République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique

Université de Yahia Fares de Médéa

Faculté des Sciences

Mémoire

Département de Biologie

Spécialité : Biologie et Pathologie Cellulaire

CHOUIHI Warda

MOHAMMED SEGHIR Ayoub

Impact du Diclofénac sur le stress oxydatif induit par l'intoxication au Paracétamol : Etude Bibliographique

Devant le jury composé de :

Mme S. SALEM	**MAA/ U.**Médéa	Promotrice
Mme F/Z. MOUZAOUI	**MAA/ U.**Médéa	Examinatrice
Mme A. DERBOUZ ROUIBATE	**MCB/U**. Médéa	Examinatrice

Médéa, 2021/2022

Remerciements

Nous commençons par remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et l'amour du savoir pour pouvoir réaliser ce modeste travail. Le thème de ce mémoire a été proposé par Mme SALEM SABIHA professeur à l''université de Médéa

Nos plus vifs remerciements vont pour avoir accepté d'encadrer ce sujet, ainsi pour ses orientations, ses judicieux conseils et sa disponibilité tout au long de l'évaluation de notre projet. Nous tenons à remercier également les membres d'examinateurs :

Mme MOUZAOUI F/Z et Mme DERBOUZ ROUIBAT E.

A pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nos derniers remerciements, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

♥*Je remercie en premier lieu 'ALLAH' le Miséricordieux de ma avoir donné la force, Volonté, et la patience durant toutes mes années d'étude.*

Je décide ce travail à :

A mes chers parents, ma mère KHADRA et mon père SLIMANE, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs HANANE et NARIMENE, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mes chers frères, LAKHDAR, SAID et ABDELKADER pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

A tous qui m'a toujours soutenu, supporté et était toujours présenté, même dans les pires moments.

Je vous dédie ce travail tout en espérant le succès dans votre vie familiale et professionnelle

WARDA

Dédicace

♥*Je remercie en premier lieu 'ALLAH' le Miséricordieux de ma avoir donné la force, Volonté, et la patience durant toutes mes années d'étude.*

Je décide ce travail à :

A mes chers parents, ma mère FATIHA et mon père MESSAOUD, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chers frères, SIDALI et OUSSAMA pour leur appui et leur encouragement,

A mes chères sœurs IMANE et KHAWLA, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A toute ma famille "MOHAMMED SEGHIR" pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

A tous qui m'a toujours soutenu, supporté et était toujours présenté, même dans les pires moments.

Je vous dédie ce travail tout en espérant le succès dans votre vie familiale et professionnelle

AYOUB

Sommaire

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Rappel 1

Bibliographique 1

Chapitre I : 4

Le paracétamol 4

I - Le paracétamol 2

1-Définition 2

2-Propriétés physicochimiques de paracétamol 2

3-Propriétés Pharmacocinétique 3

3-1- Absorption 3

3-1-2- Par Voie rectale 3

3-1-3-Par voie intraveineuse 3

3-2- Distribution du paracétamol 3

3-3- Métabolisme du paracétamol 4

3-4- Élimination du paracétamol 5

4-Les différents types d'intoxication 6

a-Intoxication aigue 6

b- Les intoxications chroniques 7

5. Propriété Toxicocinétique 8

5-1-Hépatotoxicité 8

5.2. Néphrotoxicité 9

Chapitre II : 2

Stress oxydatif 2

II-Le stress oxydatif 10

1-1-les espèces réactives de l'oxygène 10

1-1-1-Origines des espèces réactives de l'oxygène (ERO) 11

1-1-1-a-les espèces réactives d'oxygène endogène 11

1-1-1-b-les espèces réactives d'oxygène exogène 12
1-1-2-Rôle physiologique 12
1-2-Les espèces réactives de l'azote 13
1-2-1-Origine des espèces réactives de l'azote 13
1-2-2-Rôle physiologique 13
2-Les cibles biologiques du stress oxydant 14
2-1--acides nucléiques 15
2-2-Protéines et acides aminés 15
2-3- lipides 16
2-4- Oxydation des lipoprotéines 16
2-5-Oxydation des glucides 17
3-les systèmes des défenses antioxydants 17
3-1-Les antioxydants enzymatiques 18
3-1-1- Les catalases 18
3-1-2-Les superoxyde dismutases (SOD) 18
3-1-3-Les glutathion peroxydases (GPxs) 19
3-1-4-L'hème oxygénase (HO) 19
3-1-5-Le système thiorédoxine 19
3-2-Les antioxydants non enzymatiques 20
3-2-1-Le glutathion et les protéines-thiols 20
3-2-2-β-carotène 21
3-2-3-La vitamine C 22
3-2-4-La vitamine E 22
3-2-5-Le Coenzyme Q10 22
3-2-6-L'acide urique 22
3-2-7-La bilirubine 23
3-2-8-Les polyphénols 23
3-2-9-Les oligoéléments 23
4-Signalisation cellulaires et stress oxydant 24
5-Conséquences du stress oxydant 24
5-1-Théorie radicalaire du vieillissement 24
5-2-Les pathologies chroniques liée à un excès d'EROs 25
5-2-1-Diabète de type 2 25
5-2-2-L'athérosclérose 25
5-3-Maladies neurodégénératives 25
Chapitre III : 27

Le Diclofénac 27
III - Le Diclofénac 27
1-Définition 27
2-Propriétés physicochimiques 27

3- Propriétés pharmacocinétiques 28
3-1- Absorption 28
3-2- Distribution 28
3-3- Biotransformation 29
3-4- Élimination 29
4. Mécanisme d'action du Diclofénac et ses effets pharmacologiques 29
Matériels et Méthodes 31
Modèle 31
Méthodes de dosage 32
Résultats 33
Discussion 36
Conclusion 37
Références bibliographiques 39

Résumé

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracétamol chez des rats mâles de genre Albinos wistar.

Le paracétamol est à l'origine de l'une des intoxications les plus fréquentes dans le monde, source persistante de décès, Le métabolisme de ce dernier aboutit à la formation d'un métabolite réactif et des ERO résultant du stress oxydatif dont le système de défense anti-oxydant intracellulaire est capable de les neutralisés et assurer le retour à un équilibre redox de la cellule.

Des animaux rats wistar ont été répartis en 6 lots, chaque lot a reçu une dose du paracétamol et diclofénac. Des dosages biochimiques et tissulaires ont été dosé.

La toxicité du PARA a été révélée par une augmentation des taux de paramètres biochimiques, et une diminution de la concentration du cholestérol sérique et du GSH tissulaire, en comparant aux témoins. Les résultats de la déplétion du GSH et l'élévation des enzymes du stress oxydatif (GPx et GR) mettent en évidence le rôle détoxifiant du système glutathion.

L'association (PARA + DiCF) a révélé un effet protecteur objectivé par la réduction des concentrations paramètres biochimiques et l'augmentation du taux de GSH. Au regard de ces résultats, il apparaît que le DiCF possède une action protectrice vis-à-vis des effets toxiques du PARA.

Mots clés : paracétamol, diclofénac, stress oxydatif, toxicité, glutathion, glutathion peroxydase

Abstract

The objective of this work is to study the protective effect of diclofenac against oxidative stress induced by paracetamol toxicity in male Albino wistar rats.

Paracetamol is the cause of one of the most frequent intoxications in the world, a persistent source of death. The metabolism of paracetamol leads to the formation of a reactive metabolite and ROS resulting from oxidative stress, which the intracellular antioxidant defense system is able to neutralize and ensure the return to a redox balance in the cell.

Wistar rats were divided into 6 batches, each batch received a dose of paracetamol and diclofenac. Biochemical and tissue assays were performed.

PARA toxicity was revealed by increased levels of biochemical parameters, and decreased serum cholesterol and tissue GSH concentration, compared to controls. The results of GSH depletion and the elevation of oxidative stress enzymes (GPx and GR) highlight the detoxifying role of the glutathione system.

The association (PARA + DiCF) revealed a protective effect objectivated by the reduction of the biochemical parameters concentrations and the increase of the GSH level. In view of these results, it appears that DiCF has a protective action against the toxic effects of PARA.

Key words: paracetamol, diclofenac, oxidative stress, toxicity, glutathione, glutathione peroxidase

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثير الوقائي للديكلوفيناك ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن سمية الباراسيتامول في ذكور فئران ويستار ألبينو.

يعد الباراسيتامول سببًا لواحد من أكثر حالات التسمم شيوعًا في العالم ، وهو مصدر دائم للوفاة. يؤدي استقلاب هذا الأخير إلى تكوين مستقلب تفاعلي و ROS الناتج عن الإجهاد التأكسدي الذي يكون نظام الدفاع المضاد للأكسدة داخل الخلايا قادرًا على تحييدها وضمان العودة إلى توازن الأكسدة والاختزال في الخلية.

تم تقسيم حيوانات الجرذان الوستارية إلى 6 دفعات ، تلقت كل دفعة جرعة من الباراسيتامول والديكلوفيناك. تم فحص فحوصات الكيمياء الحيوية والأنسجة.

تم الكشف عن سمية PARAمن خلال زيادة مستويات المتغيرات البيوكيميائية و GSH النسيجي. تبرز نتائج استنفاد GSHوارتفاع انزيمات الاجهاد التاكسدي GRو GPx دور إزالة السموم من نظام الجلوتاثيون .

كشفت مجموعة (PARA + DiCF) عن تأثير وقائي أظهره تقليل تركيزات المعلمة البيوكيميائية وزيادة مستويات GSH. في ضوء هذه النتائج ، يبدو أن DiCF له تأثير وقائي ضد التأثيرات السامة لـ PARA.

الكلمات الأساسية: باراسيتامول ، ديكلوفيناك ، الإجهاد التأكسدي ، السمية ، الجلوتاثيون ، الجلوتاثيون بيروكسيديز

Liste Des Figures

Figure 1:Voies métaboliques impliquées dans la dégradation du paracétamol 5
Figure 2:Schéma du processus d'hépatotoxicité due au paracétamol…….9
Figure 3:Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant…….10
Figure 4:Sources de production des radicaux libres..... 11
Figure 5:Conséquences pathogènes du stress oxydant 14
Figure 6:Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules 15
Figure 7:Attaque radicalaire aux protéines..... 16
Figure 8:Peroxydation des acides gras polyinsaturés 16
Figure 9:Les réseaux antioxydants 17
Figure 10:Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques..... 18
Figure 11:Structure chimique du glutathion 20
Figure 12:Métabolisme et synthèse du glutathion..... 21
Figure 13:: Les vois biochimiques dans le processus de l'inflammation et les points cibles des AINS..... 31
Figure 14:Taux de glutathion (nM/mg protide) chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne ± SD de 10 rats)..... 34
Figure 15:Activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx (UI/L) chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement 35
Figure 16:. Activité enzymatique de la glutathion réductase GR (U/ L) chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement 35

Liste des tableaux :

Tableau I:Propriétés physicochimiques du paracétamol 2
Tableau II:Propriétés physicochimiques du Diclofénac sodique 27
Tableau III:Concentrations des paramètres biochimiques chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF …….....34

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

ALAT : Alanine-aminotransférase.

