Après le démarrage, l'appareil aspire l'échantillon du sang puis le faire passer à la boîte de dilution, ensuite il compte les cellules et aussi la dimension des cellules. Cet appareil comprend les éléments suivants:

- Un écran pour affichage des résultats, avec des touches d'utilisation.
- Une cuve qui continent le réactif de dilution (ou se faire la dilution).
- Une cuve qui continent le réactif.
- Une cuve qui continent un détergent pour le nettoyage des tuileries.
- Une cuve de dilution ou l'échantillon est diluée.
- Une cuve pour le dégagement et l'accumulation des déchets.
- Deux sondes de comptage.

Après trois lectures successives, l'appareil transmet une moyenne des trois lectures sur une imprimante qui récapitule les résultats sur une fiche.

1.2.2. Evaluation Statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne \bar{X} et d'écartype S . L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des lots traités par le naphthalène à celle du lot témoins en utilisant le test de student à une valeur de risque 5%.

On doit calculer la valeur de t qui est donnée par formule suivante :

$$t = \frac{|\bar{X}_A - \bar{X}_B|}{\sqrt{\frac{S^2}{N_A} + \frac{S^2}{N_B}}}$$

$|\bar{X}_A - \bar{X}_B|$: signifie la valeur absolue de la différence.

\bar{X}_A : la moyenne pour un paramètre A.

\bar{X}_B : la moyenne pour un paramètre B.

$$S^2 = \frac{s^2 \cdot A \cdot (N_A - 1) + s^2 \cdot B \cdot (N_B - 1)}{(N_A - 1) + (N_B - 1)}$$

N : le nombre de mesure.

Après la calcul de t, on cherche dans la table de la valeur correspondant aux degrés de liberté qui est égale à $N_A + N_B - 2$. La valeur trouvée par le calcul de t peut affirmer que les populations différent avec un risque d'erreur P tel que :

- $P > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative.
- $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative.
- $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

2. Résultats

2.1. Evaluation les globules blancs (Leucocytes)

Les résultats de l'évaluation de l'effet immuno-modulateur du naphthalène sur le système immunitaire des souris traitées par ce HAP pendant 6 jours sont récapitulés dans les tableaux 4, 5 et 6.

Tableau 4 : Numération formule sanguine chez les témoins

Souris	1	2	3	4	5	Unite
Leucocyte globale						
Leucocytes	8,8	2,8	5,8	6	6	$\times 10^3 / \mu\text{L}$
Neutrophile	75	35	52	56	32	%
Basophile	00	00	00	00	00	%
Lymphocyte	19	62	46	42	68	%
Monocyte	05	03	02	02	00	%
Eosinophile	01	00	00	00	00	%

Tableau 5 : Numération formule sanguine chez les souris intoxiquées.

Souris	1	2	3	4	5	Unites
Leucocyte globale						
Leucocytes	5,7	4,6	6,5	7,8	11,7	$\times 10^3 / \mu\text{L}$
Neutrophile	16	20	36	40	25	%
Basophile	00	00	00	00	00	%
Lymphocyte	81	80	62	60	73	%
Monocyte	02	00	02	00	02	%
Eosinophile	01	00	00	00	00	%

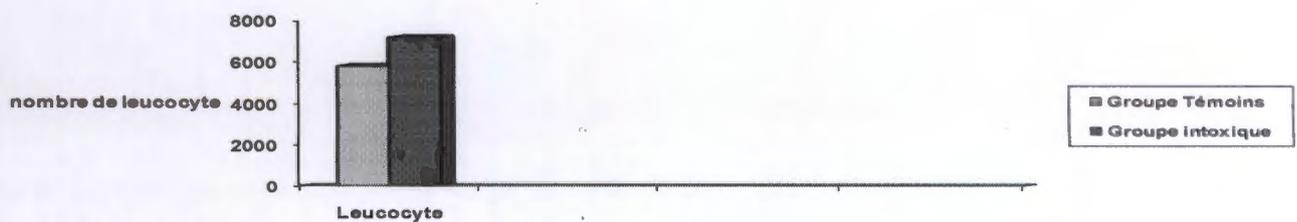
Tableau 6 : Evaluation du nombre des leucocytes sur μl chez le souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.

Souris \ Leucocyte	Leucocyte globale	Neutrophile	Eosinophiles	Basophiles	Lymphocyte	Monocytes
Groupe Témoins	5880	3175	17	00	2535	152
Groupe Intoxiqué	7260	2043	11	00	5109	95

2.1.1. Evaluation des leucocytes

Tableau 7: Variation du nombre des leucocytes chez les souris témoins et les traités.

souris	Leucocyte globale
Groupe Témoins	5880
Groupe traités	7260

**Figure 15**: Evaluation du nombre des Leucocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.

L'analyse statistique révèle qu'il n'existe pas une différence significative entre les souris témoins et les souris traités ($0,05 > P$), (Tableau 7, Figure 15)

2.1.2. Evaluation des lymphocytes

Tableau 8 : Variation de nombre des lymphocytes chez les Souris témoins et les traités.

