

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire de Jijel

Abdelhak Ben hamouda

023

Institut des Sciences de la Nature

Bc. 09. 2003

# Mémoire

01/01

En vue de L'obtention du diplôme  
D'études supérieur en biologie

Option : Biochimie

قائمة و تلميذا و بلاد تليان  
المعتمدين  
المعتمدين

## Thème

# L'étude de la toxicité hépatique du Paracétamol

Présidente : M<sup>elle</sup> BOUHAFS Leila

Examineur : M<sup>r</sup> HEMISSI Ahmed

Encadreur : M<sup>r</sup> LAHOUEL Mesbah

Réalisé par :

- ❖ BOUHAMI Hizia
- ❖ MAHROUK Nedjoua
- ❖ KHELLAF Nassima



Promotion 2003

# REMERCIEMENTS

*Nous tenons à remercier notre encadreur: Dr. LAHOUEL Mesbah d'avoir accepté de diriger ce travail, qui nous a toujours accueillis avec bienveillance qui n'a ménagé ni son temps ni son effort pour nous guider et aussi à Melle. BOULKOUR S.*

*Nous remercions les membres du jury qui ont accepté de juger notre travail.*

*Aussi, nous remercions l'équipe du laboratoire de biologie.*

*Nous remercions également tous ceux qui nous ont aide de près ou de loin lors de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.*

*Hizia*

*Nassima*

*Nedjoua*

# Sommaire

# SOMMAIRE

<i>Introduction</i> .....	01
<b>I. Analyse bibliographique</b>	
<b>I.1. Le foie</b>	
<i>I.1.1. La physiologie du foie et les principales lésions hépatiques</i> .....	02
<i>I.1.1.1. La physiologie du foie</i> .....	02
<i>I.1.1.1.1. Généralités</i> .....	02
<i>I.1.1.1.2. Les fonctions du foie</i> .....	03
<i>a. Le rôle structural</i> .....	03
<i>b. Le rôle du foie dans la détoxication</i> .....	05
<i>I.1.1.1.3. La toxicité du foie</i> .....	06
<i>I.1.1.2. Les principales lésions hépatiques</i> .....	09
<i>I.1.1.2.1. Les hépatites médicamenteuses</i> .....	09
<i>a. Nécrose</i> .....	09
<i>b. Stéatoses</i> .....	10
<i>c. Choléstase</i> .....	10
<i>I.1.1.2.2. Les hépatites toxiques</i> .....	11
<i>a. Cirrhose</i> .....	11
<i>b. Cancérogénèse</i> .....	11
<i>I.1.1.2.3. L'hépatites virales</i> .....	11
<b>I.2. Le paracétamol</b>	
<i>I.2.1. Introduction</i> .....	13
<i>I.2.2. Le paracétamol</i> .....	13
<i>I.2.3. La structure chimique</i> .....	14
<i>I.2.4. Procédé de synthèse du paracétamol</i> .....	15
<i>I.2.5. Mécanisme d'action du paracétamol</i> .....	17
<i>a. L'action analgésique</i> .....	17
<i>b. L'action antipyrétique</i> .....	17
<i>I.2.6. La biotransformation du paracétamol</i> .....	19
<i>I.2.6.1. L'absorption</i> .....	19
<i>I.2.6.2. La diffusion</i> .....	19
<i>I.2.6.3. Le métabolisme</i> .....	19
<i>I.2.7. Etude toxicologique du paracétamol sur le foie</i> .....	23
<i>I.2.8. Les symptômes de la toxicité</i> .....	24

<b>II. Matériel et méthodes</b>	
II.1. Matériel .....	25
II.1.1. Entretien des animaux .....	25
II.1.2. Traitement des animaux .....	26
II.1.2.1. Les doses étudiées du médicament .....	26
II.1.3. Les réactifs utilisées .....	29
II.1.4. Prélèvement des échantillons .....	30
a. Le prélèvement du sang .....	30
b. Le prélèvement pour l'histologie .....	30
II.2. Méthodes .....	31
II.2.1. Activités enzymatiques .....	31
1. Dosage des transaminases (TGO, TGP) .....	31
2. Dosage des phosphatases alcalines .....	34
II.2.2. Dosage des paramètres biochimiques .....	35
1. Dosage des protéines totales .....	35
2. dosage du cholestérol .....	35
3. Dosage de bilirubine .....	37
<b>III. Résultats</b>	
III.1. Variations enzymatiques .....	39
III.1.1. Transaminases (TGO, TGP) .....	39
III.1.2. Phosphatases alcalines .....	45
III.2. Dosage biochimiques .....	48
III.2.1. Bilirubine totale .....	48
III.2.2. Protéines totales .....	49
III.2.3. Cholestérol .....	52
<b>IV. Discussion</b>	53
<b>V. conclusion</b> .....	55
<i>Annexe</i>	
<i>Références bibliographique</i>	

## *Liste des abréviations*

DL50 :	Dose létale 50
TGP :	Transaminase glutamate pyruvate
TGO :	Transaminase glutamate oxaloacétate
Cyt P450 :	Cytochrome P 450
AND:	Adenosine désoxy nucleotide
ATP:	Adenosine triphosphate
GSH:	Glutathion -S-transférase
NAD:	Nicotine amide dinucléotide
NADP:	Nicotine amide diphosphate
VLDL:	Very low density lipoprotein
A.I.N.S :	Anti- Inflammatoire. Non. Stéroïdien
EDTA :	éthylène diamine titra-acétique
D.O :	densité optique
R :	réactif
Abs :	absorption
BT :	Bilirubine totale
BD :	Bilirubine Directe
DMSO :	dimethylsulfoxyde
PGE <sub>2</sub> :	Prostaglandine E <sub>2</sub>
PGF <sub>2a</sub> :	Prostaglandine F <sub>2a</sub>
PGD <sub>2</sub> :	Prostaglandine D <sub>2</sub>
AST :	Aspartate amino transférase.
ALT :	Alanine amino trans
LDH :	Lactate désydrégénase



# *Introduction*

**Introduction :**

Le médicament est une substance ou association de substance capable de soulager des souffrances ou de guérir des maladies. Son utilisation est réglementée afin d'éviter des accidents d'intolérance ou de surdosage. Or on assiste chaque année à des milliers de cas d'intoxications par les médicaments. Le foie est l'organe cible par excellence de ces toxiques.

On a montré que plus de 600 médicaments possèdent une hépatotoxicité très grave.

**Problématique :**

Le métabolisme de certaines médicaments conduit à la formation de « métabolites toxiques ». L'élimination de la plupart de ces derniers repose sur les différents systèmes enzymatiques. En cas de surdosage, le reste des métabolites se combine aux protéines et aux lipides membranaires provoquant ainsi la destruction des cellules et la sortie de leurs contenus dans le sang et par conséquent l'augmentation de leurs concentrations sanguines.

Parmi ces médicaments, le paracétamol lorsqu'il est pris en forte doses, il conduit chez l'homme à l'augmentation de quelques paramètres biochimiques et enzymatiques reflétant le degré de l'hépatotoxicité ( transaminases, phosphatases alcalines...). Cependant chez le rat on ne connaît pas l'influence de ce médicament sur le foie comme on ignore la dose seuil toxique sur le foie.

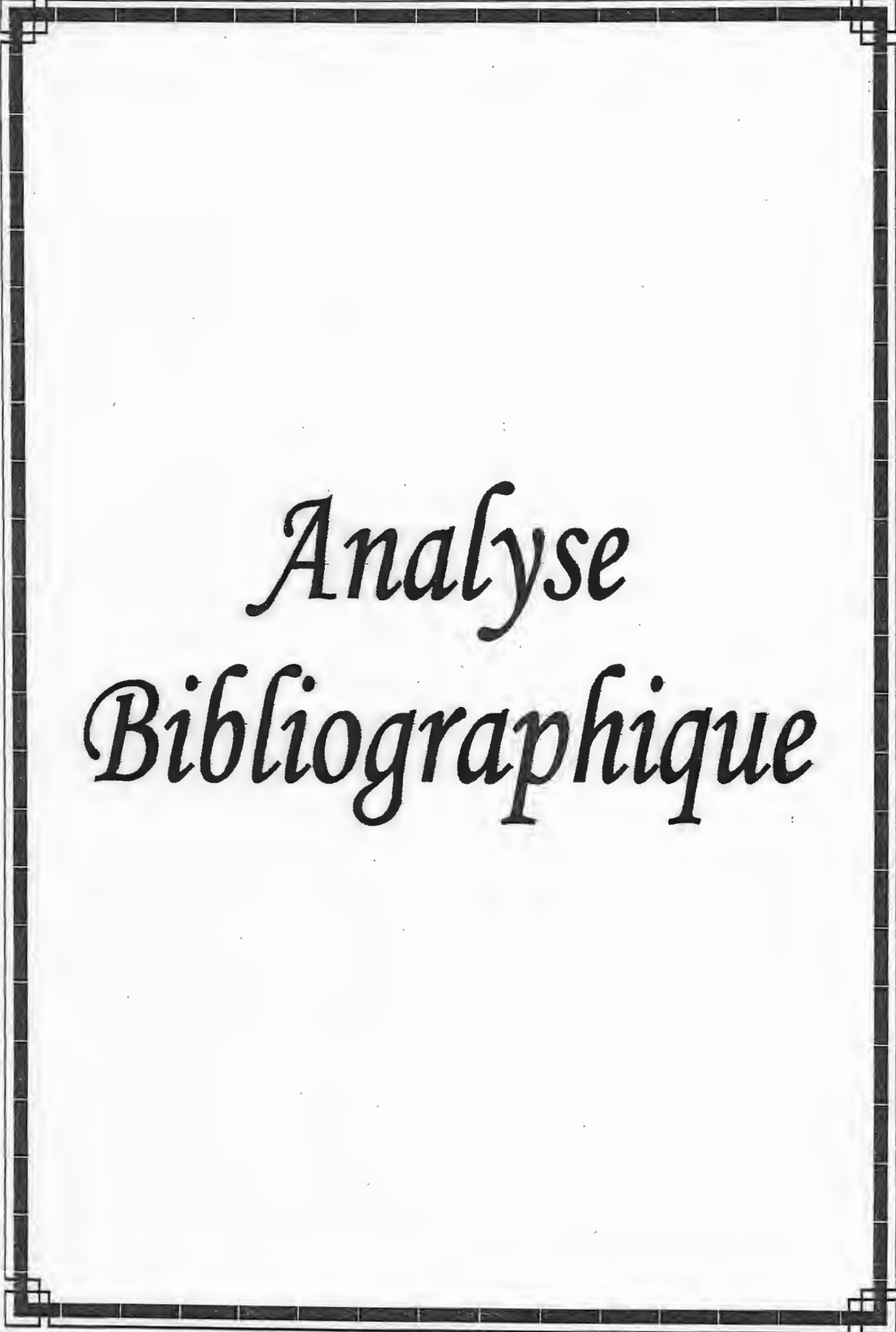
Les perturbations biochimiques et enzymatiques restent également à démontrer.

**Objectifs de notre travail :**

Nous nous sommes fixés comme objectifs :

- L'étude de l'hépatotoxicité du paracétamol administré par voie orale aux doses de 100 et 200 mg/kg. La littérature fixe la DL50 à 300 mg/kg/ orale.
- Suivre les perturbations biochimiques et enzymatiques en fonction du temps et en fonction de la dose du paracétamol.
- Evaluer l'effet protecteur des flavonoïdes donnés sous forme de Dafflon 300 mg sur l'hépatotoxicité du paracétamol et aussi de leurs effets en fonction du moment de leur administration (avant ou après le paracétamol).





*Analyse  
Bibliographique*

Le Foie

## **I.1. Le foie :**

### **I.1.1. La physiologie du foie et les principales lésions hépatiques :**

#### **I.1.1.1. La physiologie du foie :**

##### **I.1.1.1.1. Généralités :**

Le foie est l'organe le plus volumineux et le plus complexe du corps, il est impliqué dans le métabolisme des nutriments et de la plupart des médicaments et des toxiques (14).

Il est situé sous le diaphragme dans la partie supérieure de l'abdomen, pèse en moyenne 1,5 Kg chez l'homme et 7g chez le rat (24).

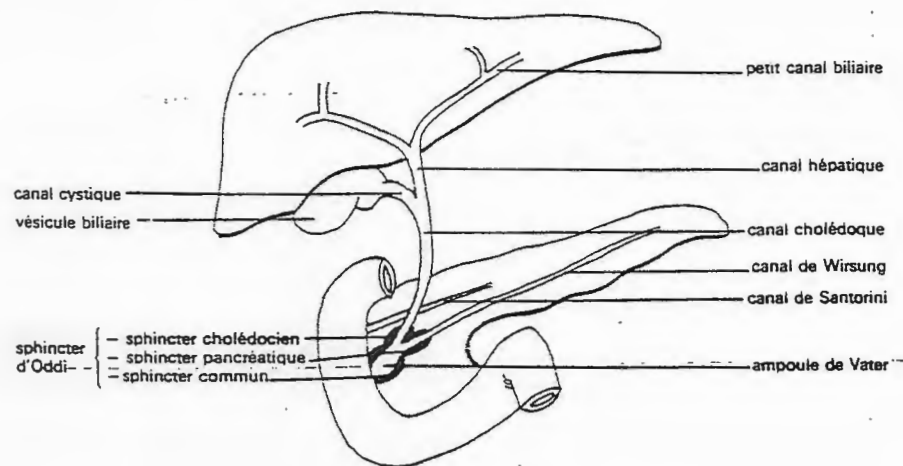
Sa forme est assez irrégulière divisée en lobes droit et gauche et possède plusieurs faces supérieure, inférieure, antérieure et postérieure.

La glande hépatique comporte au moins six types cellulaires qui coopèrent : les hépatocytes, les cellules endothéliales, les cellules de Kupfer, les lipocytes et les pits cells. (30).

Les hépatocytes (cellule du parenchyme hépatique) forment la masse de l'organe, et sont responsables du rôle métabolique central. Ces cellules sont situées entre les capillaires sanguins et les canaux biliaires. Les cellules de Küpfer qui bordent les capillaires hépatiques constituent une part essentielle du système réticulo-endothélial de l'organisme. Le sang irrigue le foie par la veine porte et l'artère hépatique, puis par les veines centrales, et se déverse enfin par la veine cave.

Les canaux biliaires débutent par de fins canalicules péri-lobulaires canaux inter-lobulaires et canaux hépatiques.

Le principale canal hépatique rejoint le canal cystique de la vésicule biliaire pour former le canal cholédoque qui se divise dans le duodénum (14) (figure 1).



**Figure 1 : Schéma des voies biliaires**

#### I.1.1.1.2. Les fonctions du foie :

Le foie est un organe essentiel à la vie, et remplit plusieurs fonctions vitales pour assurer l'équilibre entre les protéines, les lipides et les sucres dans le sang. Et aussi joue un rôle important dans la détoxification.

##### a. Le rôle structural :

##### 1. Métabolisme glucidique :

Le maintien de la quantité de glucose dans le sang à 0,80 g/l suppose un stockage du glucose qui se fait dans le foie, non pas sous forme de glucose, mais de **glycogène** (2). Le foie contient aussi des enzymes qui peuvent transformer le glucose en lipides comme il peut transformer le glycogène, les protéines et les graisses en glucose.

##### 2. Métabolisme protidique :

Le foie est responsable de la synthèse d'environ 40 g de protéines par jour(30) de : l'albumine plasmatique, des globulines, et des facteurs de coagulation comme le fibrinogène et le complexe prothrombine (2).

### 3. Métabolisme lipidique :

Le foie hydrolyse les graisses en glycérol et triglycérides ; le glycérol est utilisé dans la fabrication du sucre par la transformation en glycéraldehyde -3-phosphate puis en glucose (3). Le foie synthétise aussi le cholestérol à partir des produits de dégradation des acides gras.

Le cholestérol est :

- Soit transformé en acides biliaires.
- Soit déversé dans le plasma.
- Soit excrété dans la bile.

### Autres rôles :

- ❖ **Rôle de défense** : avec la moelle osseuse et la rate, le foie possède des cellules spéciales appartenant au tissu réticulo-endothélial capables de défendre l'organisme contre l'invasion microbienne (2)
- ❖ Le foie joue également un **rôle dans** :
  - Le métabolisme de l'eau dont il favorise l'élimination par les reins.
  - Le métabolisme de nombreuses hormones, en particulier des hormones génitales.
  - La formation de la bile, dont la composition dépend des différents métabolismes (2)
  - Le foie comme les mastocytes fabriquent l'héparine.
  - Emmagasine le cuivre, le fer et les vitamines A, B12, D, F.
  - Participe à l'activation de la vitamine D.
- ❖ Le foie peut **épurer le sang** de certaines substances :
  - La **bilirubine**, produit de dégradation des vieux globules rouges, est un pigment provenant de l'hémoglobine. Elle est captée par la cellule hépatique, puis fixée pour être ensuite excrétée dans la bile, lui donnant sa couleur jaune.