ATP: Adenosine triphosphate.

AUC : L'aire sous la courbe

COX : Cyclo Oxygénase

Cu: Cuivre.

CYP450 : cytochrome P450.

DCI : Dénomination Commune Internationale.

EOA : Espèces Oxygénées Activées.

EGF: epidermal growth factor.

ER : les espèces réactives.

ERO : les espèces réactives de l'oxygène.

ERN : les espèces réactives de l'azote.

$FADH_2$: Flavin adenine dinucleotide.

FDA: Food and Drug Administration.

GPX: Glutathion Peroxydase.

GR : Glutathion Réductase.

Grx : Glutaredoxines.

GS : Glutathion synthétase.

GSH : Glutathion réduit.

GST : la glutathion-S-transférase.

GSSG : Glutathion Oxydé.

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène.

HO• : Radical hydroxyle.

LDL: Low density lipoproteins.

LOX : Lipo Oxygénase

MAPK: mitogen activated protein kinase.

NADH H^+: Nicotinamide adenine dinucleotide.

NAPQI : N-acétyl-parabenzoquinone imine.

NO : Le monoxyde d'azote.

NO_2 : le dioxyde d'azote.

NO• : Le monoxyde d'azote radicalaire.

NOS : les Nitric Oxyde Synthases.

NOSc : les Nitric Oxyde Synthases constitutive.

NOSi : les Nitric Oxyde Synthases inductible.

NADPH : Nicotinamide adenine diphosphate réduit.

O2 •- : Anion sueroxyde

PDGF: platelet-derived growth factor.

PKC: protéine kinase C.

pKa : Constante de dissociation d'une molécule.

Q10 : Coenzyme 10.

RL : Radicaux libres.

ROO • : Radicaux peroxyles.

RO• : Radical Alkoxyle.

ROS : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives de l'oxygène).

SOD : Super Oxyde Dismutases.

TNFα : Facteur de Nécrose Tumorale α.

TP : Temps de Prothrombine.

UV : Ultra-violet.

Zn : Zinc.

Introduction

Introduction

Le paracétamol est une substance active aux propriétés analgésiques et antipyrétiques non salicylés qui rentre dans la composition de nombreuses spécialités pharmaceutiques. L'association paracétamol-AINS est très souvent prescrite par les médecins dans le traitement des douleurs inflammatoires. Le paracétamol est considéré comme composé médical dangereux, causant des centaines de décès dans les pays industrialisés dû à l'insuffisance hépatique aiguë **(1)**. Le paracétamol subit a une métabolisation hépatique au niveau du cytosol des hépatocytes **(2)**. Bien que plus le plus grand parti du paracétamol est métabolisé en glucuro et sulfato conjugués non toxiques, le reste est oxydé en métabolite toxique (NAPQI) par le système cytochrome P450 **(3)**. Dans le cas de surdosage, un risque d'intoxication par la saturation des deux voies principales de métabolisation (glucurono- et sulfoconjugaison). Il s'ensuit une hyperproduction de NAPQI par la voie du cytochrome P450. L'excès du NAPQI conduit à une saturation du glutathion **(4)**. Ce dernier cause un stress oxydant qui est un événement physiopathologique et un type d'attaque aux constituants de la cellule dû aux espèces réactives de l'oxygène et aux espèces réactives azotées oxydantes **(5)**. Heureusement l'organisme est accordé à un système antioxydant qui nous protège en éliminant les radicaux libres et/ou les métabolites toxiques des médicaments **(6)**. Mais L'excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense est très dommageable pour les macrobiomolécules essentielles, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines dans les tissu. Aussi plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, aux cancers, des pathologies oculaires, des maladies neurodégénératives. Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires. C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, la maladie de Parkinson ou l'insuffisance rénale **(7)**.

L'association paracétamol-AINS est très souvent prescrite. L'exemple de l'AINS choisi pour notre étude est le traitement par le diclofénac (DiCF), pour connaitre son effet sur le stress oxydant induit par intoxication au paracétamol.

Rappel

Bibliographique

Chapitre I :

Le paracétamol

I - Le paracétamol

1-Définition

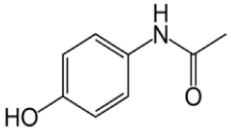
Le paracétamol est un antalgique le plus consommé. Il permet de soulager de nombreuses manifestations douloureuses (maux de tête, douleurs dentaires ou articulaires, états grippaux, règles douloureuses, etc.).

Son mécanisme d'action dans la douleur et la fièvre est encore mal connu. Il agit pendant environ 4 heures, en une vingtaine de minutes après sa prise. Il est sûr et efficace dans les conditions normales d'utilisation et il peut être pris par les enfants. Son utilisation est possible pendant toute la grossesse en cas de douleur ou de fièvre, à la dose efficace la plus faible et pendant la durée la plus courte nécessaire au soulagement des symptômes. Le paracétamol a l'avantage sur l'aspirine de ne pas provoquer d'irritation sur l'estomac, mais il n'est pas anti-inflammatoire et peut soulager un peu moins bien les douleurs d'origine inflammatoire.

2-Propriétés physicochimiques de paracétamol

Les propriétés physicochimiques du paracétamol sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau I: Propriétés physicochimiques du paracétamol (8-9).

DCI	**Paracétamol**
Nom chimique	N-(4-Hydroxyphényl) acétamide
Formule chimique brute	C8H9NO2
Formule chimique développée	
Masse molaire	151,2 g/mole
Pka	9,5 à 25°C
Point de fusion	168 °C à 172 °C
Aspect Poudre	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche, inodore, de saveur amère.
Solubilité	Assez soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool, très peu soluble dans l'éther et le chloroforme
Absorption dans l'U.V	une maximum absorption en solution acide à la longueur d'onde de 245 nm et en solution alcaline 257nm

3-Propriétés Pharmacocinétique

La pharmacocinétique est la relation quantitative qui existe entre une dose administrée d'un produit et l'évolution des concentrations plasmatiques et tissulaires dans le temps **(10)**.

3-1- Absorption

3-1-1- Par voie orale

Le paracétamol est rapidement absorbé par passage passif au niveau de l'intestin grêle grâce à son administration sous forme ionisée **(11)**.

Le pic plasmatique du paracétamol est obtenu au bout de 15 minutes à 2 heures après ingestion selon les formes pharmaceutiques **(12)**:

- En 15 minutes pour les comprimés effervescents et les sirops

- En 1 à 2 heures pour les comprimés et poudres.

L'effet du premier passage hépatique est peu marqué et sa biodisponibilité est proche de 80% **(13)**.

3-1-2- Par Voie rectale

Le paracétamol est réabsorbé progressivement. La biodisponibilité est de 10 à 20 % inférieure à la voie orale. La courbe des concentrations en fonction du temps est voisine de celle observée avec un comprimé à libération prolongée **(14)**.

Les concentrations maximales sont enregistrées au bout de 2 heures après ingestion. L'absorption par voie rectale présente l'inconvénient d'être irrégulière, variable d'un individu à un autre, d'une prise à l'autre chez un même individu **(14)**.

3-1-3-Par voie intraveineuse

Le paracétamol peut être administré par perfusion intraveineuse de 15 minutes soit sous forme d'une pro-drogue : le pro-paracétamol, soit sous forme de paracétamol, la C-max est atteinte après les 15 min ; au-delà de la première heure, les formes orale et intraveineuse fournissent des C-max et demi-vies d'élimination plasmatiques identiques**(15)**.

3-2- Distribution du paracétamol

Le Paracétamol se distribue rapidement dans la plupart les tissus, excepté les graisses **(16)**. Entre 10 à 30 % d'une dose normale se liera aux protéines plasmatiques telles que l'albumine, contrairement à 20 à 50 % lors d'un surdosage. Les concentrations du paracétamol mesurées dans le sang, la salive et le plasma sont relativement comparables. Le volume de distribution

de ce médicament se situe entre 0,7 et 1 L/kg chez l'enfant et entre 1 et 2 L/kg chez l'adulte. Le Paracétamol est reconnu pour traverser la barrière placentaire et hémato encéphalique (**17)**.

Il se distribue dans l'eau totale de l'organisme. Les concentrations plasmatiques efficaces sont de l'ordre de 5 à 20 mg/l. Sa demi-vie d'élimination est de deux à quatre heures (**18)**.

Il traverse la barrière Foteo-placentaire grâce à sa faible masse moléculaire, mais seulement 1.85% de la quantité ingérée (1g) passe dans le lait maternel **(14-19)**.Il est aussi retrouvé dans la salive à une fraction de 1,21 par rapport aux taux plasmatiques **(20).**

Sa liaison aux protéines plasmatiques est faible et son volume de distribution varie de 0,9 à 1 l/kg

3-3- Métabolisme du paracétamol

Lorsque le paracétamol est utilisé à dose thérapeutique, il est hautement métabolisé au niveau du foie (plus de 90 %) **(21-22)**. Le paracétamol est éliminé par 3 grandes voies**(23)**:

- Conjugaison avec un sulfate = sulfoconjugaison.

- Conjugaison avec un glucuronide = glucuronoconjugaison.

- Métabolisation de 5 à 10% par le cytochrome P450 .

Le paracétamol est largement métabolisé et moins de 5% d'une dose thérapeutique est excrétée sous forme inchangée dans l'urine **(24-25)**.

3-3-1-La Sulfoconjugaison : elle représente 20 à 40 % du métabolisme du paracétamol et semble être saturée à des doses relativement faibles (0.5 à 3g). C'est la principale voie de métabolisation des nourrissons et des jeunes enfants **(26-27)**.

3-3-2- La glucuroconjugaison : elle représente 50 à 55 % du métabolisme du paracétamol. Cette voie n'est active qu'à partir de l'âge de 9-12 ans **(26-27)**. Le reste du paracétamol absorbé par l'organisme est métabolisé par le cytochrome P450. Cette voie est obtenue par oxydation du paracétamol par une mono-oxygénase hépatique à cytochrome P450, conduisant à la formation de N-acétyle-p-Benz quinone-imine (NAPQI) voir **(figure1) (28)**. Ce dernier étant un composé toxique pour les hépatocytes. Il est électrophile et se fixe par liaison chimique covalente irréversible «SH » aux macromolécules hépatocytaires. La région Centro-lobulaire du foie est la plus touchée car elle est particulièrement riche en cytochrome P450 **(29)**.