Souris	Lymphocyte
Groupe témoins	2535
Groupes traités	5109

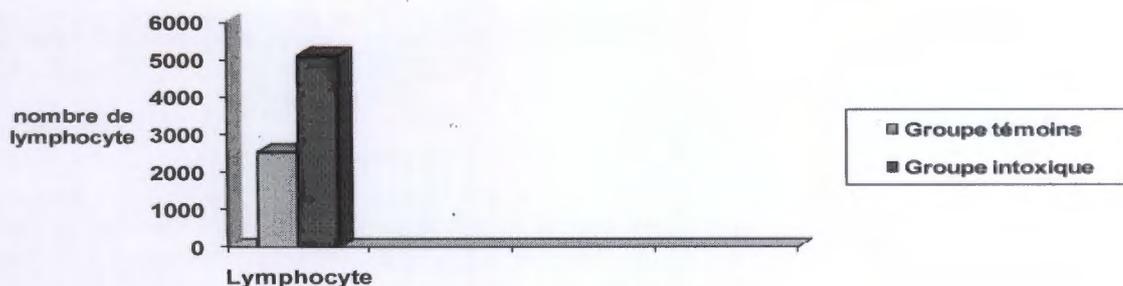


Figure 16 : Evaluation du nombre des lymphocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.

L'analyse statistique des lymphocytes révèle la présence d'une différence significative entre les souris témoins et les souris traités ($P < 0,05$), (tableau 8, figure 16).

2.1.3. Evaluation des neutrophiles

Tableau 9 : Variation de nombre des neutrophiles chez les souris témoins et les traités.

Souris	Neutrophile
Groupe témoins	3175
Groupe intoxiqué	2043

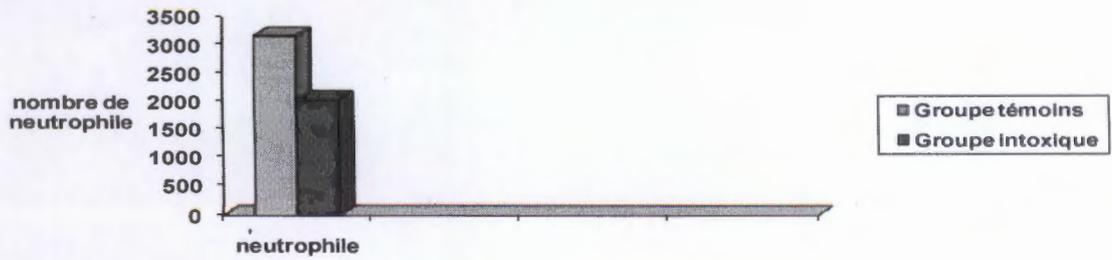


Figure17 : Evaluation du nombre des neutrophiles chez les souris après 6 jours de traitement.

L'analyse statistique des neutrophiles révèle qu'il n'existe pas une différence significative entre les souris témoins et les souris traités ($P > 0,05$) (tableau 9, Figure 17).

2.1.4. Evaluation des basophiles

Tableau 10 : Variation de nombre des basophiles chez les souris témoins et intoxiqués.

Souris	Basophile
Groupe témoins	00
Groupe intoxique	00

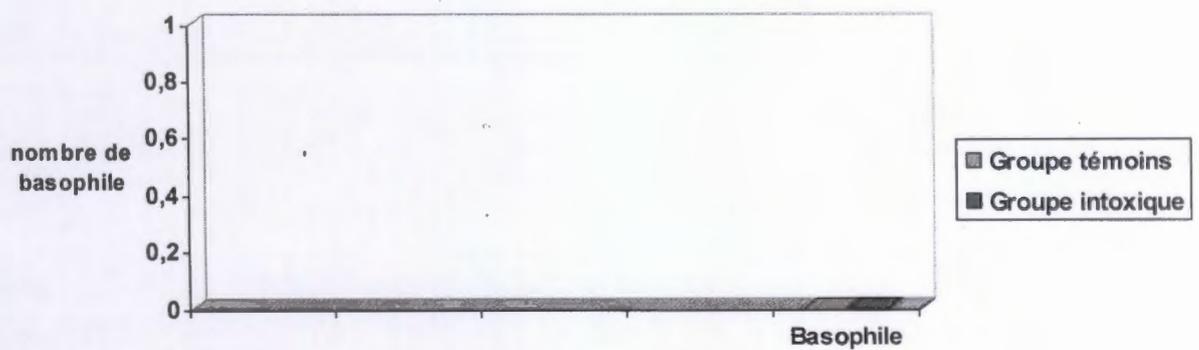


Figure 18 : Evaluation du nombre des basophiles chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.

L'analyse statistique des basophiles révèle qu'il n'existe pas une différence significative entre les souris témoins et souris traités ($P > 0,05$) (tableau 10, Figure 18).

2.1.5. Evaluation des monocytes

Tableau 11 : Variation de nombre des monocytes chez les souris témoins et les traités.