- Dans l'intestin, la **bilirubine** est transformée sous l'action des bactéries en **biliverdine**, responsable de la coloration des selles.
- La **biliverdine** peut se transformer également en **urobiline** et être réabsorbée par l'intestin pour être éliminée dans les urines (2).

**b. Le rôle du foie dans la détoxication :**

La majorité des médicaments administrés sont objets de bio-transformation, notamment au niveau du foie, qui conduisent à un ou plusieurs métabolites réactifs, qui sont formés par le cytochrome P.450. pour cela, les cellules hépatiques disposent pour sa protection du glutathion qui joue un rôle primordial pour la détoxication (30), et exactement contre les radiations, les peroxydes et de nombreux agents toxiques. L'importance du glutathion dans le métabolisme des médicaments et des xénobiotiques dépend de son groupement thiol et de la polarité et de la taille associées à sa structure. Grâce à son groupement thiol, il assure le rôle de nucléophile capable de réagir avec des molécules électrophiles pour donner des conjugués de GSH, et c'est un agent réducteur pour les peroxydes et les composés disulfurés.

La polarité du glutathion est importante puisque, quand il se couple avec des xénobiotiques lipophiles, qui réduit leur affinité avec la phase lipidique des membranes cellulaires, et aussi leur permet de quitter plus facilement la cellule, et éventuellement, l'organisme.

La plupart des médicaments et xénobiotiques excrétés sous forme d'acides mercapturiques sont couplés au glutathion par la glutathion S- transférase (GSH-S-transférase) (6).

L'étude de détoxication conduisent à faire jouer un rôle au moins partiel à la déplétion du foie en cystéine, en glutathion réduit et en dérivés thiols nécessaires à la détoxication sous forme d'acide mercapturique (15).

### I.1.1.1.3. La Toxicité du foie :

Le foie est l'organe principal du métabolisme des médicaments, il est également le siège de biotransformation en raison de sa richesse en enzymes. Ces enzymes se trouvent dans le mitochondrie ou les membrane des réticulum lisses (REL) et rugueux (RER).

Les enzymes du réticulum lisse jouent le rôle le plus important, car c'est à ce niveau qu'ont lieu les réactions d'oxydoréduction et l'utilisation directe de l'oxygène moléculaire.

L'élément fondamental de ce système enzymatique est le cytochrome P450, sous forme oxydée ( $\text{Fe}^{+3} / \text{P450}$ ) il lie son substrat (R-H). Le complexe ( $\text{Fe}^{+3}/\text{P450-RH}$ ) est ensuite réduit par le NADPH (comme source d'électrons). Il lie  $\text{O}_2$  :  $[\text{O}_2 - \text{Fe}^{+3} / \text{P450} - \text{RH}]$ . Après capture d'un électron supplémentaire, le complexe se dissocie en  $\text{Fe}^{+3} / \text{P450}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  et la substance hydroxylée R-OH.

L'hydrolyse d'un médicament comme les réactions d'oxydation de réduction et l'alkylation ou de désalkylation, appartient aux réaction de **phase I** du métabolisme, alors que les réactions de **phase II** aboutissent à des **produits conjugués** formés à partir des médicaments eux-mêmes, ou des métabolites issus de la phase I par conjugaison avec l'acide glucuronique ou sulfurique.

Les métabolites réactifs issus de la phase I comportent alors des groupements fonctionnels réactifs (comme le groupe d'époxyde) qui vont soit réagir au cours de la phase II avec un groupe hydrophile (comme le glutathion), soit former une liaison covalente irréversible avec les macromolécules intracellulaires.

Cette groupements fonctionnels est les radicaux libre : (sont des structure chimiques neutres ou chargées portant un électron non apparié).

**Effets des radicaux libres :** les réactions radicalaires sont très rapides et efficaces et concernent :

- Les lipides des membranes cellulaires où les radicaux libres créent des ponts covalents entre les acides gras polyinsaturés (AGPI), AGPI et cholestérol,

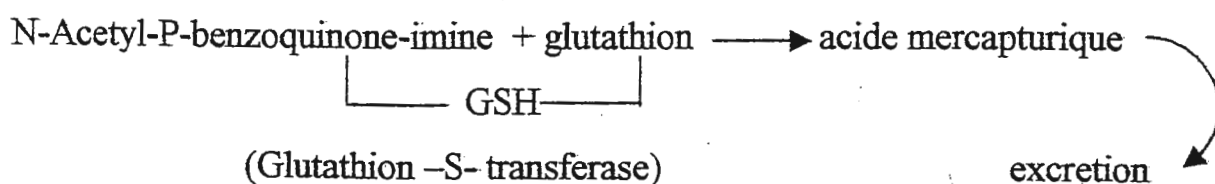
AGPI et protéines. Les lipides membranaires sont alors désorganisés, de même que les propriétés des protéines membranaires à rôle de récepteur, d'enzyme ou de transporteurs. Enfin, le cholestérol membranaire est transformé en oxystérols composant athérogènes, immunomodulateurs et à l'effets cytostatiques.

- Les radicaux libres peuvent aussi créer la peroxydation d'acides aminés de certaines protéines, modifiant leur structure, leur activité et rendant plus fragiles, surtout celles qui portent un groupement thiol (SH), ce qui perturbe le métabolisme cellulaire.
- La peroxydation de l'ADN a lieu sur les bases puriques et pyrimidiques conduisant à des anomalies dans la transmission du message génétique, mais aussi à des coupures de chaînes et à des pontages anormaux.
- Les radicaux libres interviennent dans de nombreux processus pathologiques allant jusqu'à la cancérogénèse, lorsque les enzymes (dismutase, catalase, glutathion-peroxydase) qui les contrôlent sont dépassées.

**Exemple : l'hépatotoxicité du paracétamol.**

La bio-transformation hépatique (surtout les réactions d'oxydation) de très fortes doses de paracétamol aboutit à la production de « métabolites réactifs » : N-Acetyl-P-benzoquinone-imine. Capables de contracter des liaisons covalentes :

- Soit avec le glutathion selon la réaction :



- Soit avec les macromolécules intracellulaires (en cas déplétion hépatique en glutathion) est provoqué une nécrose toxique de l'hépatocyte allant jusqu'à la mort de l'intoxiqué, (18 -33-21).

Les intoxications au paracétamol sont fréquentes : en 1999, le centre antipoison de Lille a enregistré 1037 appels pour intoxications au paracétamol contre 632 en 1998 (27).



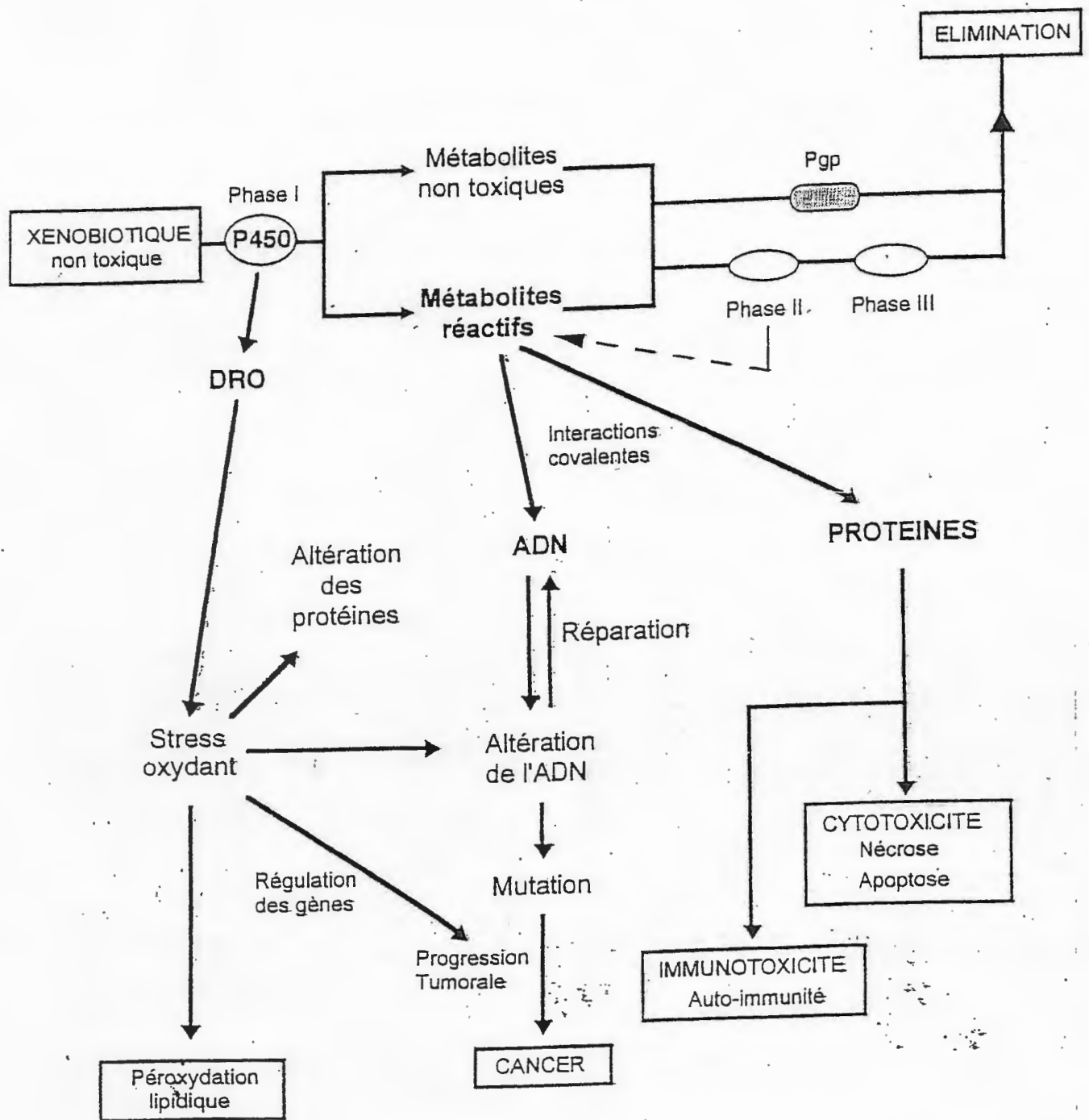


Figure 2 : Toxicité due à l'activité des cytochromes P450 : (33)

### **I.1.1.2. Principales lésions hépatiques :**

Le foie est une cible fréquente des toxiques pour plusieurs raisons, d'abord la plupart des toxiques pénètrent dans l'organisme par le tube digestif, et après l'absorption sont transportés par la veine porte vers le foie (14).

La toxicité peut s'exercer sur différents organites des cellules hépatiques, conduisant vers divers effets toxiques (10).

Et voici quelques exemples des lésions hépatiques :

#### **I.1.1.2.1. Les hépatites médicamenteuses :**

Le foie est l'organe qui est le plus systématiquement soumis aux effets toxiques de médicaments par ce que c'est l'organe essentiel impliqué dans leur transformation et une des voie principales de leur excrétion (9). Tous les médicaments sont potentiellement hépatotoxiques mais les hépatites médicamenteuses les plus fréquentes sont liées à la prise de paracétamol, anticancéreuses, anti-tuberculeuse, anti-épileptiques, macrolides, tétracyclines et A.I.N.S... etc (23).

##### **a. Nécrose :**

La nécrose hépatique implique la mort des hépatocytes par la rupture de la membrane plasmique. La nécrose peut être locale ou généralisée.

De nombreux produits chimiques sont la cause de nécrose hépatique par leur métabolites réactifs qui se lient avec les macromolécules de la cellule (les lipides, les protéines et les glucides).

- Les modifications morphologiques précoces sont caractérisées par ; des oedèmes cytoplasmiques, le gonflement du réticulum endoplasmique et la désagrégation des polysomes, puis l'accumulation de triglycérides.
- Les changements biochimiques mettent en œuvre la déplétion de l'adénosine triphosphate (ATP), la perte de calcium, des modifications de l'équilibre sodium- potassium entre hépatocytes et le sang, la déplétion en glutathion, des modifications du cytochrome P-450 et la perte de NAD et de NADP.(14)

Au moment de la nécrose hépatique et à l'échelle biochimique, se produit une augmentation des transaminases, des phosphatases alcalines. Les autres paramètres restent constants (30)

**b. Stéatoses :**

Un foie stéatosé contient plus de 5% de lipides (14) donc, les stéatoses sont des accumulations de graisses à l'intérieur de cellule (10) et cette accumulation peut être la conséquence de plusieurs mécanismes.

La conséquence de plusieurs mécanismes:

1. inhibition de la synthèse de la moitié protéique des lipoprotéines.
2. conjugaison diminuée des triglycérides avec les lipoprotéines.
3. perte de potassium par les hépatocytes, interférence avec le transport des VLDL à travers la membrane cellulaire.
4. diminution de l'oxydation des lipides par les mitochondries.
5. inhibition de la synthèse des phospholipides, constituants essentiels des VLDL (14).

Enfin, le foie joue un rôle majeur dans leur métabolisme, et le siège le plus habituel de cette surcharge (10).

**c. Choléstase :**

C'est l'ensemble des manifestations liées à la diminution ou à l'arrêt de la sécrétion biliaire (30), cette lésion hépatique généralement aigue est moins fréquente que la stéatose et la nécrose (14).

Elle est due à deux mécanismes différents :

- Soit l'obstruction des voies biliaires, soit l'arrêt ou la diminution de la formation de la bile ; du fait d'une atteinte des hépatocytes.

La cholestase provoque une absence de la bile dans la lumière digestive, à pour conséquence la décoloration des selles (absence des urobilinogènes).

Sous l'influence de la cholestase, l'hépatocyte fabrique en excès les phosphatases alcalines et le cholestérol (30).

#### **I.1.1.2.2. Les hépatites toxiques:**

L'hépatite toxique d'ûe à la prise de composants divers comme l'alcool, les cancérôgènes. L'hépatite peut se traduire par :

##### **a. La cirrhose :**

La cirrhose est caractérisée par la présence d'infiltrations de collagène dans la masse hépatique ; séparés par ces couches fibreuses. Les amas d'hépatocytes apparaissent sous forme de nodules. La cirrhose semble provenir de la nécrose de cellules individuelles associé à une déficience des mécanismes de réparation ; cet état conduit à une activité fibroplastique et la formation de tissu cicatriciel. Et la cause la plus importante de cirrhose humaine est l'ingestion chronique de boissons alcoolisées (14).

##### **b. Cancérogénèse :**

De nombreux toxiques induisent des cancers hépatiques chez l'animal, mais la cancérogénicité hépatique chez l'homme n'a pas été toujours établie. Par contre, le rôle du chlorure de vinyle comme agent causal de l'angiosarcome est clairement établi chez l'homme.

Le carcinome hépatocellulaire et le cholangiocarcinome sont les formes les plus courantes de tumeurs primaires malignes du foie (14).

#### **I.1.1.2.3. L'hépatites virales :**

De nombreux produits provoquent un syndromes clinique qui n'est pas distinct de celui de l'hépatite virale, les caractéristiques générales en sont les suivantes :

- 1- On ne peut le mettre en évidence chez l'animal.
- 2- Les effets chez l'homme ne semblent pas reliés à la dose.
- 3- La période de latence est très variable.
- 4- La toxicité s'exprime chez seulement quelques individus sensibles.
5. Les caractéristiques histopathologiques sont plus variable.

6. Le malade montre d'autres symptômes d'hypersensibilité, et répond quelque fois à une dose d'épreuve.

7. Présence fréquente de fièvre, de rash cutané et d'éosinophilie (14).

Comme il est caractérisé par l'apparition d'ictère, l'augmentation de bilirubine, de phosphatase alcaline et de TGO et TGP.

L'évolution de cette maladie conduit à une nécrose (3), et y a plusieurs types de l'hépatite virale :

- L'hépatite A : concerne essentiellement le sujet jeune avant 30 ans.
- L'hépatite B : est moins fréquente et doit être suspecté dans certains groupes à risque.
- L'hépatite non A et non B : est la plus fréquente des hépatites post-transfusionnelles (80% environ).
- L'hépatite Delta : n'entraîne d'infection que chez les sujets déjà porteurs du virus B. (5)

# Le Paracétamol

## **I.2. Le paracétamol :**

### **I.2.1. Introduction :**

Les analgésiques soulagent la douleur sans en traiter la cause (11), qui se fait par l'inhibition de la libération de la substance « P » au niveau de la corne dorsale de la moelle (13).

Ils sont classés en deux groupes :

- Les antalgiques morphiniques ou centraux, représentés par la morphine.
- Les analgésiques Anti-pyrétiques ou non morphiniques comme les salicylés et le paracétamol (11).