Aux doses thérapeutiques habituelles, 90% du paracétamol subit une métabolisation hépatique au niveau du cytosol des hépatocytes **(22)**. Cette conjugaison s'effectue sur le groupement OH phénolique **(30)**.

En conditions normales d'utilisation, le métabolite (NAPQI) est neutralisé par conjugaison avec le glutathion et rapidement inactivé en cystéine non toxique et en métabolite de l'acide mercapturique **(31)**.

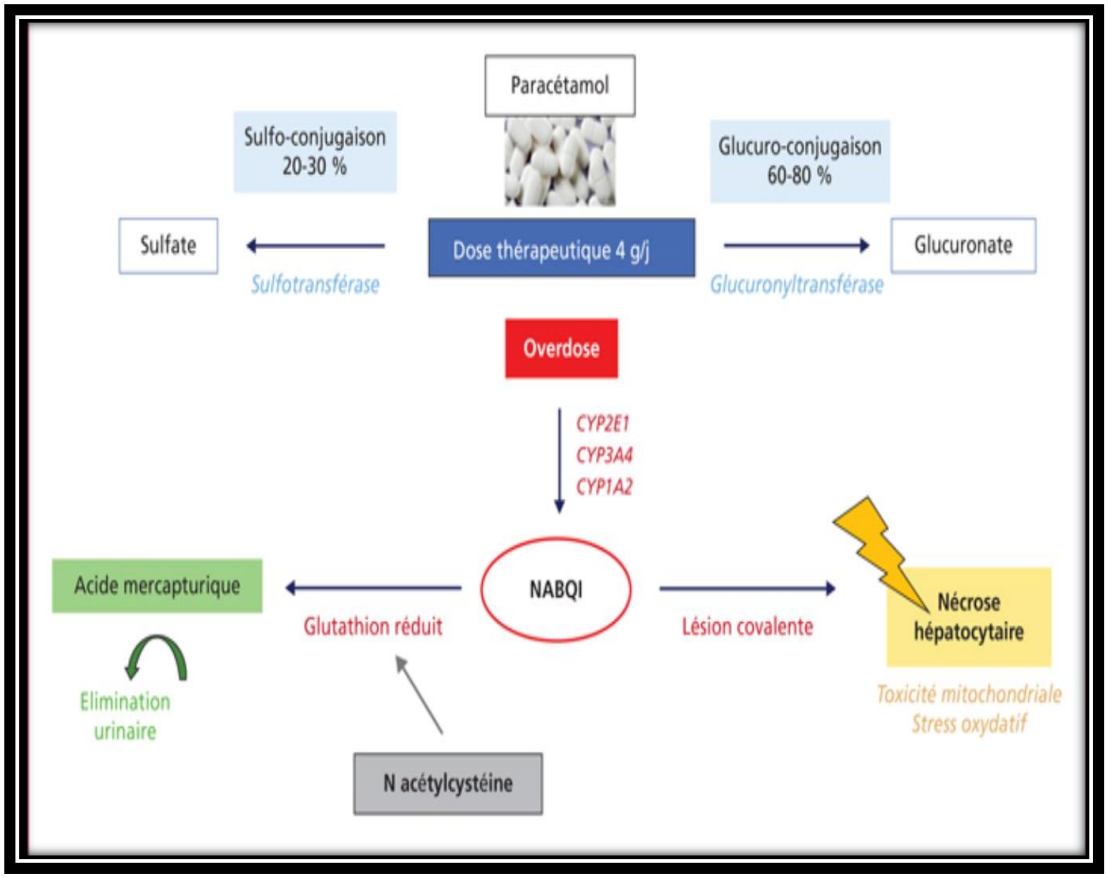


Figure 01:Voies métaboliques impliquées dans la dégradation du paracétamol (32).

Figure I:Voies métaboliques impliquées dans la dégradation du paracétamol

3-4- Élimination du paracétamol

L'élimination du paracétamol se fait par voie rénale en 24 heures **(33)** :

- 5% sous forme inchangée.

- 90% sous forme de dérivés sulfo ou gluco-conjugués.

- 5% sous forme de dérivés N-hydroxylés avec la cystéine ou l'acide mercapturique.

En cas d'insuffisance rénale, l'élimination du paracétamol et de ses métabolites est retardée **(8)**.

4-Les différents types d'intoxication

a-Intoxication aigue

La toxicité aigüe d'un produit regroupe l'ensemble des troubles observés peu de temps après l'administration du médicament et habituellement après une seule dose.

Elles évoluent en 4 stades distincts mais les manifestations initiales des surdosages sont souvent aspécifiques et ne peuvent prédire de l'hépato toxicité**(34)** :

-Stade 1 : les 24 premières heures

Les signes cliniques sont limités à des troubles digestifs tels que les nausées, les vomissements, les douleurs abdominales et parfois une pâleur, une anorexie, une léthargie, un malaise qui vont céder en 24 heures. La plupart des patients restent asymptomatique pendant cette phase. Le patient n'est pas considéré comme malade, les résultats d'un bilan sanguin seraient normaux **(35-36-37)**.

-Stade 2 : De la 24ème à la 72ème heure

Il peut être mis en évidence par une hépato toxicité voire une néphro-toxicité.

Généralement, les symptômes du stade 1 se résolvent pour laisser place à une hépatite cytolytique dose-dépendante **(38)**.

En cas d'insuffisance hépatique aiguë, l'élévation des transaminases apparaît dans les 24 premières heures et perdure durant 36 heures. Lorsque le stade 2 progresse, on peut parfois observer une baisse du TP (temps de prothrombine), une augmentation de la bilirubine une oligurie avec des anomalies de la fonction rénale, une pancréatite aigüe, une péricardite ou une myocardite **(37)**.

Les fonctions rénales peuvent être atteintes sans pour autant que cela soit remarquable lors d'un bilan sanguin **(35-36)**.

-Stade 3 : De la 72ème à la 96ème heure

Réapparaissent des symptômes du stade 1 auxquels s'associent : un ictère, une hépatomégalie, une confusion, signe d'encéphalopathie hépatique, une hyper ammoniuries ainsi qu'une élévation des transaminases. La nécrose hépatique aigue apparait mais en cas de réversibilité, ne laissera pas de séquelles. Cette insuffisance hépatique est parfois mortelle en l'absence de transplantation hépatique, ne laissera pas de séquelles **(39)**. Les signes d'insuffisance hépatique aiguë grave sont **(40)** :

- Un temps de prothrombine (TP) inférieur à 50 %.

- L'apparition de troubles de la conscience évocateurs d'une encéphalopathie hépatique. Certains éléments peuvent être prédictifs de la gravité :

- Une hyper-lactatémie.

- Une dysphosphorémie

- Une hypoglycémie

- Stade 4 : Entre 4 et 11 jours

La région Centro-lobulaire est particulièrement atteinte car elle est riche encytochromes P450 (CYP450) (site maximal de production de NAPQI). L'histologie peut mettre jusqu'à 3 mois pour se normaliser. En cas de régénération complète, il n'existe pas de dysfonction hépatique. Les symptômes et la biologie se normalisent en quelques semaines. Cette insuffisance hépatocellulaire est potentiellement mortelle entre le 3ième et le 10ième jour. Le décès est inévitable entre le 2ième et le 7ième jour si la nécrose centro-lobulaire atteint plus de 60 % **(41)**.

b- Les intoxications chroniques

Elles sont dues à un surdosage moindre en paracétamol que lors d'une intoxication aiguë mais le surdosage est étalé sur une longue période et la dose est dite «cumulative ».

L'intoxication peut se produire avec des doses thérapeutiques de paracétamol données sur plusieurs jours pour le traitement de la douleur. Cette forme d'hépatotoxicité due au paracétamol est considérée comme un surdosage accidentel ou involontaire, et survient généralement chez les patients possédant des facteurs modifiant le seuil de toxicité : patient souffrant de malnutrition, d'une maladie concomitante, d'alcoolisme chronique, d'insuffisance rénale sévère, ou d'une maladie hépatique chronique préexistante

Intoxication

Une Intoxication médicamenteuse est une intoxication causée par un ou plusieurs médicaments. Elle peut être volontaire, dans le cadre d'une tentative de suicide, ou accidentelle. Dans ce dernier cas, elle concerne principalement les enfants et les personnes âgées.

Cette intoxication médicamenteuse peut se manifester par la quantité importante d'une ou plusieurs substances auxquelles le sujet fut exposé, de la dose supposée ingérée, de la formulation (libération prolongée), des symptômes manifestés (troubles du rythme ou de la

conduction cardiaque, instabilité hémodynamique, hypoventilation alvéolaire, convulsions, coma) **(42)**. Une intoxication grave peut être directement liée aux effets du toxique ou aux complications non spécifiques qui en découlent **(43)**.

5. Propriété Toxicocinétique

5-1-Hépatotoxicité

La toxicocinétique d'un médicament diffère de sa pharmacocinétique. Le mécanisme d'hépatotoxicité du paracétamol a été étudié chez l'homme et l'animal.

Le paracétamol est largement converti en glucuro- et sulfoconjugué non toxique puis excrétés dans les urines. Une petite quantité de paracétamol est métabolisée par les CYP450 en produit intermédiaire toxique, la N-acétyl-p-benzoquinone imine. Ce métabolite intermédiaire fortement électrophile est rapidement inactivé par conjugaison avec le glutathion réduit.Le mécanisme d'hépatotoxicité du paracétamol a été analysé chez l'homme et chez l'animal. La toxicocinétique d'un médicament diffère de sa pharmacocinétique.Le paracétamol est largement converti en glucuro- et sulfoconjugués non toxiques puis excrétés dans les urines. Une petite quantité de paracétamol est métabolisée par lesCYP450 en produit intermédiaire toxique, la N-acétyl-p-benzoquinone imine. Ce métabolite intermédiaire fortement électrophile est rapidement inactivé par conjugaison avec le glutathion réduit **(44)**.

D'autres mécanismes, souvent associés, sont à l'origine de la toxicité hépatique **(45)**. En effet, la forte présence de NAPQI provoque la dégradation des lipides membranaires à l'origine d'altérations de la membrane des hépatocytes. Ces derniers perturbent également l'homéostasie calcique responsable de l'activation d'enzymes cytolytiques.

Concernant le mécanisme lésionnel retardé du paracétamol, cela est peu documenté à ce jour. La synthèse de cytokines et la présence d'espèces réactives de l'oxygène, activent les cellules inflammatoires in situ présentes, les cellules de Küpfer (macrophages hépatiques) et macrophages, jouant certainement un rôle essentiel dans le processus d'apoptose **(44) (Figure2).** Une hypothèse soulèverait un lien entre la toxicité hépatique retardée du paracétamol et la production d'Interleukine 1(IL-1) et de Facteur de Nécrose Tumorale α (TNFα) **(44)**.