Souris	monocyte
Groupe témoins	152
Groupe intoxique	95

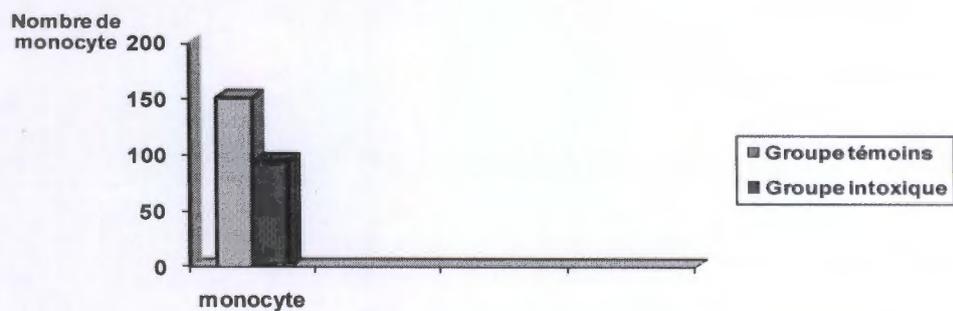


Figure19 : Evaluation du nombre de monocytes chez les souris témoins et intoxiqués après six jours de traitement.

L'analyse statistique des monocytes révèle qu'il n'existe pas une différence significative entre les souris témoins et souris traitées ($P > 0,05$) (tableau 11, Figure 19).

2.1.6. Evaluation des Eosinophiles

Tableau 12 : Variation de nombre des éosinophiles chez les souris témoins et les traités.

Souris	Eosinophile
Groupe témoins	17
Groupe intoxique	11

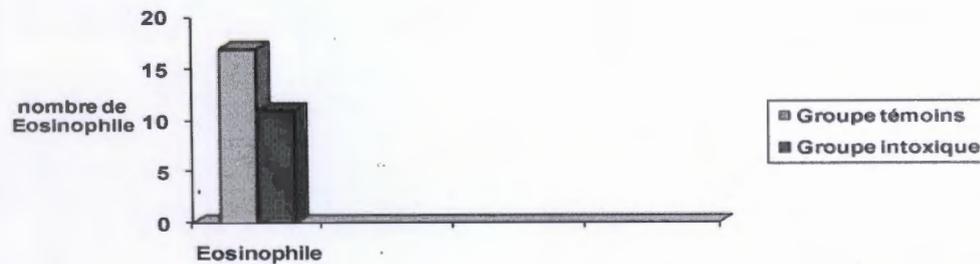


Figure 20 : Evaluation du nombre des éosinophiles chez les souris après six jours de Traitement.

L'analyse statistique des éosinophiles révèle qu'il n'existe pas une différence significative entre les souris témoins et souris traitées ($P > 0,05$) (tableau 12, Figure 20).

Le naphthalène est un des HAPs toxiques sur la santé humaine, c'est la raison pour laquelle nous avons procédé dans notre travail, et d' part à l'évaluation de leur toxicité sur le système immunitaire.

Après l'administration d'une dose quotidienne par gavage de 50mg/Kg pendant 06 jours aux animaux de laboratoire suivi par un examen hématologique par FNS, nous avons constaté une augmentation du nombre des leucocytes (hyperleucocytose) chez les souris traitées par rapport aux souris témoins néanmoins l'étude statistique ne montre aucune différence significative du niveau des leucocytes chez les souris traitées comparées aux souris témoins.

Le National Toxicology program (NTP) a classé le naphthalène comme une substance toxique que lorsqu'on peut stimuler le système immunitaire chez les humains. A la lumière de données suffisantes fournies par des études sur des animaux de laboratoire des groupes de souris B6C3F1 mâles et femelles exposés à des concentrations jusqu'à 157 mg/ m³ de naphthalène pendant 10 semaines ; les résultats confirment que le naphthalène entraîne une augmentation des leucocytes dans le sang (NTP, 1992a).

Notre travail a montré par contre une augmentation significative des lymphocytes (<0, 05) par rapport aux témoins. Les résultats de Lehmann et al., 2002 confirment que le naphthalène entraîne une augmentation des lymphocytes dans le thymus et les ganglions lymphatiques chez des rats mâles et femelles F1 recevant une dose 25 mg/ kg pendant 10 jours (Lehmann et al., 2002). Un peu plus tard Chen et ses collaborateurs (2007) ont obtenus les mêmes résultats avec la même dose et la même durée de traitement.

La réponse immunitaire effectuée par la formation et la persistance des lymphocytes, permet une attaque immunitaire de naphthalène, soit par une réponse immunitaire à médiation cellulaire (lymphocytes T) ou par une réponse immunitaire à médiation humorale (lymphocytes B) (Halliday et Muller, 1987). Les cellules T et B sont produites dans la moelle osseuse, organe hématopoïétique (génération des éléments figurés du sang) (Belhani et al., 1987).

Les cellules B entrent dans un état quiescent et le demeurent jusqu'à ce qu'elles rencontrent le naphthalène. La contacte avec le naphthalène et les immunoglobulines de membrane active les lymphocytes B. Les cellules B ne sont pas seulement des cellules effectrices capables de synthétiser les immunoglobulines, ils peuvent également apprêter et présenter de naphthalène aux lymphocytes T spécifiques. Ce type d'interaction entre les lymphocytes T et B permet la prolifération et la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes, ces derniers sont capables

Discussion

de produire des anticorps qui migrent vers le naphthalène pour former des complexes puis détruisent le naphthalène (**Anderson et al., 1995**).