### **I.2.2. Le Paracétamol :**

Dés la fin du XIX siècle (1886-1893), l'industrie pharmaco-céutique a mis à disposition du corps médical des antipyrétiques synthétisés à partir de l'aniline (paracétamol, phénacétine, acétanilide) (25).

Mais le paracétamol n'est largement utilisé comme analgésique que depuis 1957 (29).

Il est aujourd'hui l'un des analgésiques d'auto-médication. Parmi les plus utilisés dans le monde (16).

Il est un analgésique qui n'est ni anti-inflammatoire, ni uricosuriques, ni anti-agrégants plaquettaires (11), et non morphinique.

Il possède une activité antalgique et antipyrétique comparable à celle de l'aspirine (26), employé principalement en pédiatrie surtout pour ses propriétés anti-pyrétique. (20).

Le paracétamol est le nom commercial, le nom chimique est : N-acétyl-paraamino-phénol (20) , ou Acétaminophène (29), ou hydroxy-4-acéto-nilide (3).

### I.2.3. La structure chimique :

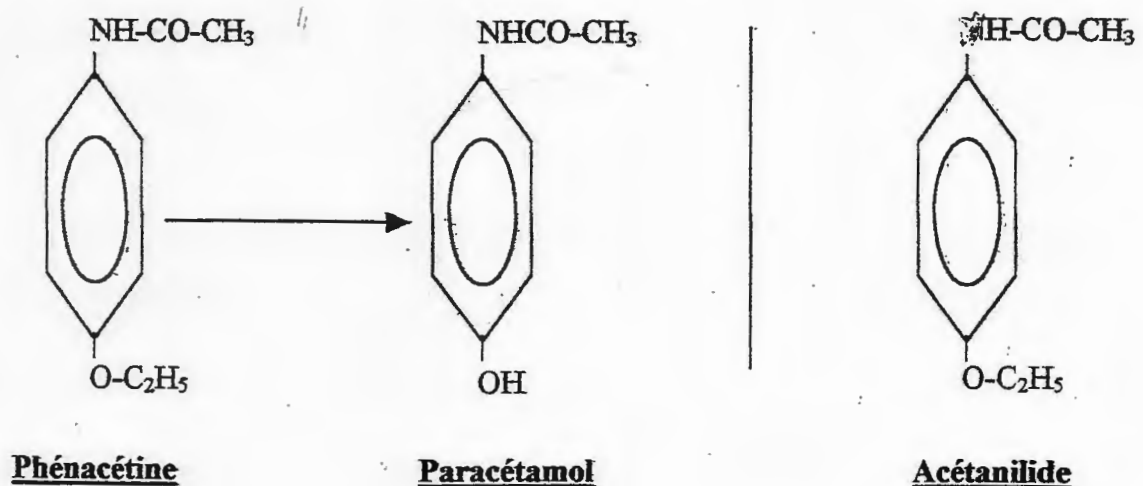
Le paracétamol est l'un des dérivés de l'Aniline qui comporte l'acétanilide et le phénacétine (25). C'est le principal métabolite provenant de la transformation de la phénacétine dans l'organisme (18).

La phénacétine, dont les effets analgésiques et antipyrétiques sont comparables à ceux du paracétamol, entre encore dans la composition de quelques spécialités en association avec d'autres principes actifs.

Ses effets méthémoglobinisants (cyanose) et l'anémie et sa toxicité rénale à long terme (necrose papillaire, carcinome du bassinet), ont incité de nombreux pays à interdire cet antalgésique (17).

Le produit est inscrit au tableau c (8).

Aussi l'acétanilide a rapidement disparu de l'arsenal thérapeutique à cause de sa toxicité très élevée (méthémoglobinémie), pour tout ça il est interdit dans le marché (25).



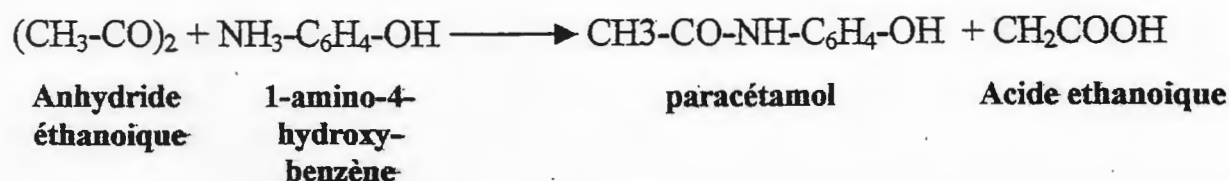


**I.2..4. Procédé de synthèse du paracétamol :**

La synthèse est réalisée par deux voies différentes :

**a. La première voie :**

Est réalisée à partir de deux composants qui sont : l'anhydride éthanoïque et le 1-amino-4-hydroxy-benzène. Selon la réaction suivante :



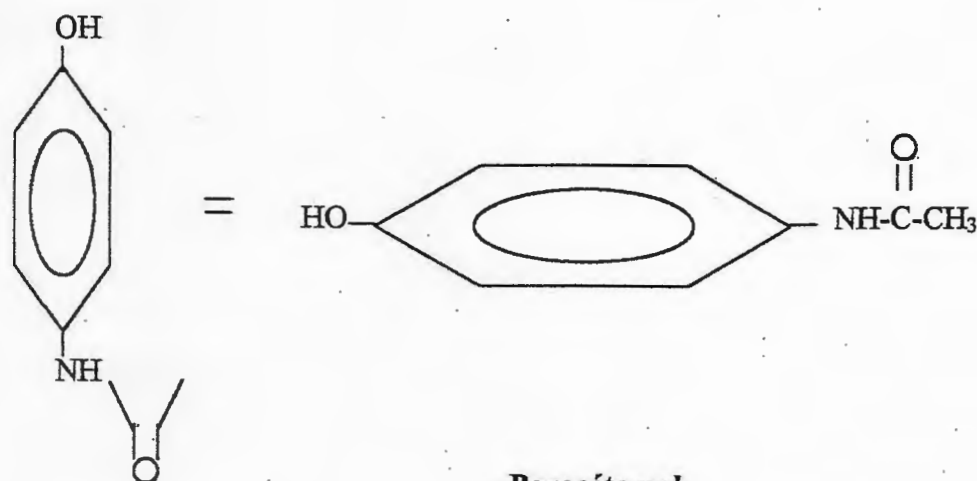
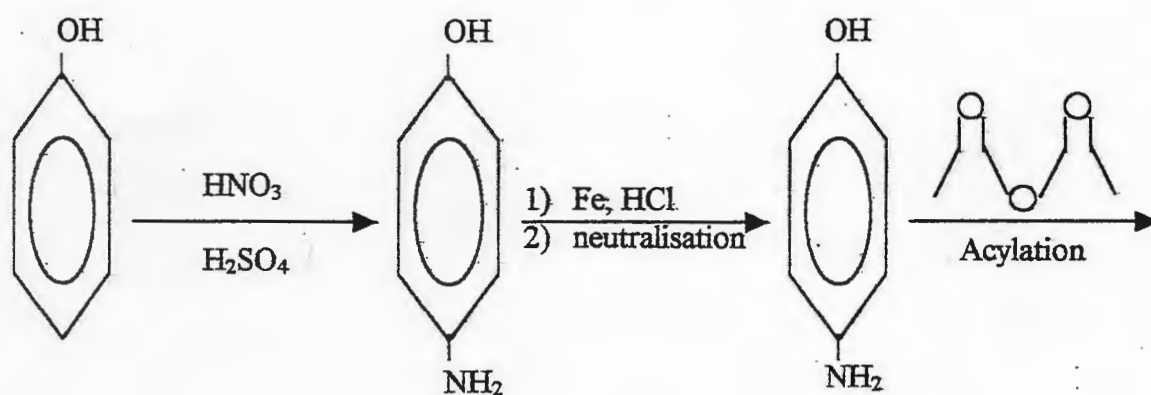
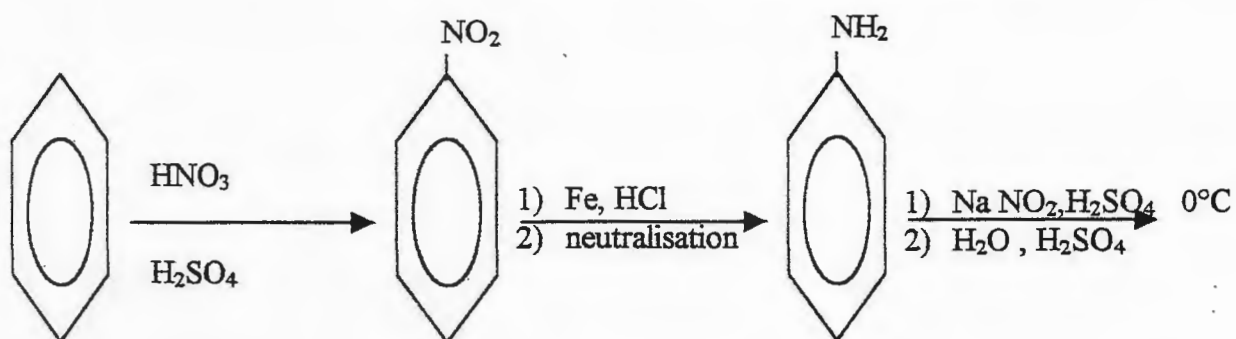
On ajoute dans un flacon de verre contenant l'acide acétique, le 1-amino-4-hydroxy-benzène, puis on mélange avec le chauffage par un bain marie (80°C) jusqu'à la fusion, puis le refroidissement par l'addition de [(CH<sub>2</sub>CO)<sub>2</sub>O]. la mise du mélange dans un bain marie froid, conduit à la formation de paracétamol sous forme cristallisée.

On enlève la cristallisation, en mettant ce composé dans l'eau bouillante. Après filtration et séchage, on obtient du paracétamol sous forme de poudre (3).



**b. La deuxième voie :**

Est réalisée à partir de benzène, selon les réactions suivantes : (3)



Paracétamol

### **I.2.5. Mécanisme d'action du paracétamol :**

Le mécanisme d'action anti-pyrétique et analgésique du paracétamol est lié à l'inhibition de la cyclo-oxygénase (25), cette inhibition peut être réversible-irréversible ou dépendant de la capture des radicaux libres.

#### **a. L'action analgésique :**

Le paracétamol possède une activité analgésique d'intensité et de durée comparable à celle de l'aspirine (17). Selon certaines auteurs (25) il est 10 fois plus puissant que l'aspirine (25)

Il est largement utilisé pour combattre céphalée, Névralgie, douleur dentaire, arthralgie, myalgie, syndrome grippaux, algie du petit bassin (dysménorrhée) ; par l'inhibition de la synthèse des prostaglandines : dérivés des acides gras, responsables de la douleur (17).

#### **b. L'action antipyrétique :**

Le paracétamol possède une action antipyrétique très large ; il permet de rétablir la température du corps au cours de 20 minutes après son administration(3).

Il faut remarquer que :

- Le paracétamol n'a pas les inconvénients de l'aspirine comme les maux d'estomac, les éruption et les hémorragies (12).
- Depuis 1982, la quantité totale de paracétamol par conditionnement est limitée à 8 g (11).

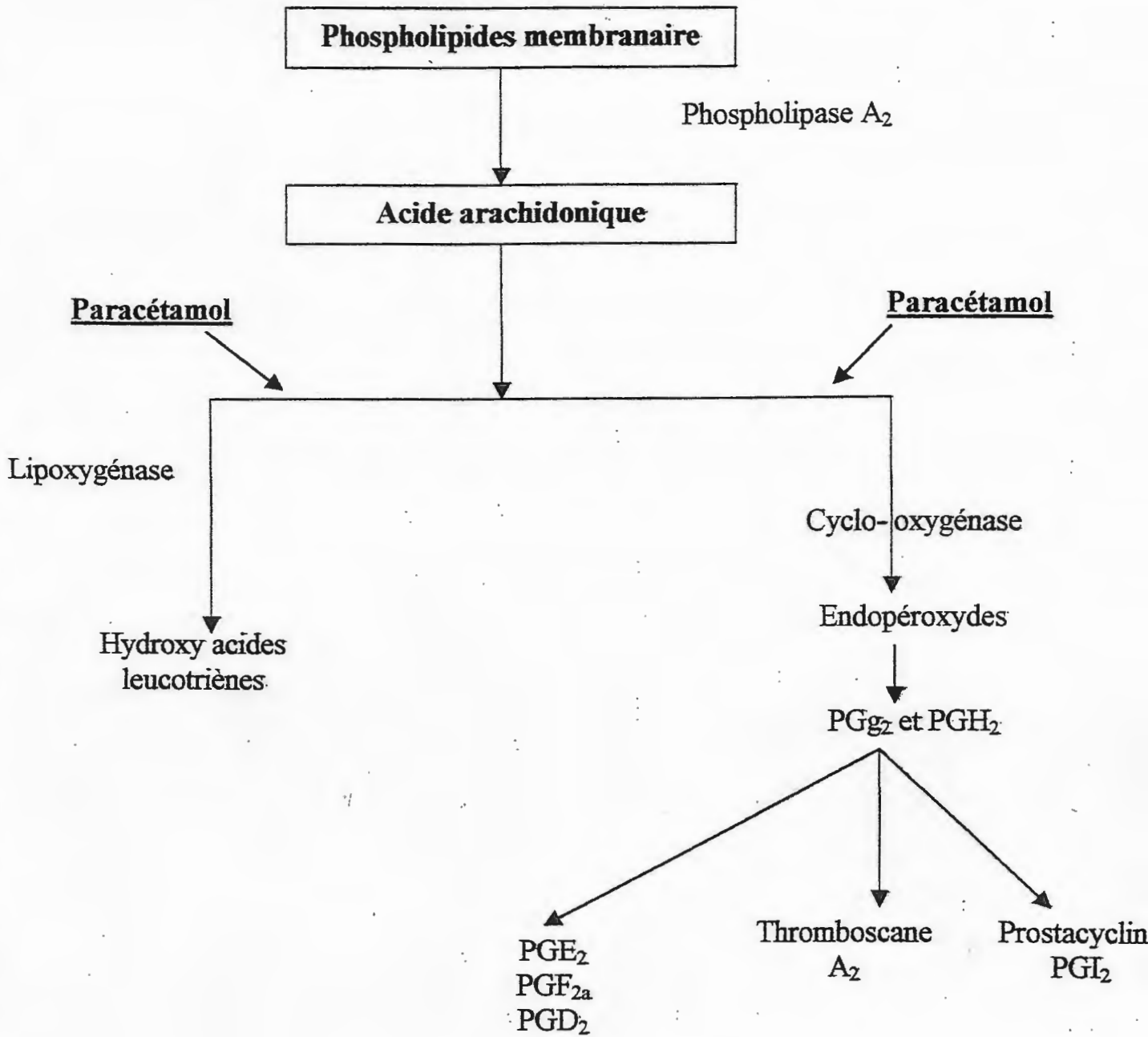


Figure 3:

**Le métabolisme des prostaglandines  
et les sites d'action du paracétamol (3)**

### **I.2.6. La biotransformation du paracétamol**

On trouve le paracétamol dans le marché sous plusieurs formes galénique comme : comprimés, suppositoires, comprimés effervescents, gélules, soluté buvable et poudre orale et injectable (29).

#### **I.2.6.1. L'absorption :**

Le paracétamol est plus hydrosoluble et mieux résorbé (31), c'est une base rapidement absorbée au PH basique exactement au niveau de l'intestins grêle par un transport passif (3).

Sa demi vie dans l'organisme est d'environ 2 heures.

#### **I.2.6.2. La diffusion :**

La diffusion du paracétamol est rapide dans l'ensemble des tissus à l'exception des graisses et il est faiblement lié aux protéines plasmatique (13).

10% dans le cas d'une dose thérapeutique et 15 – 20% dans le cas de la dose toxique (3) il es entièrement conjugué par sa fonction phénol (13).

#### **I.2.6.3. Le métabolisme :**

Le paracétamol est métabolisé par le foie et éliminé par voie urinaire (31), sous forme : glucoroconjugué (60 à 80%), sulfoconjuguée (20 à 30%) ; et pour moins de 5% sous forme inchangé. Une petite fraction (moins de 4%) est oxydé par le cytochrome P450 pour donner le composant :

N-hydroxy-paracétamol. Ce dernier est transformé en un autre composant très toxique le : N-Acétyle-p-benzoquinone-imine qui peut être conjugué avec le glutathion hépatique pour donner après plusieurs voies enzymatique un composant complexe : Acide mercapturique.

Lors des intoxications massives, la quantité du métabolite (N-Acétyle-p-benzo quinoneimine) est augmenté et la quantité de glutathion est épuisé (3,25,28)

Pour atteindre son métabolisme, le paracétamol passe par plusieurs phases.