Les facteurs qui augmentent le métabolisme du paracétamol par le système du CYP450 (certains médicaments, l'éthylisme chronique) ou qui diminuent la disponibilité du glutathion (jeûne, malnutrition) peuvent prédisposer à la toxicité du paracétamol. Les facteurs qui influent

sur la toxicité en aval des intermédiaires métaboliques du paracétamol peuvent aussi influer sur la toxicité. Ces facteurs sont importants dans la conception de thérapies pour l'hépatotoxique du paracétamol

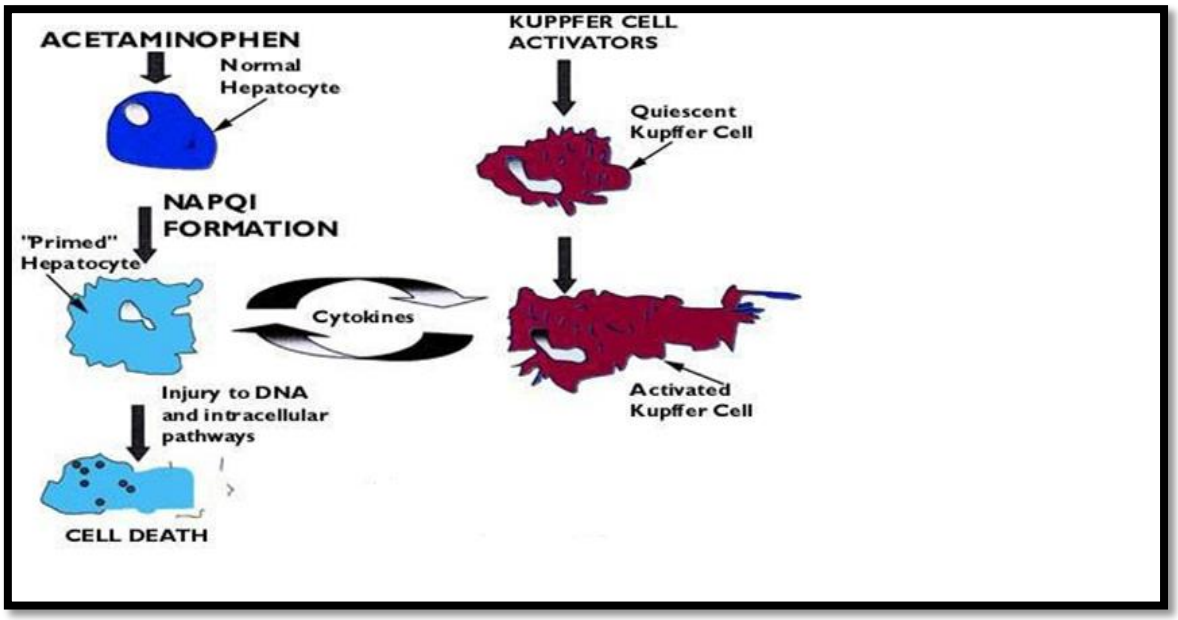


Figure 2 : Schéma du processus d'hépatotoxicité due au paracétamol (46).

5.2. Néphrotoxicité

Le métabolisme hépatique est la principale voie de transformation du paracétamol. Cependant des expérimentations faites chez le rat montrent que le métabolisme rénal aboutit à la production des mêmes composés réactifs NAPQI fortement électrophiles, qui se fixent par liaison covalente aux cellules tubulaires, expliquant ainsi l'atteinte rénale **(47)**. Néanmoins, la néphrotoxicité peut être d'origine fonctionnelle (hypovolémie), iatrogène (association de médicaments néphrotoxiques) ou intégrer le cadre d'un syndrome hépatorénal (hépatite fulminante) **(45)**.

L'atteinte rénale est observée dans moins de 2 % des cas d'intoxication au paracétamol, et dans 50% des cas chez des patients souffrant d'une insuffisance hépatique. Elle peut être dans de rares cas isolée mais elle est le plus souvent associée à une atteinte hépatique.

Chapitre II :

Stress oxydatif

II-Le stress oxydatif

Il existe un équilibre entre d'une part les espèces réactives (ER) qui sont présentes à l'état initial en faible concentration et d'autre part le système antioxydant qui contient des enzymes, des vitamines, des oligoéléments, et du glutathion.

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'ER de l'oxygène et les défenses antioxydants qui peut être insuffisantes et/ou diminuées **(figure3) (48)**.

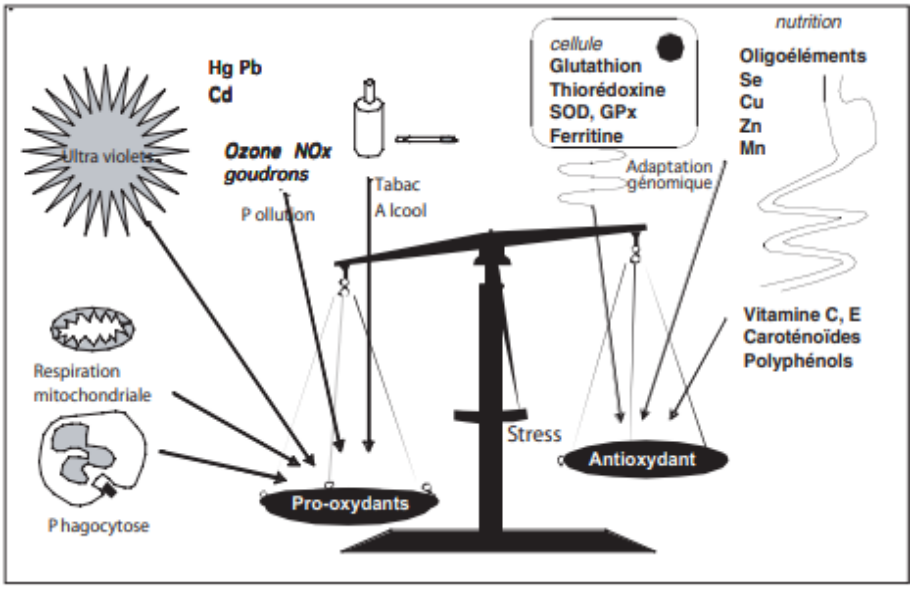


Figure 3 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydant et antioxydant (49).

1- Les espèces réactives

Ce sont de petites molécules possédant au moins un atome d'oxygène et une structure électronique déséquilibrée (électron unique) et instable, ce qui leur confère un niveau élevé de réactivité avec les constituants de l'organisme. Ils sont générés inexorablement en tandem avec le métabolisme énergétique et via une variété de processus différents**(50)**. La concentration normale d'un radical libre peut jouer un rôle dans une variété d'événements biologiques, y compris la participation aux lignées défensives de l'organisme. Leur excès peut être dangereux. Ils ont le potentiel de provoquer des agressions contre la fonctionnalité de la cellule **(51)**. Ils peuvent être dérivés de l'oxygène« les espèces réactives de l'oxygène »(ERO) ou d'autre atome comme l'azote « les espèces réactives de l'azote »(ERN) **(52)**.

1-1-les espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres formés par l'oxygène moléculaire sont connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). En raison de l'importance du métabolisme aérobie, ils constituent

la plus importante classe d'espèces réactives créées dans les organismes vivants **(53)**. L'appellation ERO inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion super oxyde ($O_2^{\cdot}$), radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$), mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2**) (54**).

1-1-1-Origines des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La synthèse endogène massive de radicaux par les macrophages polynucléaires, les cellules endothéliales ou les mitochondries, l'exposition à des générateurs environnementaux (lumière solaire, radioactivité, pollution atmosphérique, nicotine, alcool...), ou une combinaison de ces facteurs peuvent tous provoquer un stress oxydatif **(Figure 4) (49)**.



Figure 4 : Sources de production des radicaux libres (55)

1-1-1-a-les espèces réactives d'oxygène endogène

Les nutriments et l'oxygène fournissent de l'énergie à l'organisme. Au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, la cellule produit également une petite quantité de radicaux libres **(51-56)**. Dans les réactions biologiques, Les électrons constituent l'une des plus importantes sources d'énergie. Ainsi, la phosphorylation oxydative au niveau des mitochondries participe à la synthèse de l'ATP via l'oxydation de NADH H^+ et de $FADH_2$**(57)**. La vitalité de cette production est liée au métabolisme cellulaire de l'oxygène. Cette oxydation entraîne un transfert et une fuite d'électrons, qui constituent le principal générateur de ROS dans la cellule, à savoir le superoxyde **(58)**.

NADPH oxydase : est une enzyme liée à la membrane, présente dans toutes les cellules, qui catalyse la réduction des cellules et de l'oxygène. Elle est capable de libérer du superoxyde dans

la cellule, qui est ensuite transformé en peroxyde d'hydrogène par l'enzyme superoxyde dismutase **(59)**.

1-1-1-b-les espèces réactives d'oxygène exogène

Les agents exogènes qui produisent des ERO continuent de cibler l'organisme humain est obéissante à leur agression **(60)**.

- **Les rayonnements UV**

L'ADN est notamment endommagé par la lumière UV. Les rayonnements ionisants provoquent la création de radicaux libres générés à partir de l'oxygène, tels que (O2. ¯), (O) et (O2), ainsi que les molécules qui produisent des radicaux libres, par le biais d'agents photosensibilisants **(61)**.

- **Le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2)**

Les synthases d'oxyde nitrique sont les enzymes qui créent l'oxyde nitrique (NOS). La suie, le goudron, le tabac et la pollution industrielle sont des exemples de composés nocifs présents dans notre environnement. La synthèse des radicaux libres est également réalisée par ces derniers **(62)**.

- **L'alimentation**

L'alcool, le café et les aliments riches en protéines et en graisses peuvent tous contribuer à la production de radicaux libres, c'est pourquoi ils consomment moins d'antioxydants (**63)**.

- **Certains médicaments**

Les médicaments anticancéreux (tels que les anthracyclines) peuvent également produire des radicaux libres. La création d'entités radicalaires peut être favorisée par certaines variables environnementales. Les ROS sont produits après une intoxication aux métaux lourds (cadmium, mercure, arsenic) ou lors de dommages à l'ADN induits par l'irradiation. En outre, la fumée de tabac, l'alcool et même certains médicaments (xénobiotiques) peuvent être une source de radicaux libres en oxydant ces substances chimiques au niveau du cytochrome P450 **(64)**.

1-1-2-Rôle physiologique

Les ERO jouent une variété de rôles physiologiques vitaux ; ils servent de mécanisme de défense contre les agents pathogènes, comme dans la phagocytose des bactéries par les polynucléaires, et ils pourraient être impliqués dans la régulation de la croissance cellulaire en

tant que seconds messagers **(65)**. Elles sont utiles aussi dans la régulation des gènes et participent au fonctionnement de certains enzymes **(66)**, à la production énergétique, et à la signalisation intracellulaire **(67)**. La vasodilatation capillaire, le fonctionnement de certains neurones, ou encore la Fécondation de l'ovule et enfin, la destruction par apoptose des cellules tumorale qui sont des processus naturels nécessitant la présence de radicaux libre **(68)**.