Par ailleurs les résultats de la présente étude ont montré une diminution en nombre des neutrophiles, des basophiles, des éosinophiles et des monocytes. En effet, l'analyse statistique révèle qu'il n'existe aucune différence significative entre les souris intoxiquées et les souris témoins ($P > 0,05$).

Les travaux de Lehmann et ses collaborateurs (2002) ont apporté l'évidence que le naphthalène provoque des perturbations et des troubles sur la moelle osseuse avec destruction complète des éléments hématopoïétiques causant ainsi une diminution en nombre de ces cellules.

Conclusion

Les effets toxiques du naphthalène et autres HAPs sur le système immunitaire sont bien documentés et prouvés dans plusieurs recherches.

L'administration d'une dose de naphthalène à des souris *Albinos NMRI swiss* pendant 6 jours, suivi par l'évaluation de l'immuno-modulation a montré une augmentation non significative des leucocytes globales. Cette augmentation a été enregistrée d'une manière significative plutôt pour les lymphocytes, alors qu'une diminution non significative au niveau des autres sous classes leucocytaires (neutrophiles, Basophiles, éosinophiles, monocytes) a été bien enregistrée dans cette présente étude.

D'après les résultats obtenus, il est clair donc que le naphthalène exerce bien une modulation sur le système immunitaire de souris traitées.

Il est conseillé d'adopter une pratique visant à diminuer l'effet des HAPs sur la santé de l'homme et à réduire les risques d'exposition à ces produits en :

- Eliminant la consommation de tabac, notamment dans les bâtiments fermés.
- Installant adéquatement les poêles et les foyers à combustion lente qui sont une source importante d'émission de HAPs. Une attention particulière doit donc être apportée à leur entretien.
- Utilisant du bois dur, séché adéquatement et en consommant modérément les aliments frits ou cuits sur charbon de bois (brochettes et grillades, barbecue).

- Alain D., 2003.** Que sait-on des effets de l'incinération des déchets sur la santé. P: 3- 5-13-15-17-18.
- Albert RE., Miller ML., Cody T., Andringa A., Shukla R., Baxter CS., 1991.** Benzo (a) pyrène-induced skin damage and tumor promotion in the mouse. *Carcinogenesis* Jul; 12(7):1273-80.
- Andeson C., Hehr A., Robbins R., Hassan R., Athar M., Mukhtar H., Elmetts CA., 1995.** Besois metabolic induction of contact hypersensitivity to immunotoxic polyaromatic hydrocarbons *J.Immunol.*155, 3530-3537.
- Bauer JE., Capon DG., 1985.** Effects of four aromatic organic pollutants on microbial glucose metabolism and thiazine incorporation in maine sediment. *Appl Environ Microbiol*, 49, 828-835.
- Belhani M., Bachir D., Belobes S., Smaili F., Bouzid K., 1987.** Hématologie office des publications universitaires 22-74.
- Bergstedt BV., Veith GD., Defoe DL., 1979.** Measuring and estimating the bioconcentration factors of chemicals in fish. *J Fish Res Board Can*, 36, 1040- 1048.
- Boisset M., Narbonne J F., 1996.** Les hydrocarbures polycycliques aromatiques dans l'alimentation : évaluation et gestion des risques, conseil supérieur d'hygiène publique de France, Lavoisier, 237PP.
- Bonassi S., Abbondandolo A., Camurri L., Dal Pra L., De Ferrari M., Degrassi F et al., 1995.** Chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet* Feb; 79 (2):133-5.
- Bosetti C., Boffetta P., 2007.** Vecchia c. Occupational exposures to polycyclic aromatic Hydrocarbon and respiratory and urinary tract cancers: a quantitative review to 2005. *Ann Oncol* Mar ; 18 (3) 431 – 46.
- Briefert C., Perraud., 2003.** Chimie d'environnement, P : 244-245-246.
- Burczynski ME., Penning TM., 2000.** Genotoxic polycyclic aromatic hydrocarbon orth-quinones generated by aldo-keto reductases induce CYP1A1 via nuclear translocation of the aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Res* Feb 15 ; 60 (4) : 908-15.

- Calabrese EJ., 1986.** Ecogenetics : historical foundation and current status. *J Occup Med*, 28, 10,1096-1102.
- Campelle RB., Robertson JM., Totter J., 1962.**The crystal structure of hexacene and a revision of polycyclic aromatic hydrocarbons .vol.15.n5, marc.p:289-290.
- Cavallo D, Ursini C, Di Filippo P, Ciervo A, Spicaglia S, Pomata D, et al., 2009.**Evaluation of Direct-Oxidative DNA Damage on Human Lung Epithelial Cells Exposed to Urban Airborne Particulate Matter *Water Air Soil Pollut* April 2009 ; 9. (1-2):69-77.
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Quebec, 2008.**
- Charles A., Janemay., Panltravers., Mark J., Shlamchik, 2003.**immunologie Biologie 2^{eme} éd Francaise. P: 55, 312,313.
- Chen J., Falcomer R., Tracy BL., 2007** - Preliminary results of naphtalene in Ottawa homes, *Can J. Res P.*
- CITEPA 2009.** Inventaire des émissions de polluants atmosphériques en France- Séries sectorielles et analyses étendues : Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique.
- Conney AH., 1982.**Induction des enzymes microsomales par des produits chimiques étrangers et la cancérogenèse par les hydrocarbures polycycliques aromatiques.*Cancer Res.*42, 4875-4917.
- Corrigan, Benacerraf B., Carswell E., 1998.** Contactez-réactivité aux agents hydrocarbures polycycliques aromatiques.*Nature* 198,1215.
- Chen MR., Tsai PJ., Wang YF., 2008.**Assessing inhalatory and dermal exposures and their resultant health-risks for workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contained in oil mists in a fastener manufacturing industry. *Environment international* Oct; 34(7):971-5.
- David. M., 2005.** Immunologie Aide mémoire illustré 4^{eme} éd anglaise. P: 22, 24, 25.