1. Phase pharmaceutique : la délivrance des principes actifs l'organisme.

2. phase pharmacocinétique : elle est marquée par l'absorption du principe actif qui traversera la barrière intestinale, puis le foie pour atteindre la circulation générale et aboutit à l'action thérapeutique.
3. phase pharmacodynamique : où le paracétamol exerce son action analgésique (comparable à celle de l'aspirine) par :
  - Sensibilisation des récepteurs périphériques des médiateurs de la douleur.
  - Action antipyrétique, mécanisme lié à l'inhibition de la cyclo-oxygénase. Cette inhibition peut être réversible, irréversible ou dépendante de la capture des radicaux libres.

Le paracétamol inhibe aussi la coagulation sanguine même à faible dose (effet antiagrégant comparable à celui de l'aspirine).

Le métabolisme du paracétamol aboutit alors à :

- Une toxicité hépatique.
- Un métabolite actif qui agit sur la douleur et ou la fièvre.
- Une activation qui finira par une excrétion (7)

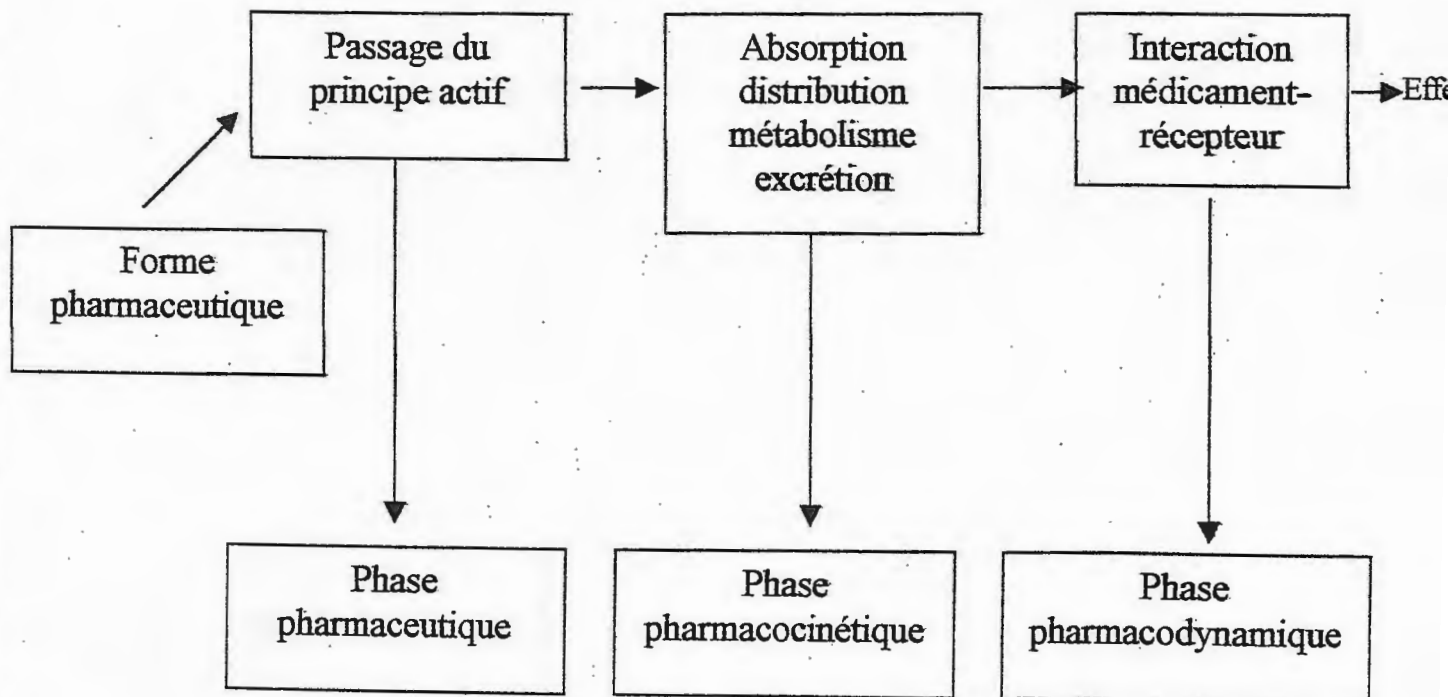


Figure 4: Les phases du devenir du paracétamol dans l'organisme (7)

Tableau N°T : caractères cinétiques du paracétamol (30)

Voie d'administration	Per os, rectal, IM ou IV
Disponibilité systématique % (effet du premier passage)	70-90
Temps (h) obtention des pics de concentration (per os)	1h à 2h.
Tissu de distribution	Distribution en quantité ± égale dans tous les compartiments liquidiens de l'organisme
Lait maternel	Passage (sans incidence aux doses thérapeutiques)
Liaison aux protéines (%)	10
Volume de distribution (L/Kg)	0.7-1.0
Bio-transformation	Hépatique
Métabolites	La glycuco-conjugaison est la voie principale d'inactivation (80%). La sulfo-conjugaison est la voie principale chez le nouveau né et l'enfant jusqu'à 9 ans
Excrétion urinaire (%)	90% de la dose administrée après 24h
Excrétion fécale (%)	/
Substances inchangées dans les urines	3%
Demi-vie (h)	1.5 - 2
Zone thérapeutique optimale (mg/l)	Pas de relation pharmacologique précise entre la concentration plasmatique et l'intensité de l'effet analgésique

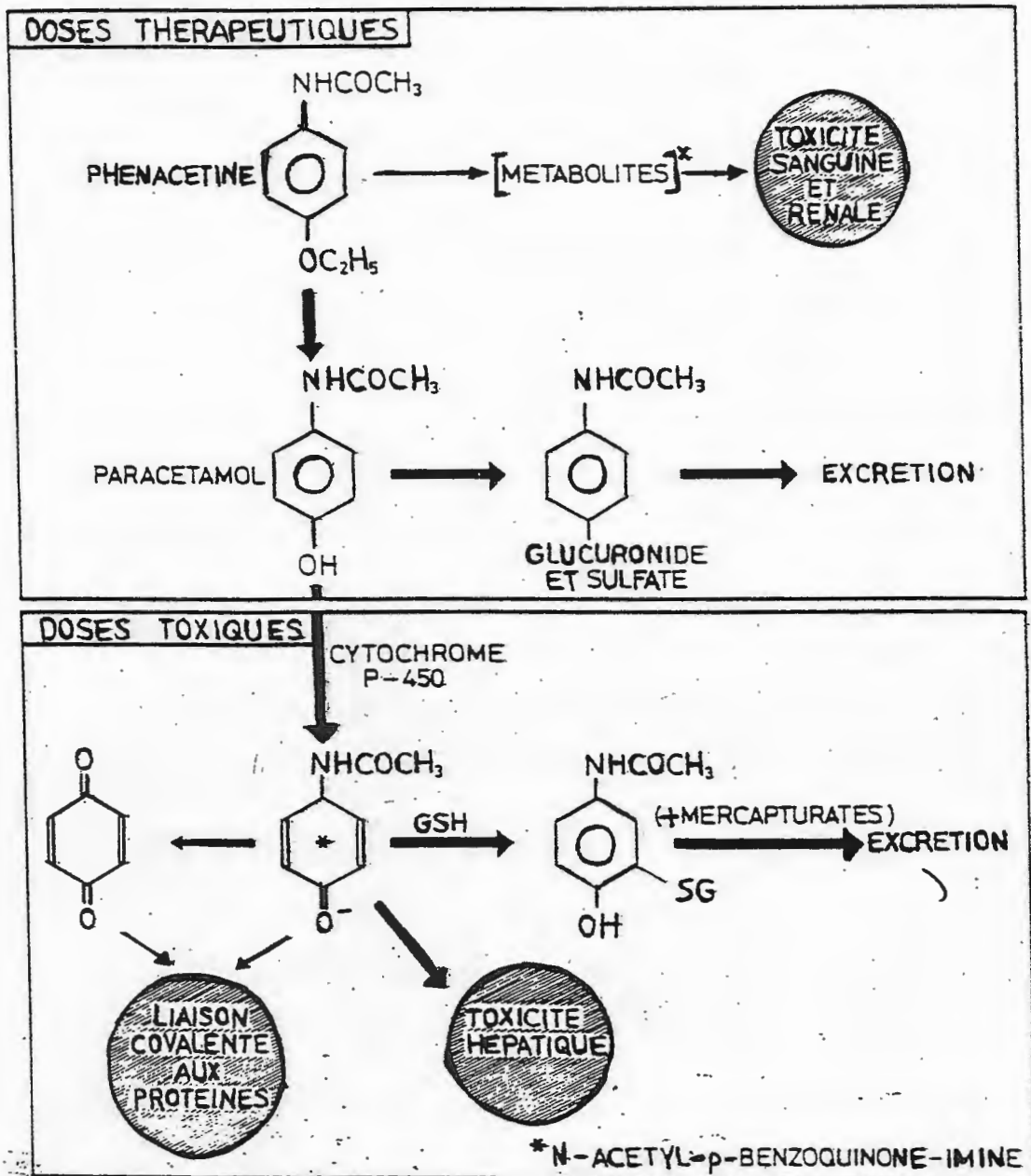


Figure 5: Biotransformation et toxicité hépatique des dérivés de l'aniline. (25)



### **I.2.7. Étude toxicologique du paracétamol sur le foie :**

Le paracétamol est normalement très bien toléré à la posologie usuelle (17). Mais dans le cas de surdosage (10 g chez l'adulte, toujours mortelle au delà de 25 g et 300 mg/kg chez l'enfant) l'intoxication est beaucoup plus grave, et se traduit par une atteinte hépatique (nécrose) (11), le métabolite : N-Acétyl-P- Benzoquinone-Imine est très probablement l'origine de cette hépatotoxicité (22). Ce métabolite formé par le cytochrome P-450, est une molécule particulièrement réactive, qui se lie de façon covalente à la plupart des protéines de l'hépatocyte, et qui est en lui-même hautement toxique pour la cellule (25).

La toxicité hépatique apparaît selon deux mécanismes :

- a. Intoxication hépatique directe :** où le métabolite toxique peut détruire la cellule hépatique (l'hépatocyte) directement.
- b. Intoxication hépatique indirecte :** où le complexe métabolite réactif-macromolécule cellulaire donne : un facteur d'allergie (Allergène) qui sera considéré comme antigène. Il sera responsable de la destruction de la cellule hépatique (l'hépatocyte) par des réactions immunitaire (3).

L'administration du N-acétyl-cystéine permet de prévenir la cytolyse hépatique. Pour être efficace ce traitement doit être impérativement commencé dans les 10 heures qui suivent l'intoxication (17).

Il faut remarquer que le sang est un autre tissu exposé aussi à l'action du paracétamol. Le traitement quotidiens prolongé par le paracétamol une leucocytose apparaît et disparaît juste avec son arrêt (22).

### **I.2.8. Les symptômes de la toxicité :**

Les nausées, vomissement, anorexie, pâleur et douleurs abdominales qui apparaissent au cours des premières 24 à 48 heures, après l'ingestion sont les seuls signes apparents de l'intoxication aiguë, le sujet restant pleinement conscient. Les anomalies enzymatiques hépatiques sont recherchées dans les 12 à 36 heures.

Les altérations maximales se manifestent au troisième jour par l'élévation de l'aspartate amino-transférase (AST), de l'alanine aminotrans (ALT) au-dessus de 1000 U/ml, des ~~trans-aminase~~ (TGO, TGP), de la LDH et de la bilirubine « hyperbilirubinémie », et diminution du taux de prothrombine. On assiste parfois à une insuffisance rénale, causée par une nécrose tubulaire. Dans les formes fulgurantes, la toxicité hépatique est généralement fatale. Dans les autres cas et en l'absence de traitement approprié 10 à 20% des sujets souffrent d'insuffisance hépatique, réversible au bout de quelques semaines à plusieurs mois, alors que 1 à 2% décèdent (ou meurent) (25, 26, 11).

*Matériel*  
*&*  
*Méthodes*

**II. Matériel et méthodes :**

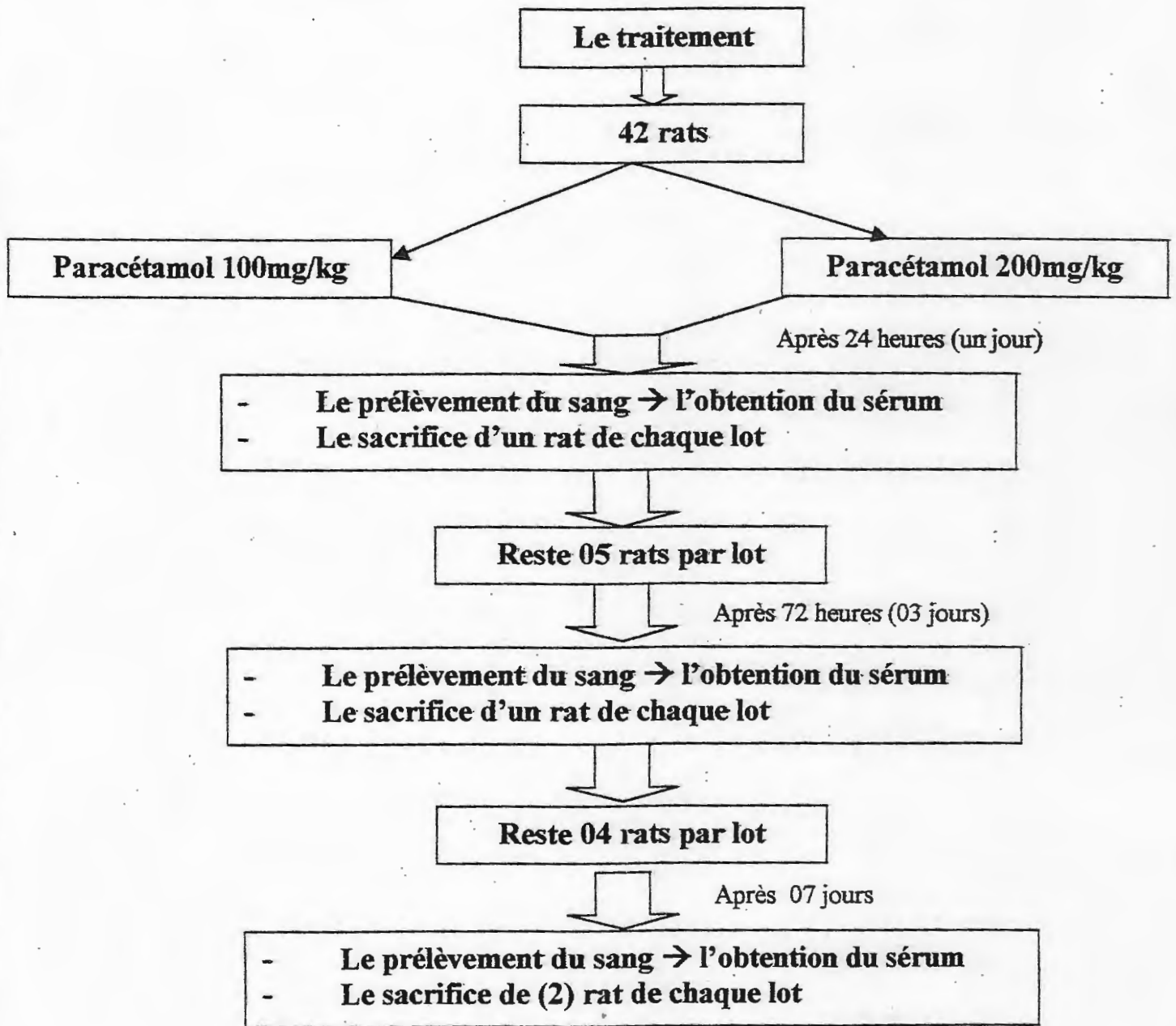
**II.1. Matériel :**

**II.1.1. Entretien des animaux :**

Les expériences sont réalisées sur des rats de souche wistar (institut pasteur – Alger).

Les animaux sont élevés dans des cages métalliques avec libre accès à la nourriture (croquettes) et l'eau.

L'animalerie est maintenue à température ambiante d'environ 25°C.



**Schéma N°6: Etapes pratiques dans le cas du paracétamol seul**

II.1.2. Traitement des animaux :

II.1.2.1. Les doses étudiées du médicament :

\* Préparation du paracétamol :

Nous avons étudié l'effet de deux doses différentes , la 1<sup>ère</sup> de 100 mg/kg correspond à 1/3 de la DL50 (égale à 300 mg/kg/orale) , et la 2<sup>ème</sup> dose de 200 mg/kg correspondant à 2/3 de la DL50.

Dans cette étude nous avons utilisé 42 rats répartis en 07 groupes de 06 rats chacun.