1-2-Les espèces réactives de l'azote

Les espèces réactives de l'azote chez les mammifères proviennent du monoxyde d'azote et du nitrite. Il convient en premier lieu de décrire NO, le nitrite étant son produit d'auto-oxydation stable **(69)**. Le monoxyde d'azote radicalaire ou NO• est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions **(70)**.

1-2-1-Origine des espèces réactives de l'azote

Le monoxyde d'azote radicalaire NO• a été mis en évidence initialement au niveau du système vasculaire en 1980 en tant que composé endogène de vasorelaxation **(71)**. Le NO• est synthétisé à partir d'un atome d'azote du radical guanidium de l'acide aminé L'arginine et d'une molécule d'oxygène. La production de NO• est obtenue par transformation de la L'arginine en La catullien grâce à une famille d'enzymes : les NO synthèses (NOS) et met en jeu deux étapes, l'hydroxylation d'un azote du groupement guanidine de la L'arginine pour former un composé intermédiaire instable la Ng -OH-L-arginine qui se dégrade ensuite en L-citrulline et NO•**(72)**.

En réponse à un stimulus inflammatoire, la NOS inductible (iNOS) permet de produire, selon un mode continu, de grandes quantités de NO•. La présence de Ca^{2+} est nécessaire à l'activité de la iNOS, mais à une concentration intracellulaire beaucoup plus faible que pour les NOS constitutive (cNOS). Cette iso enzyme est présente dans le cytosol des macrophages, des hépatocytes, des polynucléaires neutrophiles, des cellules des îlots pancréatiques et des cellules endothéliales **(73)**.

1-2-2-Rôle physiologique

Des nombreuses fonctions ont été découvertes : neurotransmetteur, messager, détecteur d'oxygène, poison ou protecteur cellulaire **(74)**.

Le NO est médiateur du système cardiovasculaire et neuromédiateur du système nerveux central il maintient le tonus vasodilatateur nécessaire à la régulation de la circulation sanguine et de la pression artérielle et inhibe l'agrégation plaquettaire **(75)**.

Le NO intervient dans le système immunitaire. Il est libéré en grandes quantités par les macrophages, lors de certaines réactions immunologiques ou de défense contre les micro–organismes **(76)**.

NO régule l'expression de nombreux gènes directement en modulant l'activité des facteurs de transcription, mais aussi en agissant sur les cascades de signalisation en amont, en modifiant la stabilité des ARN messagers et leur traduction et même en influençant la maturation des produits primaires des gènes **(77)**.

NO joue un rôle complexe dans l'apoptose, la prolifération cellulaire et le développement. Il a été clairement établi que de faibles concentrations de NO peuvent empêcher l'apoptose et stimuler la prolifération cellulaire, tandis qu'une production accrue de NO peut activer le processus de mort programmée de la cellule **(78)**.

NO régule l'homéostasie du fer par l'activation ou l'inhibition de l'activité et de l'expression de plusieurs protéines impliquées dans son métabolisme (hème oxygénase, IRP**) (79)**.

2-Les cibles biologiques du stress oxydant

La plupart des composés organiques et inorganiques des cellules, notamment l'ADN, les protéines, les lipides, les acides aminés, les glucides et les métaux, sont attaqués par les radicaux libres. En raison de leur courte demi-vie, les ERO et les ERA causent des dommages oxydatifs aux molécules cellulaires et extracellulaires à proximité de leur source **(Figure 5) (80)**.

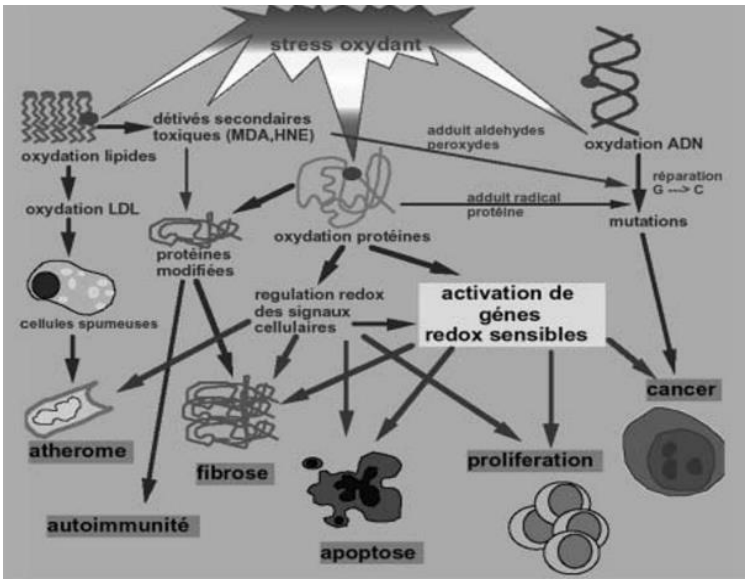


Figure 5 : Conséquences pathogènes du stress oxydant (81).

2-1--acides nucléiques

Bien que l'ADN soit la mémoire de l'ensemble de la composition biochimique d'un organisme vivant, c'est une molécule très vulnérable aux attaques des radicaux libres. Les bases oxydées, les sites abasiques, les adduitsintra-caténaires, les ruptures de brins et les ponts ADN-protéines sont les cinq principaux types de dommages oxydatifs provoqués par les OH qui peuvent être créés **(82-83)**. Il altère a la fois les base des purine et des pyrimidine et également le squelette désoxyribose **(Figure 6) (84)**.

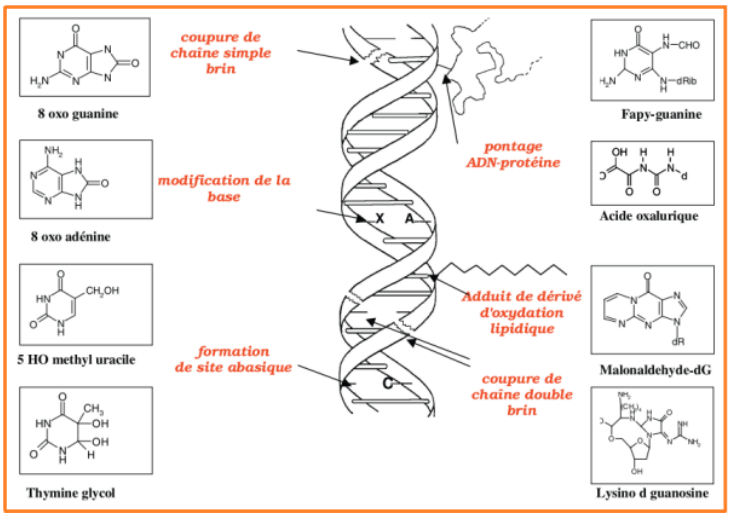


Figure 6 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (82).

2-2-Protéines et acides aminés

Les ERO peuvent réagir avec différents acides aminés des chaînes protéiques, modifiant ainsi leur fonction. Les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels s'ajoute le radical OH°, affectent la structure de la protéine, sont les plus sensibles à leur activité **(85-86)**. L'oxydation des acides aminés contenant un atome de soufre, comme la cystéine et la méthionine, par des radicaux libres entraîne la création de disulfures, ce qui conduit à l'agglomération de nombreuses molécules de protéines **(Figure 7) (86)**.

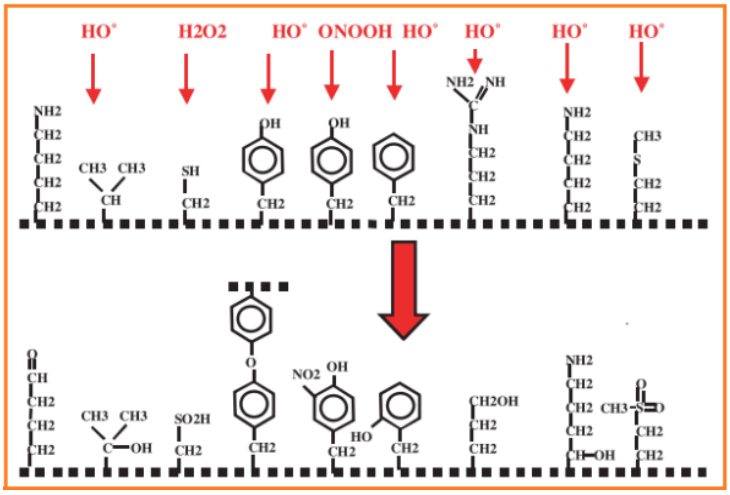


Figure 7 : Attaque radicalaire aux protéines (82).

2-3- lipides

La peroxydation lipidique induite par les ROS affecte tous les lipides contenant des acides gras polyinsaturés, quelle que soit leur source (huiles, graisses, membranes cellulaires, lipoprotéines) **(Figure 8)**.De nombreux troubles, notamment les maladies cardiovasculaires et neurologiques, sont liés à la lipoperoxydation. **(82-87).**Il perturbe la production d'ATP dans les mitochondries, mais il peut aussi provoquer l'apoptose **(88)**.

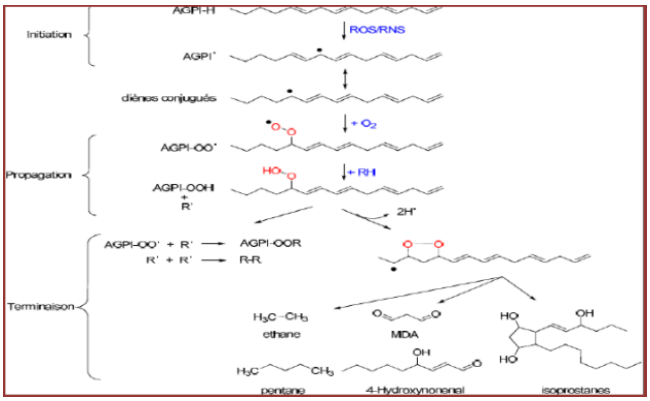


Figure 8 : Peroxydation des acides gras polyinsaturés (89).

Les dommages oxydatifs aux protéines

2-4- Oxydation des lipoprotéines

Lorsque les lipoprotéines circulantes sont attaquées par des radicaux libres, il se forme des LDL oxydées, qui sont captées par les récepteurs des macrophages. Les macrophages se transforment progressivement en cellules spumeuses car l'action de ces récepteurs n'est pas affectée par la quantité intracellulaire de cholestérol (rôle important dans les premiers stades de

l'athérosclérose) **(90-91)**. De plus, ces LDL oxydées sont immunogènes, et les complexes immunologiques qu'elles forment peuvent activer le système classique du complément, entraînant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages **(91-92)**.