David R., 2009. Lide, CRC Handbook of chemistry and physics, CRC press Inc, 90^e éd. Relié, 2804 P.

Delaune RD., Hambreck GÁ., Patrick WH., 1980. Degradation of hydrocabons in oxidised and reduced sediments. *Mar Pollut Bull*, 11, 103-106.

Delfino JJ., Miles CJ.1985.Aerobic and anaerobic degradation of organic contaminants in hydrocarbons. *Proc Soil Crop Sci Fla*, 44, 9-14.

Demaio L., Corn M., 1966. Polynuclear aromatic hydrocarbon associated with particulates in Pittsburgh air. *Journal of the Air Pollution Control Association Feb*; 16 (2) : 67 – 71.

Descotes J., François T., patrick F., 1992. L'urgence en toxicologie, P. 174,175, 180, 181.

Desforges, Dawson J., Thayer., 1958.Acute hemolytic anemia the new borne infant due to naphthalene poisoning: Report of two cases, with in vestigation in to the mechanisme of the disease.13.p:1113-1125.

Doonaert B., Pichard A., 2003. Hydrocarbures Aromatiques polycycliques (HAPs). Rapport final. ETSC: *INERIS 2003*.

Durant JL., Busby WF., Lafleur AL., Penman BW. Crespi CL., 1996. Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbon associated with urban aerosols. *Mutat Res Dec 20*; 371 (3 – 4): 123 – 57.

EFSA.2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food-Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *The EFSA Journal*; 724:1-114.

EFSA (2008a). Polycyclic aromatic hydrocarbons in food. Scientific option of the Panel on Contaminants in the Food Chain. Question No EFSA-Q-2007-136.

http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902034842.htm.

EFSA (2008b). Finding of the EFSA Data Collection on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. A report from the Unit of Data Collection and Exposure on a request from the European Committee (First issued on 29 June 2007 and revised on 31 July 2008)

Elmets., Panltravers. Whelan., Roitt, 1992. Immunologie. P: 513,514, 620.

Eric E ., Pascal C., 2006. Immunologie. Ellipses Edition Marketing S.A, rue Bague.75740 Paris cedex. P: 18.

Francois Ramade., 2000-Déctionnaire Encyclopédique des pollutions, P : 217-218-219-221.

Frangé M., Whelan A., Peter L., 2002. Immunologie.Edition De Boeck Université rue de Bruxelles. P: 102

Gaertner RR., Theriault GP., 2002. Risk of bladder cancer in foundry workers: a meta-analysis. Occupational and environmental medicine Oct; 59(10):655-63.

Grandjean P., Landrigan P J., 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. Lancet. 368: 2167-78.

Gerard T., Funke C., 2003. Microbiologie. Edition ERPI. P: 545.

Grimmer G., Brune H., Dettbarn G., Jacob J., Misfeld J., Mohr U., et al., 1991. Relevance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. *Fresenius journal of analytical chemistry*; 339, no (12 ref.), pp. (10):792-5.

Gyorffy E., Anna L., Gyori Z., Segesdi J., Minarovits J., Soltesz I. et al., 2004. DNA adducts in tumour, normal peripheral lung and bronchus, and peripheral blood lymphocytes from smoking and non-smoking lung cancer patients: correlations between tissues and detection by 32P –postlabelling and immunoassay. *Carcinogenesis* Jul; 25 (7): 1201-9.

Halliday GM., Muller HK. 1987. Sensibilisation par cancérogène induit par la peau des cellules de langerhans déficientes active spécifique à long vécu cellules suppressive à la fois pour l'immunité cellulaire et humorale. *Celle. Immunol.* 109, 206 -221.

Helen C., Mansel H., Siray Misbah., Neil S., 2004. immunologie Clinique.4^{ème} éd. Edition De Boeck Université rue des Minimes 39, B- 1000 Bruxelles Francaise. P: 330,331.

INERIS, 2007 .Hydrocarbures Aromatiques polycycliques dans l'aire ambiante. Page 9,45 et 46.

Jacques Charlemagne., 1989- le système immunitaire. Hermann, 293 rue Lecourbe, 75013 Paris.
P: 27, 28, 32,33.

Jager J., Rakovic M., 1974 .Suplhur – dioxide –induced qualitative changes in polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on solid carriers. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology*; 18 (2) : 137-43.