Le paracétamol comprimé 500 mg est dissous dans l'eau distillée selon les calculs suivants :

- Lot 1 : est le témoin, reçoivent 1 ml de l'eau distillée.
- Lot 2 : (paracétamol seul).

Les 06 rats reçoivent une dose quotidienne de 100 mg/kg de paracétamol pendant 72 heures.

$$100 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ kg}$$

$$x \text{ mg} \rightarrow 0,227 \text{ kg (poids moyen des rats du lot 02)}$$

$$\rightarrow \boxed{x = 22,7 \text{ mg/rat.}}$$

Donc, un rat de 227 g reçoit 22,7 mg de paracétamol, et le volume administrer est de 1 ml/rat donc :

$$\left. \begin{array}{l} 22,7 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ ml} \\ 500 \text{ mg} \rightarrow x \text{ ml} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 22,02 \text{ ml}} \quad (\text{l'eau distillée})$$

Donc, 500 mg du paracétamol (comprimé) sont dissous dans 22,02 d'eau distillée.

• **Lot 03 :** (paracétamol seul) :

Les 06 rats reçoivent également dans les même conditions 200 mg/kg de paracétamol pendant 72 heures.

$$\left. \begin{array}{l} 200 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ kg} \\ x \text{ mg} \rightarrow 0,132 \text{ kg} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 26,4 \text{ mg/rat}}$$

(132g = le poids moyen des rats de lot 03).

$$\left. \begin{array}{l} 26,4 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ ml} \\ 500 \text{ mg} \rightarrow x \text{ ml} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 18,93 \text{ ml}}$$

⇒ Donc, 500 mg du paracétamol (comprimé) sont dissous dans 18,93ml d'eau distillée.

• **Lot 04 :** (flavonoïde + paracétamol).

A la fin de l'administration quotidienne de flavonoïde pendant 07 jours, les 06 rats reçoivent une dose quotidienne de 100 mg/kg de paracétamol pendant 03 jours.

$$\begin{array}{l} 100 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ kg} \\ x \text{ mg} \rightarrow 200 \text{ g (le poids moyen des rats de lot 04)} \end{array}$$

200

$$\rightarrow \boxed{x = 20 \text{ mg/rat}}$$

$$\left. \begin{array}{l} 20 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ ml} \\ 500 \text{ mg} \rightarrow x \text{ ml} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 25 \text{ ml}} \quad (\text{H}_2\text{O})$$

Donc, 500 mg du paracétamol (comprimé) sont dissous dans 25ml d'eau distillée.

- **Lot 05 :** (flavonoïde + paracétamol).

Comme le lot 04, on donne le flavonoïde pendant 07 jours puis les 06 rats reçoivent une dose de 200 mg/kg de paracétamol pendant 03 jours.

$$200 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ kg}$$

$$x \text{ mg} \rightarrow 160 \text{ g (le poids moyen des rat de lot 05)}$$

$$\rightarrow \boxed{x = 32 \text{ mg/rat}}$$

$$\left. \begin{array}{l} 32 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ ml} \\ 500 \text{ mg} \rightarrow x \text{ ml} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 15,62 \text{ ml}} \text{ (H}_2\text{O)}$$

Donc, 500 mg du paracétamol (comprimé) sont dissous dans 15,62 ml d'eau distillée.

- **Lot 06 :** (paracétamol+ flavonoïde).

Les 06 rats reçoivent une dose quotidienne de 100 mg/kg de paracétamol pendant 72 heures, et en même temps reçoivent une dose de flavonoïde jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour.

$$\left. \begin{array}{l} 100 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ kg} \\ x \text{ mg} \rightarrow 225 \text{ g} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 22,5 \text{ mg /rat}}$$

(225g = le poids moyen des rats de lot 06)

$$\left. \begin{array}{l} 22,5 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ ml} \\ 500 \text{ mg} \rightarrow x \text{ ml} \end{array} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 22,2 \text{ ml}} \text{ (H}_2\text{O)}$$

Donc, 500 mg du paracétamol (comprimé) sont dissous dans 22,2 ml d'eau distillée.

• **Lot 07** : (paracétamol + flavonoïde).

Les 06 rats reçoivent une dose quotidienne de 200 mg/kg de paracétamol pendant 72 heures, et en même temps reçoivent une dose de flavonoïde jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour.

$$200 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ kg}$$

$$x \text{ mg} \rightarrow 168 \text{ g (poids moyen de lot 07)}$$

$x = 33,6 \text{ mg/ rat}$
----------------------------

$33,6 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ ml}$	}	→	<table border="1"><tr><td><math>x = 14,8 \text{ ml}</math></td></tr></table>	$x = 14,8 \text{ ml}$	(H <sub>2</sub> O)
$x = 14,8 \text{ ml}$					
$500 \text{ mg} \rightarrow x \text{ ml}$					

Donc, 500 mg du paracétamol (comprimé) sont dissous dans 14,8 ml d'eau distillée.

**\* Voie d'administration :**

Le paracétamol dissous dans l'eau distillée et administré par gavage gastrique à l'aide d'une sonde métallique.(B-D corn wall Becton, Dickinson and co. Made in USA).

**II.1.3. Les réactifs utilisées :**

Les dosages biochimiques et enzymatiques ont été effectués, on utilisant des kits :

Les transaminases (TGO,TGP), bilirubine et glucose on utilisant le kit « Biomérieux » ; le phosphatase alcaline par le kit : « RANDOX » et le cholestérol par le kit « Biosystems ».

**\* La préparation des solution :**

Dans notre étude nous avons utilisé une solution qui est « la solution de soude » 0,4 N, elle est préparée selon les calculs suivants :



$$P.M (NaOH) = 23+16+1= 40 \text{ g/mol}$$

$$\begin{array}{l} 40 \text{ g} \rightarrow 1 \text{ N} \\ x \text{ g} \rightarrow 0,4 \text{ N} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 40 \text{ g} \rightarrow 1 \text{ N} \\ x \text{ g} \rightarrow 0,4 \text{ N} \end{array}} \right\} \Rightarrow \boxed{x = 16 \text{ g} / 0,4 \text{ N}}$$

Donc, on obtient une solution de soude de 0,4 N par la dissolution de 16 g de (NaOH) dans 1 litre d'eau distillée.

#### **II.1.4. Prélèvement des échantillons :**

Les prélèvements sont effectués 24 et 72 heures et 07 jours après l'administration du paracétamol.

##### **a. Le prélèvement du sang :**

Le sang est prélevé au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil (sans anesthésie préalable), sur tubes contenant l'EDTA, il est centrifugé à 3000 tours/min. pendant 10 minutes. Le plasma recueilli est gardé à (+4°C) pour le dosage.

##### **b. Prélèvement pour l'histologie :**

Un rat de chaque lot est sacrifié après l'anesthésie par l'éther aux délais de 24 heures, et 72 heures et 2 rat de chaque lot pour le délais de 07 jours.

Après laparotomie abdominale, le foie est lavé insitu par injection d'une solution de PBS dans l'aorte abdominale à l'aide d'un cathéter (intranule N°17) puis prélevé. Le foie est fixé au Boin pour l'étude histologique.

## II.2. Méthodes :

L'évaluation de l'effet toxique du paracétamol sur le foie à été réalisée par la détermination des activités enzymatiques des TGO, TGP, phosphatase alcaline et de certaines paramètres biochimiques : protéines totales. Bilirubine et cholestérol.

### II.2.1. Activités enzymatiques :

#### 1. Dosage des transaminases :

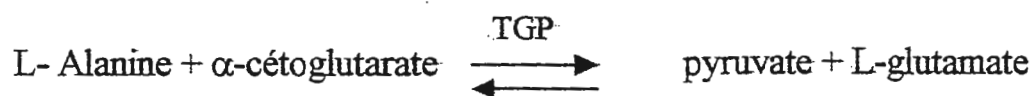
Les transaminases sont des enzymes catalysant le transfert du radical  $\text{NH}_2$  d'une fonction amine sur un récepteur cétonique.

Elles ont pour coenzyme le phosphate de pyridoxal.

- **TGP** : Transaminase Glutamo Pyruvique (ou Aspartate transaminase) localisée essentiellement dans le foie mais aussi dans le rein et d'autres organes. Elle catalyse le transfert réversible du groupement aminé de la 1 Alanine sur le 2 oxaloglutarate avec formation du pyruvate et du glutamate.

#### a. Principe du dosage :

L'activité TGP est déterminée par la méthode colorimétrique de Reitman et Frankel, selon la réaction suivante :



Le pyruvate formé est dosé sous forme de leur dérivés : 2,4- dinitrophényl hydrazones

**b. Mode opératoire :**

La courbe d'étalonnage de 06 points est préparée selon le tableau suivant :

N° du tubes	1	2	3	4	5	6
Eau distillée (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Réactif 1 ou Re (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Réactif 4 (ml)	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Réactif 3 (ml)	1	1	1	1	1	1

Puis, on mélange et on laisse 20 minutes à la température ambiante, nous avons ajouté 10 ml de solution de soude (0,4 N) dans chaque tube, après 5 minutes, la densité optique est lue au spectrophotomètre à 505 nm

<b>Unités TGP/ml</b>	0	25	50	83	126
----------------------	---	----	----	----	-----

• **Dosage des TGP des échantillons**

Pour chaque échantillon, on prépare un tube à essai contenant 1 ml de réactif2 qu'on laisse incubé 5 minutes à 37 °C. ensuite nous avons ajouté 0,2 ml de sérum. Les tubes sont gardés à 37°C pendant 30 minutes exactement.

Après addition de 1 ml du réactif R3 dans chaque tube, on les laisse 20 minutes à température ambiante avant d'ajouter 10 ml de soude 0,4 N.

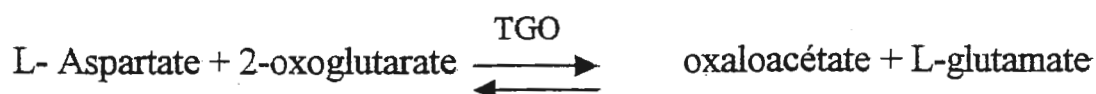
La lecture spectrophotométrique est effectuée 5 minute après à 505 nm. La réaction est stable pendant 1 heure.

L'activité TGP est déterminée à partir de la courbe d'étalon.

\* **TGO** : ou Glutamate oxalo-acétatetransaminase appelée également transaminase. Elle existe sous deux formes moléculaires localisées différemment à l'intérieur de la cellule. Elle catalyse la synthèse et la dégradation de l'acide aspartique et de l'acide glutamique.

**a. Principe :**

Détermination colorimétrique de l'activité de TGO par la méthode de Reitman et Frankel. Selon la réaction suivante :



L'oxaloacétate formé est dosé sous forme de leur dérivés :

2,4- dinitrophenyl hydrazones

**b. Mode opératoire :**

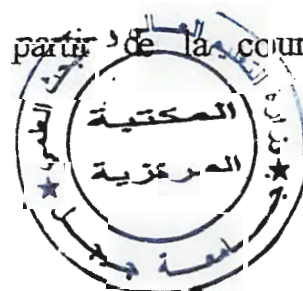
\* **Courbe d'étalonnage** : elle est préparée dans les mêmes conditions que celle des TGP, sauf que les unités sont différents :

<b>Unités TGO/ml</b>	0	22	55	95	150	215
----------------------	---	----	----	----	-----	-----

• **Protocole de dosage des TGO :**

Pour chaque sérum, nous préparons un tube contenant 1 ml de R1 qu'on incube 05 minutes à 37 °C, puis nous ajoutons 0,2 ml de sérum. Après 1 heure exactement nous ajoutons 1 ml de R3 et on laisse les tubes 20 minutes à température ambiante. Après 05 minutes, on lit au spectrophotomètre la densité optique à 505 nm.

Les concentration des TGO sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage et exprimées en unités TGO par ml de sérum.

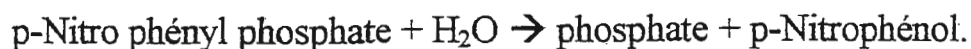


## 2. Dosage des phosphatases alcalines :

Il s'agit d'un groupe d'enzymes qui hydrolysent les esters de l'acide phosphorique en milieu alcalin.

### a. Principe :

Le substrat p-nitrophényl phosphate est hydrolysé par la phosphatase alcaline de l'échantillon, en présence d'ions magnésium, pour donner du p-nitrophénol, dont la couleur jaune est lue à 405 nm l'intensité de la phosphatase alcaline dans l'échantillon



### b. Mode opératoire :

Le réactif est préparé comme suit :

La poudre de R2 est mélangée avec 10 ml de R1 et 10 µl de R3 puis incubée à 37°C.

Ensuite pour le dosage :

à 1 ml de réactif, on ajoute 20 µl de sérum. L'activité phosphatasique est déterminé à 405 nm après 1 minute, 2 et 3 minutes.

La valeur moyenne  $\Delta$  absorbance/ minute est utilisé pour le calcul de l'activité, selon la formule :

$$U/L = 2742 \times \Delta \text{ Abs (405nm/min).}$$

$$\text{Le facteur 2742 est donné par: } F = \frac{(1,02 \times 1000)}{(18,6 \times 1 \times 0,02)} = \frac{1020}{0,372}$$

- 1,02 = volume total (ml).
- 1000 = facteur pour convertir les ml en l.
- 18,6 = E= l'absorption molaire du P-Nitrophénol (18,6 cm<sup>2</sup>/ µ mol)
- 0,02 = volume échantillon (ml)
- 1= trajet optique (cm)

**II.2.2. Dosage des paramètres biochimiques :**

**1. Dosage des protéines totales :**

Les protéines totales sont dosés sur sérum par la méthode colorimétrique de Biuret.

**a. Principe :**

Les protéines forment avec les ions cuivriques  $\text{Cu}^{+2}$  en milieu alcalin, un complexe bleu-violet. Le protocole du dosage est le suivant :

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Standard</b>	-	50 $\mu\text{l}$	-
<b>Echantillon</b>	-	-	50 $\mu\text{l}$
<b>Réactif de travail</b>	2500 $\mu\text{l}$	2500 $\mu\text{l}$	2500 $\mu\text{l}$

Le contenu des tubes est mélangé puis incubé pendant 30 minutes à 20-25° C et les concentrations de l'étalon et de l'échantillon sont mesurées contre le blanc à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 546 nm.

La concentration est exprimée en g/l et calculée comme suit :

$$\text{Protéines totales en g/l} = \frac{\text{D.O échantillon}}{\text{D.O standard}} \times \eta$$

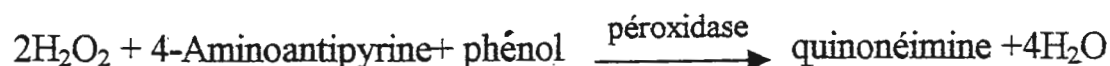
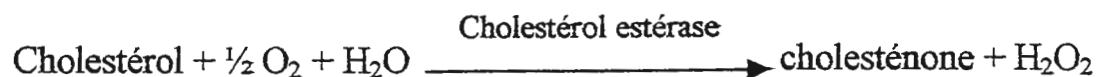
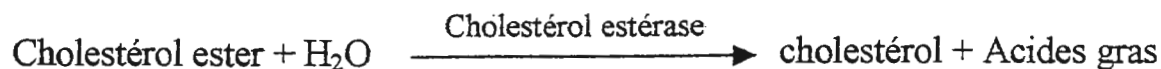
$$\eta = 60 \text{ g/l}$$

**2- Dosage de cholestérol :**

Ce sont des lipides complexes élaborés par foie, variétés de stérol (Alcool secondaires), présent dans les tissus. Il est estérifié dans le foie principalement dans le plasma, à partir d'acétate. Il intervient dans la formation des hormones sexuelles des corticoïde et des acides biliaires.

**a. Principe :**

Le cholestérol libre ainsi que le cholestérol estérifié présents dans l'échantillon, donnent, selon les réactions couplées décrites ci-dessous, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.



**b. Mode opératoire :**

Le réactif de travail est d'abord placé à température ambiante ensuite on pipete dans des tubes à essais :

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Etalon de cholestérol (s)</b>	-	10 µl	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10 µl
<b>Réactif (A)</b>	0,1 ml	1,0 ml	1,0 ml

Après agitation et incubation des tubes pendant 10 minutes à température ambiante (16-25°C) ou pendant 5 minutes à 37°C, on effectue la lecture de l'absorbance (A), de l'Etalon et de l'échantillon en comparaison avec le blanc à 500 nm.

La couleur est stable au moins 2 heures.

**Calculs :**

La concentration en cholestérol de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Etalon}} \times C \text{ Etalon}$$

C Etalon = 5,18 m mol/l cholestérol.

**3. Dosage de bilirubine :**

La bilirubine est le pigment jaune rougeâtre produit par la réduction de la biliverdine, et il est formée à partir d'hémoglobine dans la rate, le foie et la moelle osseuse. La conjugaison avec l'acide glucuronique rend la bilirubine soluble.