2-5-Oxydation des glucides

En présence de métaux traces, le glucose peut s'oxyder et produire des cèto-aldéhydes, H2O2, et OH- **(93)**. Il existe deux voies d'oxydation du glucose, ou glycosoxydation, qui aboutissent toutes deux à des produits finaux de glycosylation (PFG) :

-En interagissant avec une protéine, l'oxydation stricto sensu du glucose en dérivés carbonylés donne le PFG.

- Glycosylation non enzymatique des protéines (ou " réaction de Maillard ") : création d'une liaison covalente entre un ose et des groupes amino libres d'une protéine, conduisant à la synthèse de la PFG après attaque par des ROS (OH° et NO3 - notamment) de cette protéine glyquée **(94)**.

3-les systèmes des défenses antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA**(95)**. Le corps dispose d'un vaste réseau d'antioxydants ou de défenses, dont les vitamines C et E. D'une part, le corps produit une multitude d'antioxydants, qui sont fréquemment fournis par notre alimentation. D'autre part, des systèmes enzymatiques extrêmement complexes assurent la réparation des dommages oxydatifs causés aux protéines et à l'ADN. En outre, certains oligo-éléments (sélénium, cuivre et zinc) fonctionnent comme cofacteurs des enzymes antioxydants **(Figure 9) (96)**.

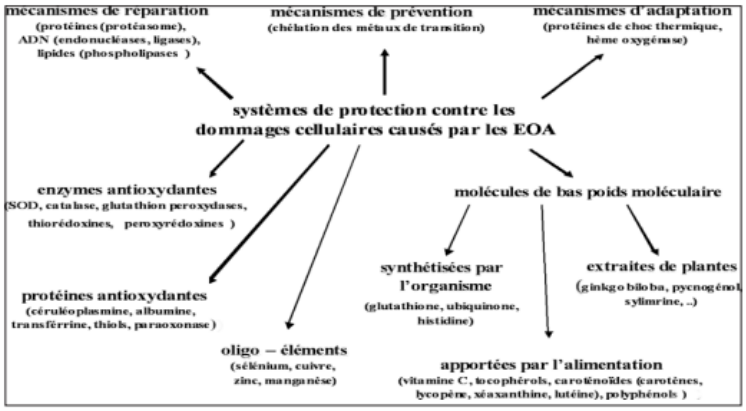


Figure 9 : Les réseaux antioxydants (96).

3-1-Les antioxydants enzymatiques

Les défenses antioxydantes enzymatiques incluent celles catalysées par les superoxyde dismutases, la catalase, le système glutathion/glutathion peroxydase(s)/glutathion réductase et le système glutarédoxine (peroxyrédoxine)/thiorédoxine/thiorédoxine réductase (**figure10) (97)**.

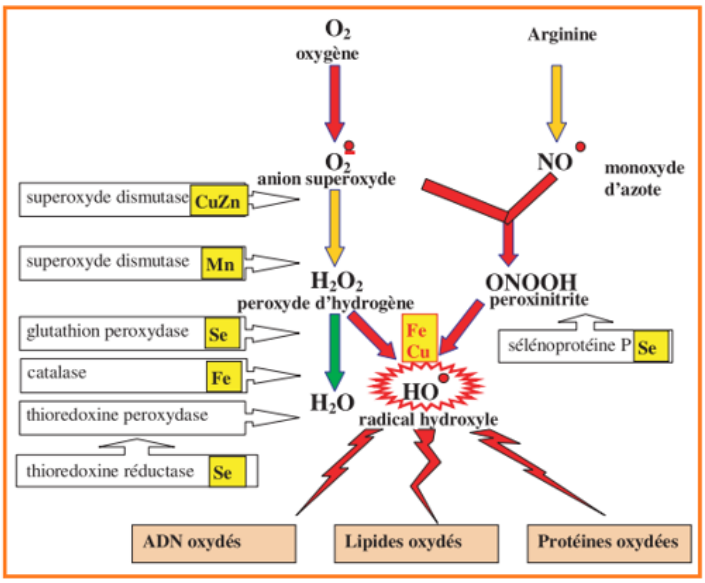


Figure 10 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (98).

3-1-1- Les catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H202 en libérant de l'oxygène et de l'eau **(99)** selon la réaction : 2 H2O2 ➟ 2 H2O + O2. La catalase peut également fonctionner comme une peroxydase en présence de niveaux modestes de peroxyde d'hydrogène, en catalysant la réaction suivante : H2O2 + RH2 ➟ 2 H2O + R, oùRH2 représente un substrat (alcool ou phénol) pouvant être oxydé par la catalase **(97)**. On les trouve principalement dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas complètement le peroxyde d'hydrogène, mais elles jouent un rôle crucial, surtout en présence d'ions ferreux, puisqu'elles permettent d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène, empêchant ainsi la réaction de Fenton de s'amplifier. Elles sont moins efficaces que les glutathion peroxydases en termes de rendement **(99)**.

3-1-2-Les superoxyde dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui constituent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif, assurent la dismutation de l'anion superoxyde $\mathbf{O_2^{\bullet-}}$ en peroxyde d'hydrogène et en oxygène **(95)** selon la réaction : $2\mathbf{O_2^{\bullet-}} + 2H^+$ ➟ H2O2 + O2 **(100)**. Trois isoenzymes ont été

identifiées chez l'homme : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par leur emplacement chromosomique, leur concentration en métal, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire **(95)**. Des niveaux élevés de peroxyde d'hydrogène inhibent la production de SOD. L'activité de la SOD est influencée par la consommation de cuivre et, dans une moindre mesure, de zinc **(99)**.

3-1-3-Les glutathion peroxydases (GPxs)

La GPx est une sélénoprotéine à cinq iso formes qui consomme son substrat spécialisé, le glutathion réduit, pour réduire les peroxydes(GSH) **(95)**. Le glutathion est un tri peptide (γ-glutamyl-cystéinyl-glycine) naturel généré par les cellules et doté d'un groupement réducteur représenté par l'activité thiol de sa cystine. En présence de peroxydes, cette fonction thiol est oxydée soit spontanément (oxydation chimique du glutathion), soit catalysée par les glutathion peroxydases [GPx1-4 chez les mammifères] (oxydation enzymatique du glutathion). 2 G-SH + ROOH G-S-S-G + ROH + H2O, où G-SH et G-S-S-G sont respectivement le glutathion réduit et oxydé, et ROOH et ROH sont respectivement un peroxyde et son alcool correspondant **(97)**. Sa fonction principale est d'éliminer les peroxydes lipidiques produits par le stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés. Lorsqu'il y a une insuffisance importante de sélénium, la GPx est comprimée, elle est donc un excellent reflet de cette carence **(95)**.

3-1-4-L'hème oxygénase (HO)

L'hème oxygénase (HO) C'est une enzyme qui décompose l'hème pour produire du fer, de la bilirubine et du monoxyde de carbone (CO), et qui possède également des caractéristiques antioxydantes et anti-inflammatoires **(101)**. Il existe trois types de HO: le HO-1qui est induite par les stimuli de stress oxydatif, le HO-2 et le HO-3qui sont exprimés de façon constitutive dans divers types de tissus, l'effet de cette enzyme dépend essentiellement de la présence de l'oxygène et de NADPH **(102)**.

3-1-5-Le système thiorédoxine

L'environnement intracellulaire est plutôt réducteur, avec des groupes thiol libres dans les protéines et peu de liaisons disulfures. La thiorédoxine est un antioxydant clé qui maintient les protéines réduites. Elle est régénérée par le NADPH grâce à l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR), qui possède un groupe sélénocystéine dans son site actif. Elle est impliquée dans la dégradation du peroxyde lipidique et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyle en acide ascorbique **(95)**.

3-2-Les antioxydants non enzymatiques

Ils comprennent une variété de substances naturellement présentes dans les aliments, comme la vitamine E et la vitamine C, ainsi que différents thiols et polyphénols. Les antioxydants peuvent également provenir de l'organisme, comme la mélatonine, le coenzyme Q et l'acide urique. Enfin, ils peuvent être de nature synthétique, utilisés comme additifs alimentaires ou même comme médicaments **(103-104)**.

3-2-1-Le glutathion et les protéines-thiols

A-Structure

Le glutathion est un tripeptide composé de trois acides aminés (acide glutamique-cystéine-glycine). C'est le thiol (-SH) le plus abondant au niveau intracellulaire (l'albumine étant l'équivalent plasmatique), où il se trouve à l'état largement réduit (GSH) **(figure11)**. Sa forme oxydée (GSSG) est présente en très faible concentration dans des conditions physiologiques. Le rapport GSH/GSSG est un bon indicateur de la peroxydation lipidique et permet de quantifier la pertinence du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et les protéines et les acides nucléiques de l'oxydation **(105)**.

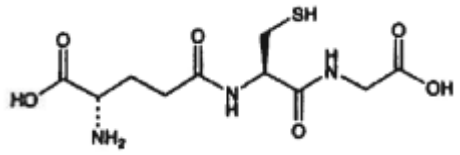


Figure 11 : Structure chimique du glutathion(106).

B-Synthèses du glutathion

La synthèses de ce peptide ce déroulé sur deux étapes, tout d'abord, une combinaison des acides aminés,cystéine (Cys) et glutamate (Glu) mène à la formation d'un composé intermédiaire le γ-Gglytamylcystéine(γ-GluCys).cette réaction est catalyser par une enzyme, la γ-glutamylcysteine synthase ou glutamate-cystéineligase. Par la suite, un troisième acide aminé, la glycine(Gly) se liera au composé intermédiaire pour former le produit final, le GSH, sous l'action dune second enzyme, la glutathion synthèse **(106-107)**. hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP) fournit l'énergie nécessaire aux deux réactions **(figure12) (107-108)**.

La γ-glutamyl transpeptidase (γ-GT) est une enzymeliée à la surface externe de certaines cellules et joue un dans la dégradation du GSH. le GSH, synthétisé dans la cellule et transporté jusqu'à la surface ou il subira un clivage, sous l'action de γ-GT, en deux composes, γ-glytamyl et le cystéinyglycine(CysGlu) en deux acides aminés libres, la Cys et le Gly,qui pénétreront ensuite dans la cellule afin de reformer le GSH,en combinaison avec le Glu **(figure12)(107-109-108)**.