James Lowe., Alan Stevens., 1996- Histologie humaine.3^{eme} éd anglise. P: 28.

Janeway., Charles. A., Paul Travers., Mark Walport Marki J., Shlamchik, 2003. Immunologie Biologie 2^{eme} éd Francaise. P: 6, 7,8.

Jean., Pierre R., 2001. Immunologie. 4^{eme} éd. De Boeck Université rue des Minimes 39,B1000 Bruxelles. P: 13.

Jean Paul Curtay, 1994. Bases scientifique et pratique médical.2^{eme} éd française. P:67-68.

INARIS, 2007. Hydrocarbures polycycliques aromatiques dans l'aire ambiente.p:9, 45, and 46.

Iwona O., krystyna B., 2004. Recommended Critical Temperatures. Part II. Aromatic and Cyclic Hydrocarbons. *Dans J.Phys. Chem. Ref. Data, vol. 33, n°2, 30 avril 2004, p.541.*

Ketterer B ., Harris JM., Talaska G., Meyer DJ., Pemble SE., Taylor JB et al., 1992. The human glutathione S-transferase supergene family, its polymorphism, and its effect on susceptibility to lung cancer. *Environmental health perspectives Nov*; 98:87-94.

Kim J., Stransbury K., Walker N.,Trush M., Strickland P., Sutter T.,1998.Metabolism of Benzo (a) pyrène and Benzo (a) pyrene-7,8-diol by human cytochrome P450 1B1 Carcinogenesis ;19(10) :1847-53.

Kim JY., Chung JY., Park JE., Lee SG., Kim YJ., Cha MS et al., 2007.Benzo (a) pyrene induces apoptosis in RL95-2 human endometrial cancer cells by cytochrome P450 1A1 Activation. *Endocrinology Oct*; 148(10):5112-22.

Kuljukka-Rabb T., Peltonen K., Isotalo S., Mikkonen S., Rantanen L., Savela K. 2001. Time- and dose- dependent DNA binding of PAHs derived from diesel particle extracts, benzo (a) pyrène and 5-methylchrysene in a human mammary carcinoma cell line (MCF- 7). *Mutagenesis Jul* ; 16 (4) : 353-41.

Léger A., Paget J L., 1984. Astronomy and Astrophysics (ISSN 0004- 6361). Vol. 137. No. 1, Aug. 1984 P.LS- L.8 « Identification of the unidentified ».

Lehmann I., Rehwagen M., Diez U, Seiffart A., Richter M., 2002. The influence of naphtalene exposure to volatile organic compounds on the immunitair system profile of cells. *Environ Toxicol*; 17: 203 - 10.

Lei W., Yu R., Mandlekar S., Kong AN.,1998- Induction of apoptosis and activation of interleukin by polycyclic aromatic hydrocarbons.*Canser Res May* 15;58(10):2102-6.

Lemiere B., Seguin JJ., Guern C., Guyonnet D., Baranger.P.H., 2001-Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes.P :29-28.

Lewtas J., Gallagher J., 1990. Complex mixtures of urban airpollutants: identification and comparative assessment of mutagenic and tumorigenic chemicals and emission sources. *IARC scientific publications 1990* (104):252-60.

Lundstedt S., White PA., Lemieux CL., Lynes KD., Lambert IB., Oberg L., et al., 2007. Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites. *Ambio Sep*; 36 (6): 475 – 85.

Marc J Olivier., 2007-Chimie d'environnement .5^{ème}éd, PJB Editeur Lévis, chap. 6 (La pollution par les produits organiques anthropiques).

Martin., Seamus J., Peter J., Delves., Dennis R. Burton., Ivan M. Roitt., 2008. Fondements de l'immunologie, 7^{ème}éd anglise P:37,38.

Marie C., 2007. Recherche de nouveaux biomarqueurs d'exposition aux hydrocarbures polycycliques aromatiques à travers l'étude des lésions de l'ADN chez l'homme. Grenoble : *Université Joseph Fourier*2007.

Mastrangelo G., Fadda E., Marzia V. 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. *Environ Health Perspect* ; 104 (11): 1166 – 70.

Mavroukakis SA., Rosenberg. SA. , 2006. La regression du cancer chez les patients après le transfert de lymphocytes génétiquement modifiés. *Science* 314,126-129.

Miller KP., Ramos KS., 2001. Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo (a) pyrène and related hydrocarbons. *Drug metabolism reviews Feb*; 33 (1) : 1- 35.

Ministère de l'emploi., 2005. Les expositions aux produits cancerogènes enquête SUMER.

Moir D., Viau A, Chu I., Withey J., McMullen E., 1998. Pharmacokinetics of benzo (a) pyrène in the rat. *J Toxicol Environ Health A Apr 10*; 53 (7): 507-30.

Moody RP., Nadeau B., Chu I., 1995. In vivo and in vitro dermal absorption of benzo (a) pyrène in rat, guinea pig, human and tissue- cultured skin. *J Dermatol Sci Jan*; 9 (1): 48- 58.