**a. Principe :**

Le dosage de la bilirubine totale (BT) est effectué en présence de diméthylsulfoxyde (DMSO), selon une réaction de diazotation avec l'acide sulfanilique diazoté le dosage de la bilirubine conjuguée directe (BD) se fait en l'absence de DMSO.

**b. Mode opératoire :**

**\* La bilirubine Totale (BT) :**

	<b>Témoin</b>	<b>Dosage</b>
<b>Echantillon ou bilitrol</b>	100µl	100µl
<b>Réactif 1</b>	1 ml	-
<b>Solution de travail (BT) :</b>	-	1 ml
<b>20 volume R1</b>		
<b>1 volume R3</b>		

Mélanger et lire l'absorbance ( à longueur d'onde 550 nm) à 37 °C pendant 03 minutes.



La stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière.

Calcul : 
$$\frac{(\text{DO dosage- DO témoin}) \text{ Echantillon}}{(\text{DO dosage- DO témoin}) \text{ Bilitrol}}$$

- **La bilirubine directe (BD):**

Les échantillons sont préparer selon le tableau suivant :

	<b>Témoin</b>	<b>Dosage</b>
<b>Echantillon ou bilitrol</b>	100µl	100µl
<b>Réactif 2</b>	1 ml	-
<b>Solution de travail (BD) :</b> <b>20 volume R2</b> <b>1 volume R3</b>	-	1 ml

Mélanger et lire l'absorbance après exactement 05 minutes à 20-25 C° ou 04 minutes à 37°C.

Calcul : 
$$\frac{(\text{DO dosage- DO témoin}) \text{ Echantillon}}{(\text{DO dosage- DO témoin}) \text{ Bilitrol}}$$

# *Résultats*

**III. Résultats :**

Notre étude, de l'effet toxique du paracétamol sur le foie à différentes doses [1/3 DL50 (100 mg/kg) et 2/3 DL50 (200 mg/kg)], espacées de 7 jours, comporte une analyse biochimique et enzymatique. En plus du délai de 1 jour à 3 jours (réalisé pour étudier la toxicité aiguë), nous avons suivi les variations jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour, afin d'évaluer les risques du paracétamol sur le foie (l'étude de la toxicité subaiguë).

**III.1. Variation enzymatique :**

Les résultats enzymatiques correspondent à celles des dosages des transaminases (TGO et TGP) et les phosphatases alcalines sériques.

**III.1.1. Les transaminases (TGP-TGO) :**

Les transaminases sont dosées en biologie clinique, qui sont élevées en cas de cytolysse hépatique.

Le dosage des transaminases est réalisé pour étudier les syndromes de cytolysse.

Les résultats du dosage de (TGP et TGO) sont rassemblés dans les courbes suivantes :

\* TGP

Tableau N°2: Variation de TGP en fonction du temps après l'administration du paracétamol (dose=100mg/kg) et les flavonoïdes :

Groupes	Temps		
	24 h	72 h	7 J
Paracétamol seul	77 (UI)	85,5 (UI)	76 (UI)
Paracétamol +Flavonoïde	53,2 (UI)	76,5 (UI)	50,33 (UI)
Flavonoïde + paracétamol	37,66 (UI)	60,4 (UI)	61 (UI)
Témoin	65 (UI)	59 (UI)	54 (UI)

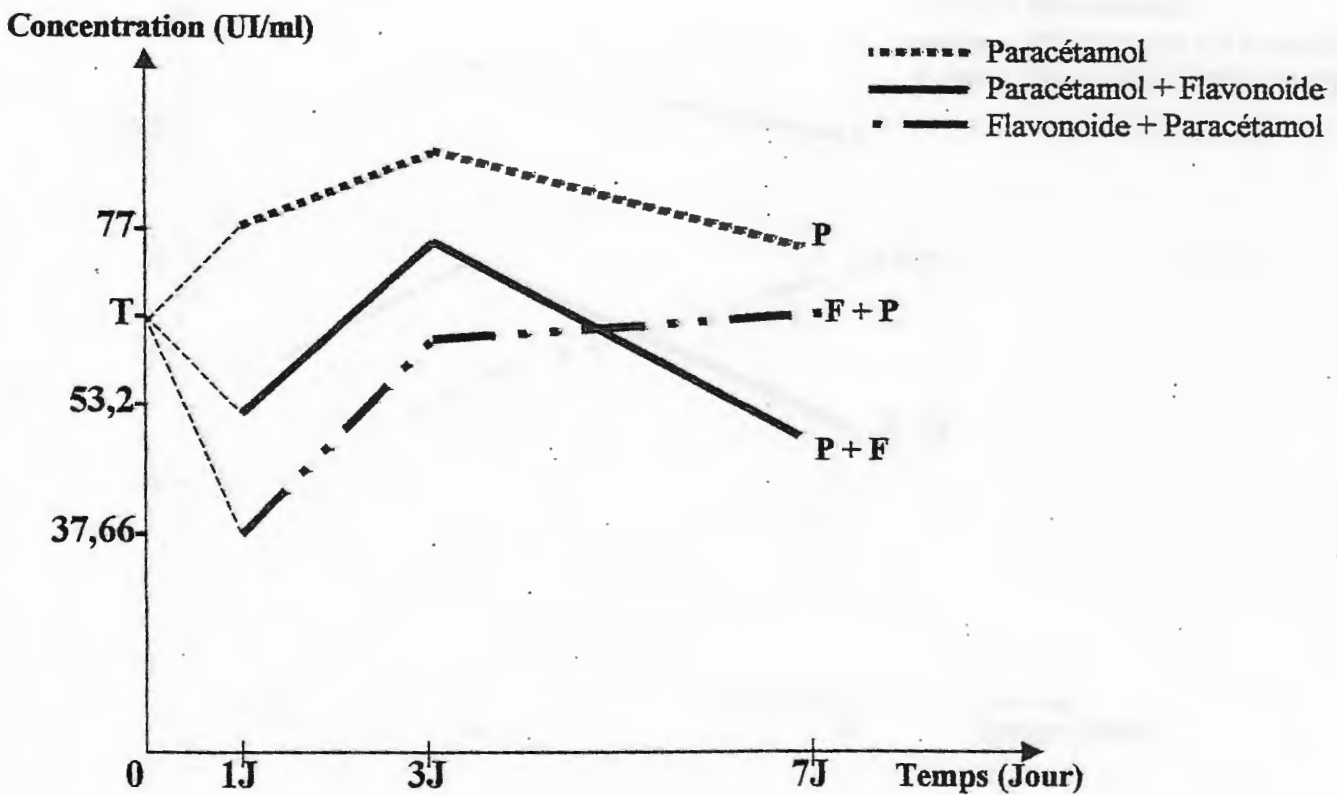


Figure 1 : Variation de TGP en fonction du temps après l'administration du paracétamol (dose=100mg/kg) et les flavonoïdes.

Les courbes (7) et (8) montrent qu'il existe une augmentation des concentrations de TGP chez les rats qui reçoivent le paracétamol seul au délai du 3ème jour, par contre les TGP des rats traités par l'association de paracétamol avec les flavonoides (Daflon) [F + P (préventif) et P + F (curatif)], restent proches des valeurs normales.

Nous avons observé une diminution de TGP au délai du 7ème jour chez les groupes du paracétamol seul et les groupes du paracétamol avec les flavonoides, mais le contraire chez les groupes de Flavonoïde avec le paracétamol, nous avons observé une augmentation légère.

\* TGO

Tableau N°3: Variation de TGO en fonction du temps après l'administration du paracétamol (dose=100mg/kg) et des flavonoïdes

Groupes	24 h	72 h	7 J
Paracétamol seul	93 (UI)	216 (UI)	109 (UI)
Paracétamol +Flavonoïde	103,5 (UI)	65 (UI)	227,5 (UI)
Flavonoïde + paracétamol	110,33 (UI)	249 (UI)	117 (UI)
Témoin	76,33 (UI)	144,5 (UI)	115,3 (UI)

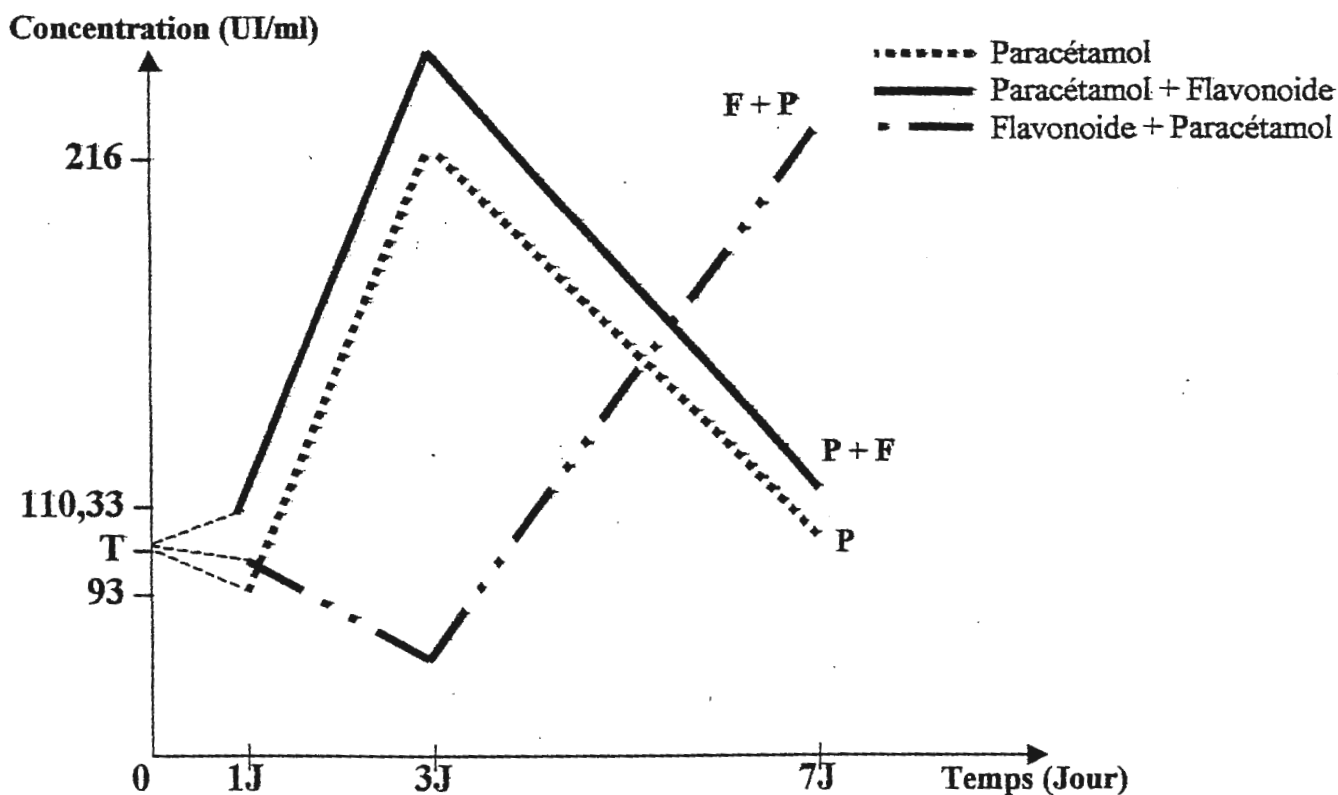
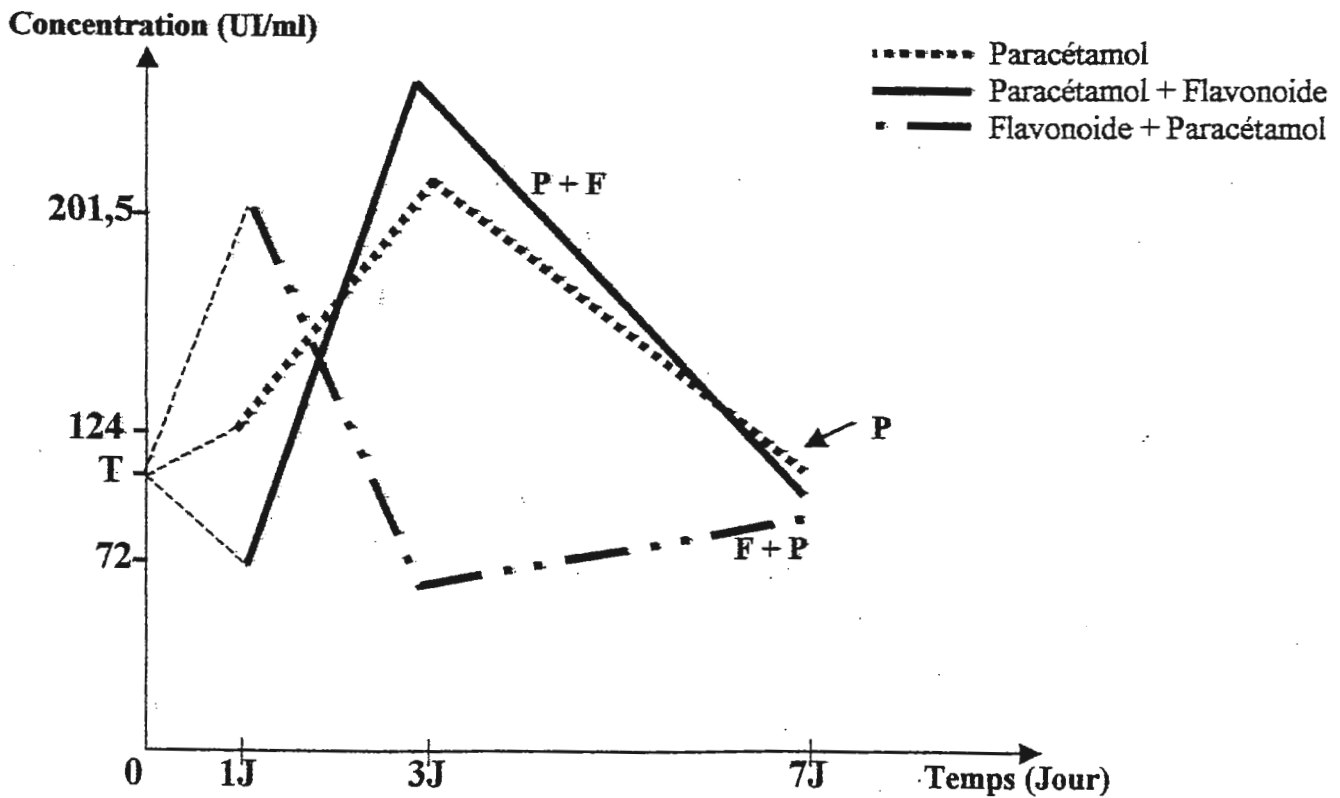


Figure 5: Variation de TGO en fonction du temps après l'administration du paracétamol (dose=100mg/kg) et des flavonoïdes

**Tableau N°5:** Variation de TGO en fonction du temps après l'administration de paracétamol (dose=200mg/kg) et des flavonoïdes

Groupes	Temps		
	24 h	72 h	7 J
Paracétamol seul	124 (UI)	203,33 (UI)	111,5 (UI)
Paracétamol +Flavonoïde	201,5 (UI)	67 (UI)	87,5 (UI)
Flavonoïde + paracétamol	72 (UI)	249 (UI)	99,5 (UI)
Témoin	76,33 (UI)	144,5 (UI)	115,3 (UI)



**Figure 6:** Variation de TGO en fonction du temps après l'administration de paracétamol (dose=200mg/kg) et des flavonoïdes

Les courbes (3) et (10) montrent qu'il existe une diminution de la concentration de TGO chez les groupes de Flavonoïdes avec le paracétamol (préventif) au délai du 3<sup>ème</sup> jour et à partir du 3<sup>ème</sup> jour jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour, nous avons observé une augmentation de TGO. Par contre chez les groupes du paracétamol seul et du paracétamol avec Flavonoïde (curatif), la concentration de TGO est augmentée pendant 3 jours, après ça et jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour, la concentration est diminuée.