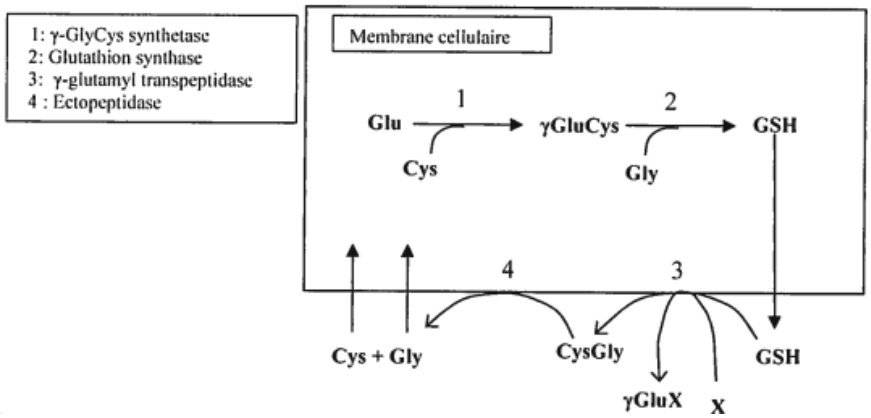


Figure12 : Métabolisme et synthèse du glutathion (107).

C-Fonctions de glutathion (GSH)

Le glutathion possède d'importantes fonctions, par contre, son implication au niveau du stress oxydatif est primordiale. En effet le GSH agit comme cofacteur pour plusieurs enzymes de détoxification comme la GPx et la glutathion-S-transférase (GST).De plus se de la GPx, le GSH peut directement agir en tant qu'antioxydant, et ce, en effectuant la détoxification du peroxyde d'hydrogène et des peroxydes lipidiques **(110-108)**.

Le GSH permet également le maintien de l'équilibre du potentiel redox de thiols/pont disulfure, aux niveaux cellulaires **(106-108)** en plus d'être chélateur d'ions cuivreux, limitant ainsi la production de radicaux libres, par les réactions de fenton **(111)**.

3-2-2-β-carotène

Le β-carotène est apporté par l'alimentation et possède plusieurs capacités : il est un précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de mettre fin à la réaction en chaîne de la peroxydation. Il protège les structures cellulaires contre les agressions oxydatives : il s'oppose à la cytotoxicité et à la génotoxicité de nombreux agents **(112)**.

3-2-3-La vitamine C

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. La vitamine C est, un excellent piégeur des EOA (HO• ou O2 •-). Elle prévient également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de l'état radical formé lorsqu'elle réagit avec les radicaux lipidiques. Elle a diverses activités, notamment l'aide au fonctionnement normal du système immunitaire, la participation à la fabrication du collagène et des globules rouges, et l'engagement dans les mécanismes du métabolisme du fer. (33)

3-2-4-La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui diffèrent des tocols par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l'α- et le γ-tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxyles (ROO•) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l'α-tocophérol est le plus abondant, il semble que le γ-tocophérol soit le plus efficace à ce niveau **(95)**.

3-2-5-Le Coenzyme Q10

Le coenzyme Q10 est un dérivé du benzoquinol avec une longue chaîne latérale isoprénique, connu sous le nom d'ubiquinone en raison de son utilisation répandue dans les cellules. La nature lipophile de cette chaîne latérale permet à la molécule d'être introduite dans les membranes et les lipoprotéines. Il s'agit d'un puissant inhibiteur de la peroxydation des lipides qui, en tandem avec la vitamine E, joue un rôle important dans la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie. La production de cet antioxydant est similaire à celle du cholestérol. L'acide mévalonique généré par la modification de l'HMG CoA (3-hydroxy-3 méthylglutaryl-CoA) par l'HMG CoA réductase est essentiel à la production de ces deux molécules. Les statines, par exemple, agissent en bloquant cette dernière enzyme, ce qui a pour conséquence involontaire de faire baisser les taux d'ubiquinone dans le plasma **(113)**.

3-2-6-L'acide urique

Chez l'homme, le principal produit final du métabolisme des purines est l'urate, qui est largement ionisé au pH physiologique et qui est un puissant capteur de radicaux (OH- , ROO- , NOO- ...). Ces réactions produisent des espèces radicalaires, qui seront réduites en conséquence (notamment par la vitamine C). Le fait qu'un produit de la réaction de l'urate avec

l'EOA, l'allantoïne, soit présent à des niveaux élevés pendant le stress oxydatif peut être utilisé pour déduire les effets antioxydants de l'urate in vivo **(95)**.

3-2-7-La bilirubine

La bilirubine est un sous-produit de la dégradation de l'hème qui est produit en grande partie par les cellules réticulo-endothéliales catabolisant l'hémoglobine. Il s'agit d'un produit chimique non hydrosoluble qui se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique de 1:1, ce qui l'empêche de pénétrer dans les organes riches en lipides comme le cerveau. La bilirubine peut piéger l'oxygène singulet et le ROO- . Par conséquent, l'albumine et les acides gras liés à l'albumine sont protégés des dommages causés par les radicaux libres **(95)**.

3-2-8-Les polyphénols

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous trois formes d'anthocyanine, de flavonoïdes, d'épicatéchine. Globalement, ce sont d'excellents piégeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre **(95)**.

3-2-9-Les oligoéléments

a- Le sélénium

Le sélénium n'est pas un anti-oxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx. Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx **(95)**.

b- Le cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine β-hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut – lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant **(95)**.

c- Le zinc

Le zinc joue un rôle de cofacteur pour de nombreux enzymes et intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydrase carbonique. Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber

les réactions de formation d'EOA induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre**(95)**.

4-Signalisation cellulaires et stress oxydant

Un grand nombre de fonctions physiologiques sont sous le contrôle des ERO et de leurs effets activateurs/régulateurs dans les voies de signalisation de nombreux ligands peuvent être à l'origine d'une production d'ERO : des facteurs de croissance comme le PDGF (platelet-derived growth factor) ou l'EGF (epidermal growth factor), des cytokines telles que l'INFγ (interféron) ou le TNF α (tumor necrosis factor α) et des peptides comme l'angiotensine II. Ces ligands se fixent à leurs récepteurs spécifiques (récepteurs des cytokines, récepteurs à activité tyrosine kinase, sérine/ thréonine kinase, récepteurs couplés aux protéines G ou à des canaux ioniques) et induisent des ERO qui participent alors à la transduction et à l'amplification du signal. On parle de signalisation rédox : les ERO induites peuvent activer des récepteurs par phosphorylation, inhiber des phosphatases amplifiant ainsi les cascades de signalisation, activer directement des kinases (MAPK ou mitogen activated protein kinase, PKC ou protéine kinase C) et des facteurs de transcription (AP-1, NF-kB) ou déclencher une augmentation du calcium cytosolique. Les ERO amplifient et/ou induisent les signaux intracellulaires par modification de l'équilibre rédox intracellulaire (équilibre GSH/ GSSG et thiorédoxine capable de moduler le signal rédox intracellulaire) et par modification oxydative des protéines **(114)**.

5-Conséquences du stress oxydant

Dans les systèmes vivants, la production des radicaux libres oxygénés se fait de manière continue. Toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont particulièrement affectées par les radicaux libres, entrainant la très grande réactivité de ces espèces chimiques vis -à-vis des lipides, des protéines et de I'ADN. C'est pourquoi les effets des radicaux libres sont retrouvés dans tout l'organisme et dans des pathologies très variées **(99)**.

5-1-Théorie radicalaire du vieillissement

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale de l'ensemble des fonctions physiologiques et d'une sensibilité plus importante vis-à-vis de certaines maladies. La théorie radicalaire justifie cette altération par une accumulation de molécules oxydées. Cette oxydation a pour conséquence sur l'organisme l'apparition de mutations, de carbonylation des protéines et l'oxydation des lipides **(115)**. Pour étayer cette théorie, de nombreux marqueurs biologiques du stress oxydant ont été observés au cours du vieillissement (8-oxo-guanine, dialdéhyde malonique, isoprostanes) **(116-117)**. Le transcriptome, ensemble des ARN issus de la

transcription du génome, va permettre l'adaptation au long cours en réponse à un état cellulaire pro-oxydant. Au cours du vieillissement, le transcriptome va provoquer l'induction de plusieurs gènes codants pour des enzymes antioxydantes et la répression de gènes de la chaine respiratoire. Les mécanismes de réparation cellulaire tels que les protéasomes, les protéines chaperons, diverses enzymes mais également les systèmes de réparation de l'ADN, sont moins performants avec l'âge ce qui contribue à la fixation et à l'accumulation d'anomalies **(118-119)**.

5-2-Les pathologies chroniques liée à un excès d'EROs

5-2-1-Diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulinodépendant est une maladie se caractérisant par un taux trop élevé de glucose dans le sang. Son origine est métabolique, elle provient de la modification progressive et insidieuse du métabolisme glucidique.

Le diabète engendre des hyperglycémies qui vont être perçues par l'organisme comme un stress oxydant **(120)**. Ainsi, plus la glycémie est élevée et prolongée, plus le stress oxydatif est intense et donc plus l'effet sera néfaste pour l'organisme. Cela va provoquer une augmentation de la dégradation du glucose qui, par accroissement du potentiel de membrane mitochondriale, va augmenter la synthèse de radicaux libres. Outre ce phénomène, il va se produire une inhibition de la glycéraldéhyde-3- phosphate des hydrogénase responsable de la diminution de formation du cofacteur réduit NADPH,H+ essentiel à la régulation de l'homéostase **(121)**.

5-2-2-L'athérosclérose

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique et multifactorielle **(122)** définie par un remaniement de l'intimades grosses et moyennes artères conduisant à la formation de plaques athéromateuses **(123)**. La théorie oxydative de l'athérosclérose décrit l'importance des ERO dans la formation de ces plaques. En effet, les LDL (low density lipoprotein) circulantes diffusent dans la paroi vasculaire où elles vont subir des modifications oxydatives. Ces LDL oxydées perturbent alors les fonctions des cellules endothéliales, des monocytes/macrophages infiltrés et résidents et des cellules musculaires lisses **(124)**. De plus, de nombreux facteurs de risque de l'athérosclérose sont des pro-oxydants, augmentant la production d'ERO par les cellules et créant ainsi un environnement oxydant dans la paroi artérielle**(114)**.

5-3-Maladies neurodégénératives

Le stress oxydant intervient dans le processus de mort cellulaire que l'on va retrouver dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou la maladie de Charcot **(125)**.

La maladie d'Alzheimer entraine la perte des fonctions mentales et plus particulièrement de la mémoire jusqu'à la démence. Il s'agit d'une maladie incurable, sa survenue est progressif et irréversible. La protéine β amyloïde semble être un acteur important de la survenue de cette maladie, en effet on la retrouve dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. Elle possède un effet toxique sur les cellules neuronales **(126)**. Bien que le lien de cause à effet entre stress oxydant et la maladie d'Alzheimer ne soit pas encore bien élucidé, la présence de protéines β amyloïde est toujours associée à la présence de ERO. Il a été démontré que le stress oxydant favorise l'agrégation de béta amyloïde qui lui-même va provoquer un nouveau stress oxydatif par dysfonctionnement au niveau du métabolisme neuronal et des états de certains métaux **(125)**.