MorganRJ.,DudleyME.,WunderlichJR.,HughesMS.,YangJC.,SherryRM.,RoyalRE.,Topalian SL.,Kammul.,Etatunis,RestifoNP.,ZhengZ.,NahviA.,DevriesCR.,RogersLJ., Moriya M., 1993. Single-stranded shuttle phagemid for mutagenesis studies in mammalian cells :8-oxoguanine in DNA induces targeted G.C.T.A transversion in simian kidney cells.*Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America Feb 1* ; 90(3) :1122-6.

Nielsen PH., Christensen TH., 1994-Variability of biological degradation of aromatic hydrocarbons in an aerobic aquifer determined by laboratory batch experiment. *J Contam Hydro*, 15, 305-320.

Nikolaou K., Masclet P., Mouvier G., 1984. Sources and chemical reactivity of polynuclear aromatic hydrocarbon in the atmosphere – a critical review.

Noelle Genetet., 1995. immunologie-3^{ème} éd P: 502, 513,516.

NTP, 1992a. National Toxicology program 1992a. Toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene – Research Triangle Park: (NC). *Technical Report 410, NIH Publication.*

Penning TM., Burczynski ME., Hung CF., Mccoull KD., Palackal NT., Tsuruda LS., 1999. Dihydrodiol dehydrogenases and polycyclic aromatic hydrocarbon activation: generation of reactive and redox active o-quinines. *Chem Res Toxicol Jan*; 12 (1): 1-18.

Penning TM., Ohnishi ST., Ohnishi T., Harvey RG., 1996. Generation of reactive oxygen species during the enzymatic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon trans- dihydrodiols catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. *Chem Res Toxicol Jan – Feb*; 9 (1): 84-92.

Peter Lydyard., Franger M., 1998. immunologiegénéral P: 125.

Peter L., Franger M., Whelan A., 2002. Immunologie édition Berti. P: 158.

Peter P., 2003. Le système immunitaire, éd 7^{ème}, rue Jacquemont F-75017 Paris rue des Minimes 39, B-100 Bruxelles-Francaise. P: 1.

Philippe L., 2005. Immunologie général 7^{ème} éd. P155- 156.

Philippe L., 2007. Immunologie general 8^{ème} éd Francaise. P: 113, 114.8.

Pezzutto A., Gerd-Rudiger B., 2005. Atlas de poche d'immunologie, 2^{ème}éd Francaise. P: 4, 5,83.

Pitts JN., Jr., Lokensgard DM., Ripley PS., KA VANC., L VANV., Shaffer SD et al., 1980 “ Atmospheric” Epoxidation of Benzo (a) pyrène by Ozone: Formation of the Metabolite Benzo (a) pyrene - 4,5 – Oxide. *Science (New York, NY Dec 19*; 210 (4476): 1347 – 9.

Pitts JN., Jr., Van Cauwenberghe KA.,Grosjean D.,Schmid JP.,Fitz DR., Belser WL, et al.,1978.Atmospheric reaction of polycyclic aromatic hydrocarbons : facile formation of mutagenic nitro derivatives. *Science (New York, NY Nov 3*; 202 (4367): 515 – 9.

Pouget JP., Douki T., Richard MJ., Cadet J. 2000. DNA damage induced in cells by gamma and UVA radiations as measured by HPLC / GC – MS, HPLC – EC and comet assay. *Chemical Research in Toxicology*; 13: 541 – 9.

Reichl.,Jochen.,Monik B.,Barbara H.,Ines.C.,Gilly.,Helmut K.,Berhard L.,Harald M.,Ladislans S.,Thomas Z.2004. Guide pratique de toxicology 2^{ème} éd allemande. P: 94.

Rosario Sienna M., Roses N., Prendez M., 2005. polycyclic aromatic hydrocarbons and their molecular diagnostic ratios in urban atmospheric respirable particulate matter. *Atmospheric Environnement*; 75(4): 267-81.

Salas VM., Burchiel SW., 1998. Apoptosis in Daudi human B cells in response to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol Aug*; 151(2):367-76.

Schaffer RL., Riley RT., Mix MC., Bunting DL., 1981. Uptake and accumulation of naphthalene by the oyster *Ostrea edulis*, in a flow-through system. *Marine Biol*, 61, 267- 276.

Scientific Committee on Food, 2002.

SCF (2002). Opinion of the Scientific Committee on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. (*SCF/CNTM/PAH/29 Final*), 4 December 2002.

http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out153_en.pdf.

Sheu HL., Lee WJ., Lin SJ., Fang GC., Chang HC., You WC., 1997. Particulate-bound PAH Content in ambient air. *Environ Pollut*.

Shuttleworth, 1995. La chimie atmosphérique de hydrocarbures aromatique polycycliques. *Pollut. Atmos.* 117 : 25 -31.

Smith D, Harrison RM., 1996. Concentrations, trends and vehicle source profile of polynuclear aromatic hydrocarbons in the U.K atmosphere. *Atmosphère Environment* 1996; 30 (14):2513-25.

Smithgall TE., Harvey RG, Penning TM., 1988. Spectroscopic identification of ortho-quinones as the products of polycyclic aromatic trans-dihydrodiol oxidation catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. A potential route of proximate carcinogen metabolism. *J Biol Chem Feb* 5; 263 (4):1814-20.