#### **IV.1.2. Les phosphatases alcalines :**

Le dosage des phosphatases alcalines est utilisé pour le diagnostic des choléstases, et les résultats de ce dosage sont rassemblés dans les courbes suivantes :



Tableau N°5: Variation de concentration de phosphatase alcaline (UI/l) en fonction de temps après l'administration du paracétamol(100 mg/kg) et des Flavonoïdes,

Groupes	Temps	
	72 h	7 J
Témoin	39,75 (UI)	34,27 (UI)
Paracétamol G1	45,92 (UI)	281,01 (UI)
Paracétamol +Flavonoïde	36,32 (UI)	43,86 (UI)
Flavonoïde + paracétamol	25,36 (UI)	18,50 (UI)

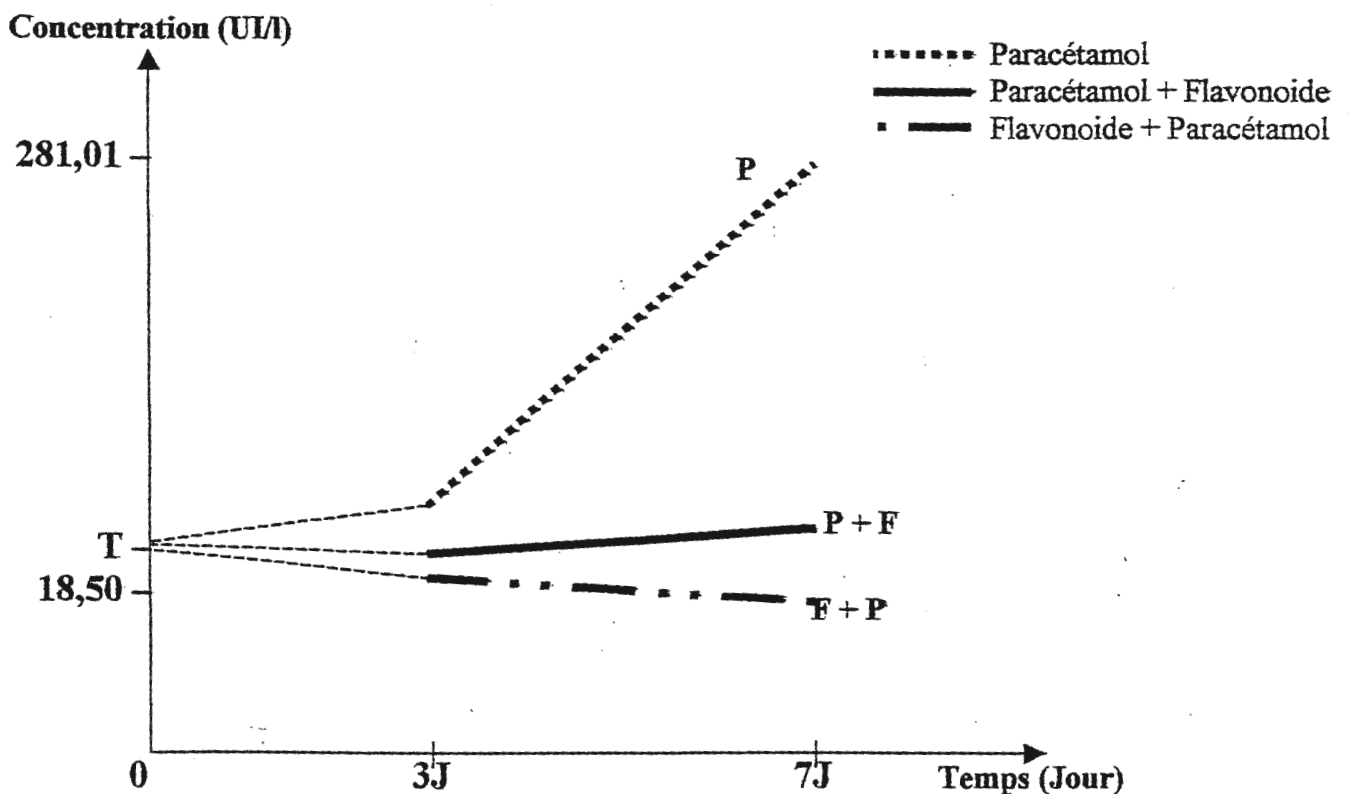


Figure 4: Variation de concentration de phosphatase alcaline (UI/l) en fonction de temps après l'administration de paracétamol(100 mg/kg) et des Flavonoïdes .

Tableau N°4: Variation de concentration de phosphatase alcaline (UI/l) en fonction de temps après l'administration du paracétamol(200 mg/kg)

Groupes	Temps	
	72 h	7 J
Témoin	39,75 (UI)	34,27 (UI)
Paracétamol G2	40,21 (UI)	49,35 (UI)
Paracétamol +Flavonoïde	28,34 (UI)	17,36 (UI)
Flavonoïde + paracétamol	42,95 (UI)	64,89 (UI)

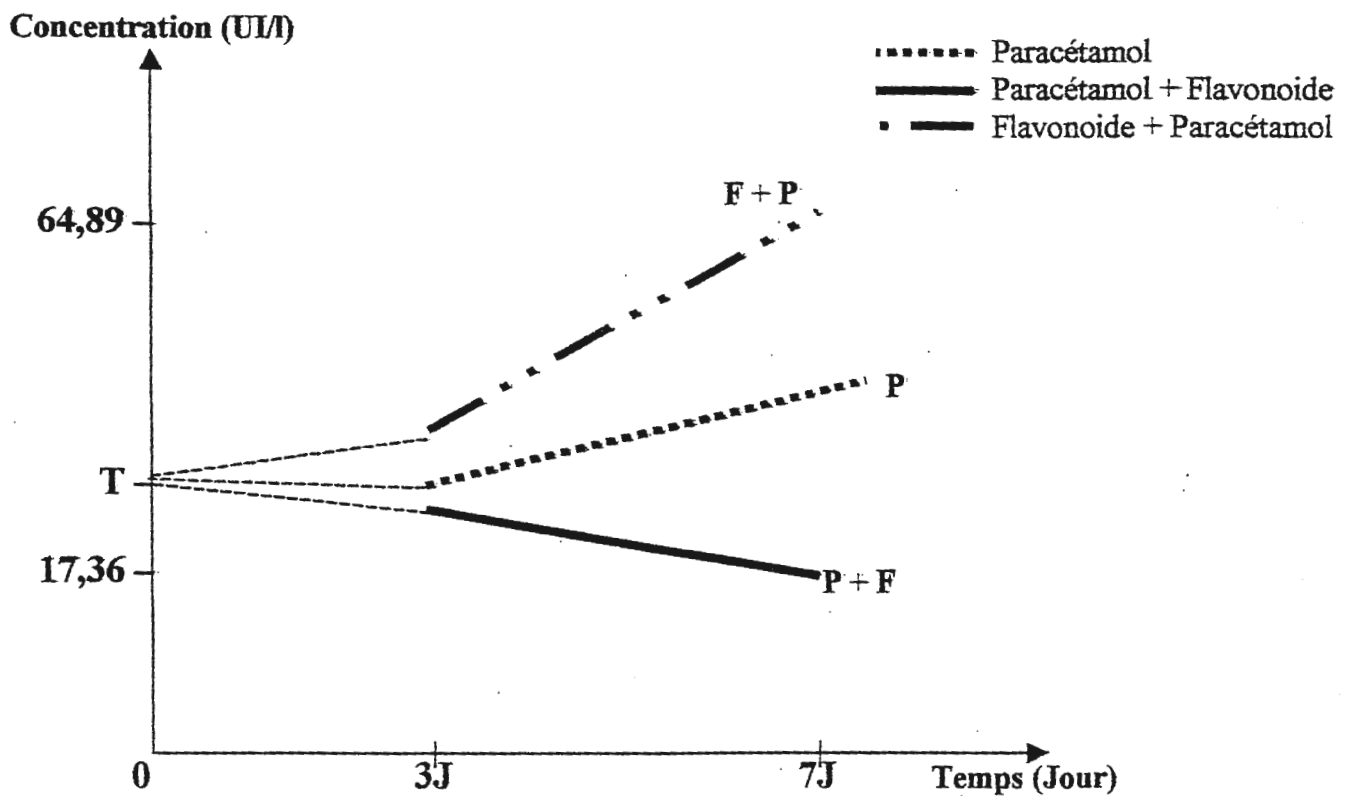


Figure N°2: Variation de concentration de phosphatase alcaline (UI/l) en fonction de temps après l'administration du paracétamol(200 mg/kg)

A partir de la courbe (9), nous avons observé une augmentation des phosphatases alcalines sériques dans le lot d'animaux traités par le paracétamol seul, à partir du 3<sup>ème</sup> jour jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour (Pic), par contre chez les lots d'animaux traités par le paracétamol avec les flavonoides (curatif) et les flavonoides avec le paracétamol (préventif), restent proches des valeurs normales..

Et la courbe (10), montre une augmentation des phosphatases alcalines dans les lots traités par les flavonoides avec le paracétamol (préventif) et le lot traité par le paracétamol seul du 3<sup>ème</sup> jour au 7<sup>ème</sup> jour, mais nous avons constaté une diminution de l'activité phosphatase alcaline chez le lot traité par le paracétamol avec les flavonoides (curatif).

#### **IV.2. Résultats des dosages biochimiques :**

Les dosages biochimiques que nous avons réalisés sont les : dosages sérique de la bilirubine (totale et directe), des protéines totales et du cholestérol.

##### **IV.2.1. La bilirubine (total et directe) :**

La bilirubine est augmentée dans les ictères par hémolyse et par le trouble congénitale du métabolisme de la bilirubine. Elle est accrue dans les ictères des hépatites, des cirrhoses, des mal formation des voies biliaires et des troubles excrétoires de la bilirubine (10).

Les résultats du dosage de la bilirubine (totale et directe) sont rassemblés dans le tableau suivant (N°9).

Tableau N°8 : La variation de la bilirubine (T et D) en fonction du temps :

La dose	Les lots	24 heures		72 heures		7 jours	
		BT ( $\mu\text{mol/l}$ )	BD ( $\mu\text{mol/l}$ )	BT ( $\mu\text{mol/l}$ )	BD ( $\mu\text{mol/l}$ )	BT ( $\mu\text{mol/l}$ )	BD ( $\mu\text{mol/l}$ )
100 mg/kg	P seul	20,98	9,13	1,26	1,20	1,276	0,475
	F + P	-	-	1,077	1,81	0,87	0,75
	P + F	-	-	0,92	1,09	0,87	0,77
200 mg/kg	P seul	15,37	6,55	0,537	1,078	0,83	0,6
	F + P	-	8,17	0,61	1,20	0,52	0,617
	P + F	-	-	0,765	1,117	0,86	0,6

- BD  $\rightarrow$  Bilirubine directe ( $\mu\text{mol/l}$ ).
- BT  $\rightarrow$  Bilirubine totale ( $\mu\text{mol/l}$ ).
- P seul  $\rightarrow$  Paracétamol seul
- F + P  $\rightarrow$  association des Flavonoïdes avec le paracétamol.
- P + F  $\rightarrow$  association de paracétamol avec les Flavonoïdes.

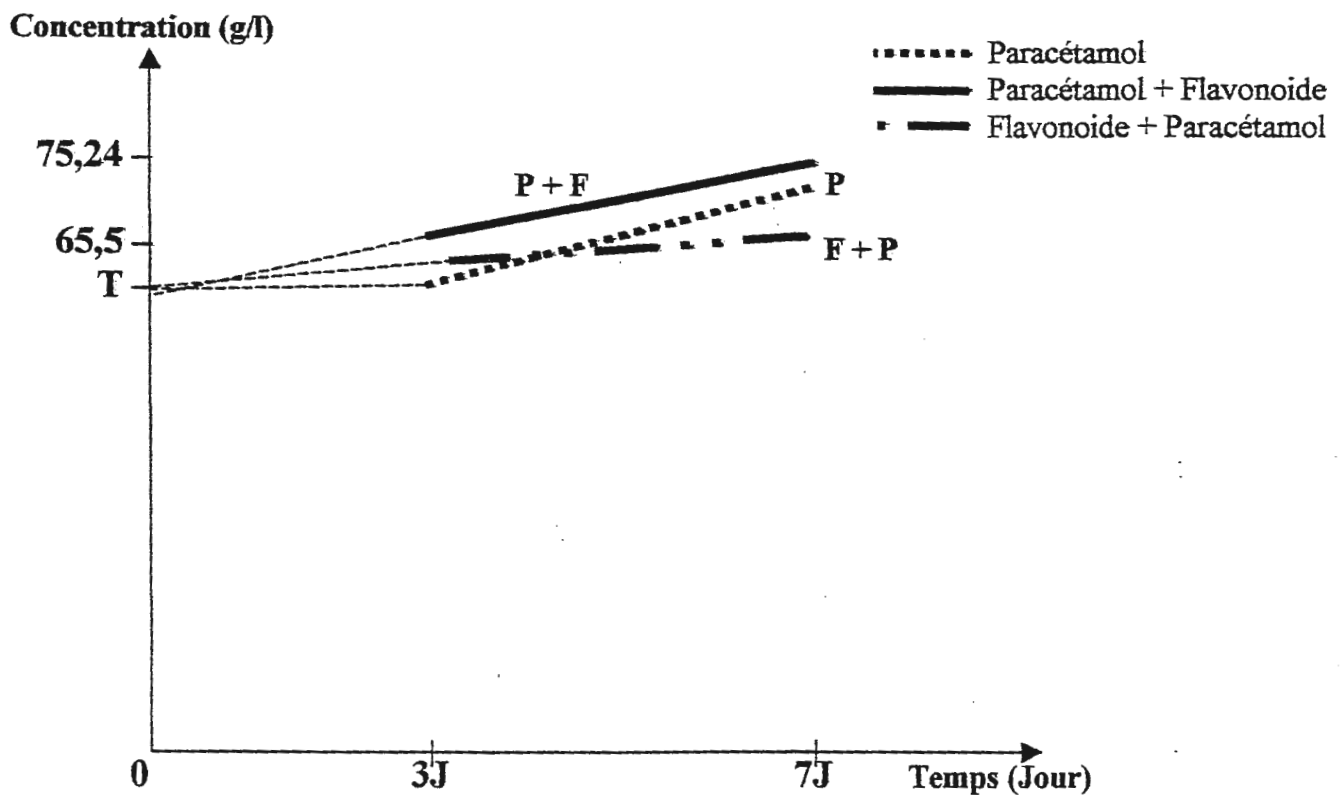
A partir du tableau (8) nous avons observé des valeurs normales de bilirubine (totale et directe).

#### IV.2.2. Les protéines totales :

Les résultats du dosage des protéines totale sont rassemblés dans les courbes suivantes :

**Tableau N°9 :** Variation des protéines totales en fonction du temps après l'administration du paracétamol(100 mg/kg)

Groupes	Temps	
	72 h	7 J
Témoin	63 g/l	63 g/l
Paracétamol G1	63 g/l	70,66 g/l
Paracétamol +Flavonoïde	66,62 g/l	75,24 g/l
Flavonoïde + paracétamol	65,5 g/l	66,86 g/l

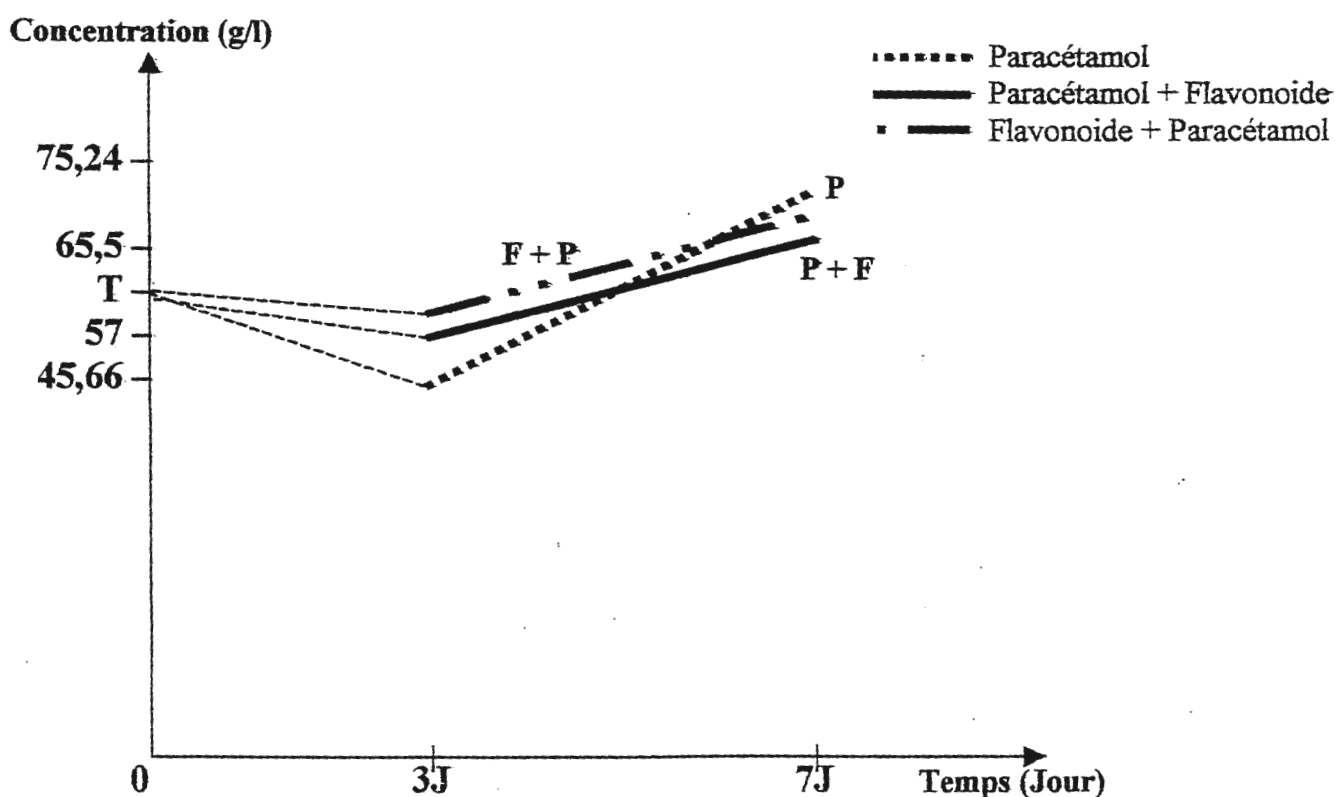


**Figure 13 :** Variation des protéines totales en fonction du temps après l'administration de paracétamol(100 mg/kg) et des flavonoides

Le résultat du dosage des protéines totales chez le T- est : 63 g/l

Tableau N°30: Variation des protéines totales en fonction du temps après l'administration du paracétamol(200 mg/kg) et des Flavonoïdes.

Groupes	Temps	
	72 h	7 J
Témoin	63 g/l	63 g/l
Paracétamol seul	45,66 g/l	70 g/l
Paracétamol +Flavonoïde	57 g/l	65,5 g/l
Flavonoïde + paracétamol	58,74 g/l	68,6 g/l



Figure(3): Variation des protéines totales en fonction du temps après l'administration du paracétamol(200 mg/kg) et des flavonoïdes

Le résultat du dosage des protéines totales chez le T- est : 63 g/l

A partir de la courbe (13) dans les deux cas, soit paracétamol seul, ou paracétamol associé avec les flavonoides, les taux des protéines totales augmentés par rapport aux témoins, mais dans le cas de l'association de Flavonoides avec le paracétamol, restent proches des valeurs normales (témoins) et nous avons remarqué à partir de la courbe (14), les taux des protéines totales dans les trois cas soit paracétamol seul ou l'association avec le paracétamol (curatif ou préventif), diminué jusqu'au 3<sup>ème</sup> jour puis ils sont augmentés jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour.

**IV.2.3. Le cholestérol :**

Les résultats du dosage du cholestérol sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau n°10 : La concentration de cholestérol après 72 heures :

La dose	Les lots	La concentration après 72 heures
-	Témoins	5,6 m mol/l
100 mg/ kg	Paracétamol seul	5,7 m mol/l
	Flavonoides avec paracétamol	5,014 m mol/l
	Paracétamol avec flavonoide	6,28 m mol/l
200 mg/kg	Paracétamol seul	5,47 m mol/l
	Flavonoides avec paracétamol	5,545 m mol/l
	Paracétamol avec flavonoide	5,774 m mol/l

Le tableau N° 10 montre qu'il existe des valeurs normales cholestérol chez les lots (proche de Témoin).

# *Discussion*



#### IV. Discussion :

La toxicologie s'intéresse aux lésions morphologique et fonctionnelles produites par des substances chimiques dans les organismes vivants notamment l'homme et l'animal (10).

Après l'administration des médicaments par voie orale, le foie représente le siège de son métabolisme.

Et le paracétamol l'un de ces médicament qui est métabolisé dans le foie et donne le métabolite réactif (N-acétyl-p-benzoquinone-Imine) formé par le cytochrome P450. Ce métabolite réactif provoque des lésions hépatiques.

Nous avons étudié la toxicité hépatique du paracétamol chez des rats traités par deux doses de 100 mg/kg (1/3 DL50) et 200 mg/kg (2/3 DL50) pendant 03 jours, et suivis sur un délais de 07 jours.

L'évolution des lésions s'est révélée variable selon la dose administrée à l'animal dont ces lésions étant d'autant plus importantes que la dose est plus élevée.

Dans notre étude, nous avons montré que l'administration du paracétamol seul à la dose 100 mg/kg et 200 mg/kg entraînait une nécrose et cholestase hépatique chez les rats indiqués par l'augmentation des TGP, TGO et des phosphatases alcalines.

En cas de surdosage, le reste des métabolites non conjugués entre le glutathion et « N-acétyl-p-benzoquinone- Imine » se combine aux protéines et aux lipides membranaires provoquant la destruction des cellules et la sortie de leurs contenus dans le sang et par conséquence l'augmentation de leurs concentration sanguines.

Nos résultats sont en corrélation avec ceux publiés sur la toxicité hépatique par les métabolites réactifs (6).

Au contraire chez les lots traités par l'association des Flavonoides avec le paracétamol (à titre préventif) et l'association de paracétamol avec les flavonoides (à titre curatif).

Nous avons constaté une diminution légère dans la plupart des paramètres précédents : (TGO, TGP, phosphatases alcalines) ce qui indique que les flavonoïdes peuvent être liés avec les radicaux libres des métabolites réactifs et empêchent ainsi leur combinaison avec les protéines et les lipides des hépatocytes.

Il faut noter que, nous avons enregistré des valeurs normales des cholestérol et des bilirubines, ce qui nous oriente beaucoup plus vers un syndrome de cholestase intra hépatique qu'à une obstruction des voies biliaires.

Il ressort également de notre <sup>étude</sup> qu'au delà d'une dose seuil (située entre 100 et 200 mg/kg/oral) on observe une hépatotoxicité par le paracétamol. Cependant l'utilisation des flavonoïdes permet d'en atténuer considérablement ces perturbations biochimiques et enzymatiques hépatiques.

*Conclusion*

## V. Conclusion :

Notre étude effectuée sur la toxicité hépatique du paracétamol nous a permis de dégager les conclusions suivantes :

- aux doses de 100 et 200 mg/kg le paracétamol seul provoque un syndrome mixte (cytolytique et cholestatique) objectivé par l'augmentation des transaminases et des phosphatases alcalines.
- L'administration de flavonoïdes sous forme de Daflon, à la dose de 60 mg/kg par voie orale avant ou après l'administration du paracétamol permet d'éviter (effet préventif) ou de rétablir (effet curatif) les perturbations hépatiques provoqués par le paracétamol

*Annexe*

**Annexe:****Les réactifs utilisés pour les dosages :****a. Les transaminases (TGP et TGO) :**

<b>Réactif 1</b> (substrat TGO)	Tampon phosphate PH : 7,5 → 85 m mol/l Aspartate → 200 m mol/l $\alpha$ - cétooglutarate → 2 m mol/l
<b>Réactif 2</b> (substrat TGP)	Tampon phosphate PH : 7,5 → 95 m mol/l Alanine → 200 m mol/l $\alpha$ - cétooglutarate → 2 m mol/l
<b>Réactif 3</b> Réactif de coloration	2,4 dinitrophenylhydrazine → 1 m mol/l Hcl* → 0,1 l/l
<b>Réactif 4</b> Etalon	Pyruvate

- Les réactifs sont stables plusieurs années à 2-8°C.
- Le réactif 3 est à conserver à l'abri de la lumière.

**b. Les phosphatases alcalines :**

Contenu	Concentration dans le test
<b>1- Tampon</b>	
2-amino-2-méthyl-1-propanol .....	0,9 mol/l , PH 10,5
<b>2- Substrat</b>	
P-nitrophénylphosphate .....	16 m mol/l
<b>3- Mg<sup>++</sup></b> .....	1,0 m mol/l

**c. La bilirubine:**

<b>Réactif 1</b> Acide sulfanilique /DMSO	Acide sulfanilique ..... 25 m mol/l Acide chlorhydrique ..... 74 m mol/l Déméthylsulfoxyde ..... 7 mol/l <u>IRRITANT :</u> Eviter le contact avec la peau
<b>Réactif 2</b> Acide sulfanilique	Acide sulfanilique ..... 25 m mol/l Acide chlorhydrique ..... 87 m mol/l
<b>Réactif 3</b> Nitrite de sodium	Nitrite de sodium ..... 17 m mol/l

La stabilité des réactifs à 15-25 °C est indiquée sur chaque conditionnement.

**d. Le cholestérol :**

	<b>Code 11805</b>	<b>Code 11505</b>	<b>Code 11506</b>	<b>Code 11539</b>
<b>A. réactif</b>	1 x 50 ml	1 x 200 ml	1 x 500 ml	1 x 1L
<b>S. Etalon</b>	1 x 5 ml	1 x 5 ml	1 x 5 ml	1 x 5 L

**A.Réactif :** piperazine 35 m mol/l, cholate de sodium 0,5 m mol/l, phénol 28 m mol/l, cholestérol estérase > 0,2 U/ml, cholestérol oxydase > 0,1U/ml, peroxydase > 0,8U/ml, 4-amino-antipyrine 0,5 m mol/l, Ph = 7.

**S. Etalon de cholestérol :** Cholestérol 200 mg/ dl ( 5,18 m mol/l).

Etalon primaire aqueux



*Références*  
*Bibliographiques*



## Références bibliographiques :

- (1) Bresse G., 1992-  
Morphologie et physiologie animales., EDITION Librairie Larousse.
- (2) Boulard L., 1985-  
Anatomie physiologie microbiologie., EDITION Dunod.
- (3) Ben Abess F., Abess L., 2002-  
L'effet du paracétamol sur le contenu hépatique chez les rats.,  
DES de biochimie., université d'Annaba.
- (4) Bismuth C., Baud F., couso F., Dally S., Fréjaville jean P., Garnier R.,  
Jaeger A., 1995-  
Toxicologie clinique., EDITION Médecine- Science Flammarion.,  
(5<sup>ème</sup> EDITION).
- (5) Barrier J-, 1992-  
Le pharmacien et la sémiologie- pathologie médicale., EDITION Ellipses.
- (6) Boutelete I., 1985-  
Les glutathion S- transférases.,  
DEA de biologie cellulaire et moléculaire., (ROUEN , France).
- (7) Ben cheikh- elhocine N., Tayeb M., 2000-  
Etude pharmacologique complète sur le paracétamol (paralgan).,  
Des de biochimie., université de Constantine.
- (8) Chaléon J., 1985.- pharmacie., EDITION Doin (4<sup>ème</sup> EDITION).
- (9) Crray G., Beriel H., Bortard M., - 1989-  
Pharmacodynamie spéciale., Tome 02.
- (10) Chettab B., Adouane T., Kebbab N.- 2001-  
L'étude de l'effet préventif des flavonoïdes (DAFLON 500mg) sur  
l'hépatotoxicité d'un médicament Anti-cancéreux chez le rat.,  
DES de biochimie., Centre universitaire de Jijel.
- (11) Chaléon J., avec la collaboration de Abeille D., 1996-  
Pharmacologie et rôle infirmier.

- (12) Domart A., Bourneuf J., 1981-  
Nouveau Larousse Médicale.
- (13) Elghozi J., Duval D., 1987-  
Aide mémoire de pharmacologie., EDITION Acco Louvain.
- (14) Franck Lu., 1992-  
Toxicologie : donnée générale procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque., EDITION Doin.
- (15) Fournir E., Thomas G., 1993-  
Toxicologie.
- (16) [Http://fr-search.yahoo.com/\(www.nicose.com/upload\)](http://fr-search.yahoo.com/(www.nicose.com/upload)).
- (17) Lechat P., Calvo F., Descrénieux Jean P., Giroud P.,  
Lagier G., Lechat P., Rouvieux B., Weber S., 1990-  
Pharmacologie médicale (5<sup>ème</sup> édition).
- (18) Lullman H., Mohr K., Ziegler A., 1995-  
Atlas de poche de pharmacologie.,  
EDITION Médecine- Science Flammarion., (2<sup>ème</sup> EDITION française).
- (19) Lespagnol A., 1993-  
Précis de pharmacie clinique usuelle., fascicule 2.
- (20) Lechat P., Lagier G., Rouveix B., Weber S., Vincens M., 1982-  
Pharmacologie médicale., EDITION Doin., (4<sup>ème</sup> EDITION).
- (21) Leyral G., vierling E., Aout 2001-  
Microbiologie et toxicologie des aliments hygiène et sécurité  
alimentaire.
- (22) Redjem R., 1999-  
L'étude de la néphrotoxicité de l'association: paracétamol-  
Doxorubicine chez le rat.,  
DES de biochimie., université de Constantine.
- (23) Segresta J-M., Caulin C., Bergman J-F., 1992-  
Thérapeutique. EDITION Médecine- Science Flammarion  
(4<sup>ème</sup> édition).



- (24) Salah R., 2001-  
Exploration biologique de la fonction hépatique.,  
DES de biochimie., Université Mentouri – Constantine.
- (25) Schordert M et collaborateurs., 1992-  
Pharmacologie (des concepts fondamentaux aux application  
thérapeutique)., volume 2.
- (26) Tolber M., Willoquet G., 1998-  
Guide pharmaco (Etudiants et professionnels paramédicaux):  
3<sup>ème</sup> EDITION.
- (27) [www.chru.lille.fr/cap/ca500.aout3.htm](http://www.chru.lille.fr/cap/ca500.aout3.htm).
- (28) Zouad Z., Lebbada L., 1999-  
Etude de la toxicité hematology de l'association du méthotrexate+  
paracétamol chez le rat wistar.,  
DES de biochimie., Université de Constantine.
- (29) Anonyme –1982- Dictionnaire pratiques des médicaments.
- (30) Anonyme –2001- L'étude de l'hépatotoxicité de l'association du  
paracétamol et des méthoterescate chez le rat.,  
DES de biochimie., université de constantine.
- (31) Anonyme., Mini book (pharmacologie)., EDITION : J.B. Bailliére.
- (32) Anonyme., MANUEL de thérapeutique médicale.
- (33) Anonyme., Article : cytochrome P 450.

MAHROUK Nedjouna  
BOUHAMI Hizia  
KHELLAF Nassima

Nature du diplôme  
D.E.S en Biochimie

Date de soutenance :

29/ 06/2003

Titre : L'étude de la toxicité hépatique du Paracétamol

### Résumé

Le paracétamol est analgésique très utilisé en automédication. La toxicité survient lorsque le taux de métabolites réactifs issu de sa transformation par de cytochrome P450 augmente.

Nous avons étudié l'effet de deux doses (100 et 200 mg/kg/orale) de paracétamol chez le rat. Ainsi que l'influence des flavonoïdes (Daflon) sur sa toxicité.

07 groupes de 06 rats albinosechacun ont été utilisé dans l'étude des dosages de : Transaminase (TGO, TGP) de Bilirubine, de phosphatases alcalines, des protéines totales et de cholestérol ont été effectués sur du sérum aux délais de 01,03 et 07 jours.

Les résultats montrent une élévation de tous les paramètres étudiés sauf du cholestérol et de bilirubine

En présence des flavonoïdes ces taux se trouvent normaux

### المختصر

يعتبر الباراسيتامول من مسكنات الألم الأكثر استعمالا بشكل ذاتي.

سميته تكمن في ارتفاع معدل الميتابوليت السام الناتج عن التحول بواسطة الـ cyt P 450.

قمنا بدراسة تأثير جرعتين (100 - 200 ملغ/كغ عن طريق الفم) من الباراسيتامول عند الفئران، و أيضا تأثير الفلافونويدات (داقلون) على سميته.

استعملنا 07 مجموعات كل واحدة تحتوي على 06 فئران (Albinose) في دراستنا

لمعايير ناقلات الأمين (TGP-TGO) إنزيمات الفسفرة القلوية و البروتينات المصلية، البيليروبين، و الكوليسترول و التي تمت كلها على المصل خلال يوم، 03 ايام و 07 أيام.

و النتائج أظهرت ارتفاع كل المعايير المدروسة ما عدا الكوليسترول و البيليروبين.

في وجود الفلافونويدات هذه المعدلات تكون عادية

### Summary

The paracetamol is pain-killing very used in self-medication. The toxicity occurs when the rate of reactive metabolites descended of its transformation by P450 cytochrome increases.

We studied the effect of two doses (100 and 200 mg/kg/oral) of paracetamol among the rat. As well as the influence of the flavonoïdes (Daflon) on his/her/its toxicity.

07 groups of 06 albino rats each has been used in the survey of dosages of:

Transaminase (TGO, TGP) of Bilirubine, alkali phosphatases, the total proteins and cholesterol has been done on the serum to the delays of 01,03 and 07 days.

The results show an elevation of all parameters study except cholesterol and bilirubine

In presence of the flavonoïdes these rates are normal .

### Mots clés:

Paracétamol, les flavonoïdes, rat albinose, la toxicité, métabolites réactifs, cytochrome P450, automédication.