Speight JG., Norbert Adolph Lange., 2005. Lange's handbook of chemistry, McGraw-Hill, 16 éd.p:1623 -2289.

- Szczeklik A., Szczeklik J., Galuszka Z., Musial J., Kolaezyk E., Targosz D., 1994.** Humoral immunosuppression in men exposed to polycyclic aromatic hydrocarbon and related carcinogens in polluted environments. *Environmental health perspectives Mar*; 102 (3): 302-4.
- Tebbens BD., Thomas JF., Mukai M., 1966.** Fate of arenas incorporated with airborne soot. *American Industrial Hygiene Association Journal Sep – Oct*; 27 (5): 415 – 22.
- Templeton E, Tingle M., Pirmohmed M. (1993)** –An investigation of the formation of cytotoxic, genotoxic protein- reactive and stable metabolites from naphthalene by human liver microsomes. *Biochem pharmacol*, 46 (9), 1529-1538.
- Tokiwa H ., Sera N., Nakashima A, Nakashima K., Nakanishi Y, Shigematu N., 1994 .** Mutagenic and carcinogenic significance and the possible induction of lung cancer by nitro aromatic hydrocarbons in particulate pollutants. *Environmental health perspectives Oct*; 102 Suppl 4: 107 – 10.
- USEPA, 1984.** Review and evaluation of the evidence for cancer associated with air pollution. Arlington: *U.S. Environmental Protection Agency 1984 Contract No.: EPA-450/ 5-83-006R.*
- USEPA, 1993.** Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. Cincinnati: *United State Environmental Protection Agency 1993.*
- Vanrooij JG., Bodelier- Bade MM., Jongeneelen FJ., 1993.** Estimation of individual dermal and respiratory uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons in 12 coke oven workers. *British journal of industrial medicine Jul*; 50 (7) : 623- 32.
- Veronique D., Vandooren J., 2008.** Chimie de la combustion – Flamme à base d'hydrocarbures – *Techniques de l'ingénieur AFP4*, P : 6210 / 11 – 6210 / 12.
- Verschuerenk, 1996.** Naphthalene. Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, Van Nostrand Reinhold Co. 3rd Ed, pp. 1756-1762.
- WHO/IPCS (1998).** Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental Health Criteria 202. International programme on Chemical Safety, World Health Organization, and Geneva.

Wolfo, 1978. carcinoma of the lynx in naphthalene purifier's .Z Ges Hyg., 24,737-739.

Wolfo, 1976- Cancers in chemical Workers in a former naphthalene purification plant. *Dot Gesundh Wesen*, 31, 996-999.

Xue W., Warshawsky D. ,2005. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: a review. *Toxicol Appl Pharmacol Aug 1*; 206 (1): 73-93.

Yang SK, 1988. Stereo selectivity of cytochrome P450 isozymes and epoxide hydrolase in the metabolisme of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biochem Pharmacol*; 37:61-70.

Encadré par :	Présenté par:	Date de soutenance :
Dr. Kebeich M	Bitat Loubna Bouhroum Soumia	07/07/2010

Thème: Effet des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur le système immunitaire chez les souris *Albinos NMRI swiss*

Nature du diplôme: Diplôme d'étude Supérieure (D.E.S) Biochimie

Résumé

La présente étude porte sur l'évaluation de l'effet toxique du naphthalène sur le système immunitaire. Le traitement des animaux par le naphthalène à la dose 50 mg/ kg pendant 06 jours a entraîné une modulation au niveau du système immunitaire chez les souris traitées par rapport aux témoins. L'analyse du sang par FNS nous a permis de constater que le naphthalène entraîne une augmentation non significative du nombre des leucocytes. Cette augmentation plutôt s'avère significative par rapport aux lymphocytes. Par ailleurs une diminution non significative des autres sous classes leucocytaires a été bien enregistrée.

Les mots clés

HAPs, naphthalène, effet toxique, Immuno-modulation.

Abstract:

This study focuses on evaluating the toxic effect of naphthalene on the immune system. The treatment of animals by naphthalene at a dose 50 mg / kg for 06 days resulted in a modulation of the immune system in mice treated compared with the control. Analysis of blood by NSF we found that naphthalene antrain a nonsignificant increase in the number of leukocytes. This increase is rather significant compared to lymphocytes. In addition, a nonsignificant decrease of other leukocyte subclasses has been well recorded.

المخلص:

ترتكز هذه الدراسة على تقييم التأثير السمي للنفتالين على الجهاز المناعي. إن معاملة الحيوان ذات النفتالين بجرعة 50 ملغم / كجم خلال ستة أيام أدى إلى تعديل على مستوى النظام المناعي لدى الفئران المعالجة مقارنة بالفئران الشاهدة. إن تحليل الدم بواسطة FNS بين لنا أن النفتالين أدى إلى زيادة غير معنوية في عدد الثريات الدموية البيضاء. عدد الزيادة تكون على مستوى عدد الخلايا الليمفاوية من جهة أخرى نلاحظ انخفاض غير معنوي في عدد الأوراع الأخرى. الثريات الدموية البيضاء.

-Faculté des sciences-