Chapitre III :

Le Diclofénac

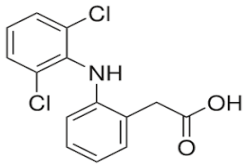
III - Le Diclofénac

1-Définition

Le Diclofénac est un médicament anti-inflammatoire très répandu et utilisé dans le monde entier en médecine humaine. Il appartient à la famille des médicaments non stéroïdiens (AINS). Il possède des propriétés anti-inflammatoires (contre les inflammations), antipyrétiques (contre la fièvre) et antalgiques (contre les douleurs) **(127)**. Disponible sous plusieurs formes : orale, injectable, rectale, cutanée, collyre et à différentes doses 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg **(128)**.

2-Propriétés physicochimiques

Tableau II : Propriétés physicochimiques du Diclofénac sodique (129).

DCI	**Diclofénac**
IUPAC	[2-[(2,6-dichlorophényl)amino]phényl] acétate de sodium.
Formule chimique brute	C14H11Cl2NO2
Pka	4,0 ± 0,2 à 25°C dans l'eau
Formule chimique développée	
Masse molaire	318,1 g /mole
Point de fusion	280°c, avec décomposition
Solubilité pour une température de 15°C à 25°C	- Facilement soluble dans le méthanol (1 à 10 ml / 1g du Diclofénac) - Soluble dans l'éthanol à 96% (10 à 30 ml / 1g du Diclofénac) - Assez soluble dans l'eau (30 à 100 ml / 1g du Diclofénac) - Peu soluble dans l'acétone (100 à 1000 ml / 1g du Diclofénac)
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou faiblement jaunâtre, faiblement hygroscopique.

Le Diclofénac selon le système de classification des produits biopharmaceutiques (BCS) telle que défini par la Food and Drug Administration (FDA) appartient à la CLASSE II, caractérisé par une haute perméabilité et une faible solubilité **(130)**.

3- Propriétés pharmacocinétiques

3-1- Absorption

Le Diclofénac sous forme de comprimé gastro-résistant est complètement absorbé après son passage au niveau de l'estomac. Bien que l'absorption soit rapide, le début de celle-ci peut être retardé par l'enveloppe gastro-résistante du comprimé.

Les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes environ 2 heures après l'administration et se situent autour de 1,5 mg/ml pour un comprimé à 50 mg. La quantité absorbée est proportionnelle (de manière linéaire) à la dose administrée.

L'absorption d'un comprimé dans l'estomac est plus lente lorsqu'il est administré au cours ou après un repas que lorsqu'il est administré avant un repas. Cependant, la quantité de Diclofénac absorbée demeure la même dans ces 2 cas.

Lors du premier passage hépatique (effet de premier passage), 50 % de la dose de Diclofénac sont métabolisés.

L'aire sous la courbe (AUC) qui suit l'administration par voie orale ou rectale correspond à environ la moitié de celle obtenue après l'administration d'une dose équivalente par voie intraveineuse ou intramusculaire.

L'administration de doses répétées ne modifie pas les données de pharmacocinétique. Aucune accumulation du produit n'est attendue si les délais d'attente entre les différentes prises sont respectés.

Chez les enfants recevant des doses équivalentes (en mg/kg de poids corporel) les concentrations plasmatiques atteintes sont semblables à celles obtenues chez l'adulte **(131)**.

3-2- Distribution

Le Diclofénac est fortement lié aux protéines plasmatiques (> 99 %), majoritairement à l'albumine (99,4 %). Le calcul du volume de distribution apparent donne des valeurs se situant entre 0,12 et 0,17 L/kg.

Le Diclofénac diffuse dans le liquide synovial où les concentrations maximales sont atteintes 2 à 4 heures après le pic plasmatique. La demi-vie apparente d'élimination du liquide synovial est de 3 à 6 heures. Les concentrations de substance active dans le liquide synovial sont plus élevées que les concentrations plasmatiques déjà deux heures après le pic plasmatique ; elles le restent pendant une période pouvant aller jusqu'à 12 h.

Une faible concentration de Diclofénac (100 ng/ml) a été détectée une fois dans le lait maternel d'une femme en période d'allaitement. La dose ingérée par l'enfant nourri avec ce lait maternel a été estimée à une dose équivalente à 0,03 mg/kg/jour **(131)**.

3-3- Biotransformation

Le Diclofénac est métabolisé rapidement et pratiquement totalement, essentiellement au niveau du foie. La biotransformation du Diclofénac s'effectue en partie par glucuroconjugaison de la molécule inchangée mais surtout par hydroxylation et par méthoxylation simples et multiples entraînant la formation de différents métabolites phénoliques (3'-hydroxy, 4'-hydroxy, 5-hydroxy, 4',5-dihydroxy et 3'-hydroxy-4'-méthoxy Diclofénac) qui sont éliminés pour la plupart sous forme glycuroconjuguée. Deux de ces métabolites phénoliques sont pharmacologiquement actifs mais à un degré nettement moindre que le Diclofénac **(131)**.

3-4- Élimination

La demi-vie d'élimination plasmatique du Diclofénac inchangé est d'environ 1 à 2 heures. La clairance plasmatique totale est d'environ 263 ± 56 ml/minute (valeur moyenne ± écart-type). Quatre des métabolites, dont les deux biologiquement actifs, ont également une demi-vie plasmatique brève de 1 à 3 heures. Un autre métabolite, le 3'-hydroxy-4'-méthoxy Diclofénac, a en revanche une demi-vie nettement plus longue mais il est pratiquement inactif.

L'excrétion est à la fois urinaire et fécale.

Environ 60 % de la quantité administrée est éliminée dans les urines sous forme de conjugué glucuronide de la molécule native et de métabolites, dont la plupart sont convertis en conjugués glucuronides.

Moins de 1 % du principe actif est éliminé inchangé dans les urines. Le reste est éliminé sous forme de métabolites, par voie biliaire dans les fèces **(131)**.

4. Mécanisme d'action du Diclofénac et ses effets pharmacologiques

Le mécanisme d'action commun de tous les AINS est la diminution de la prostaglandine par l'inhibition de la cyclo-oxygénase (COX) **(Figure13)**. La COX est une protéine qui intervient dans une cascade de réaction aboutissant à la formation de substances impliquées dans :

- l'inflammation
- la fièvre
- l'agrégation des plaquettes sanguines

- la protection de la muqueuse de l'estomac **(132)**.

Les prostaglandines sensibilisent les récepteurs de la douleur, et l'inhibition de leur synthèse est responsable des actions analgésiques et antipyrétiques du Diclofénac. Les effets antipyrétiques pourraient être dus à une action sur l'hypothalamus. Entraient :

- Une dilatation périphérique

- Une augmentation du flux sanguine cutané

- Une dissipation thermique altérieure **(133)**.

L'inhibition des COX réduit les niveaux de prostaglandine dans l'épithélium de l'estomac, le rendant plus sensible à la corrosion par l'acidité gastrique. Sachant que le Diclofénac a un biais mineur pour bloquer la COX2, ce qui le rend moins agressif que l'Aspirine et l'Indométacine, Le Diclofénac semble être le seul AINS qui inhibe la lipo-oxygénase (LOX), diminuant ainsi la production de leucotriènes. (médiateurs pro-inflammatoires).

Une activité sur la phospholipase A2 est également suspectée d'être ajoutée à la liste des mécanismes à l'origine des effets antipyrétiques, analgésiques et anti-inflammatoires **(134)**.

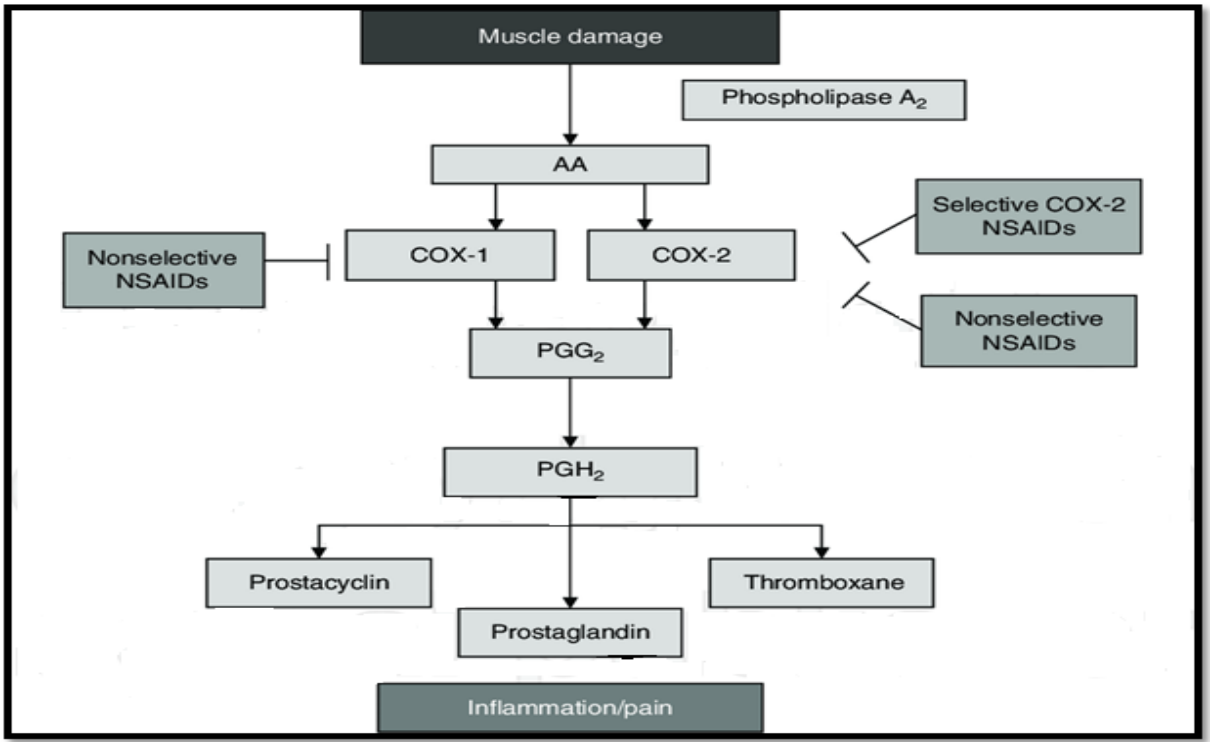


Figure 13 : Les vois biochimiques dans le processus de l'inflammation et les points cibles des AINS (135).

Matériels et méthodes

Matériels et Méthodes

Les études expérimentales réalisées sur les animaux fournis par l'institut Pasteur d'Alger. Les animaux sont deux par cage avec un libre accès à l'eau de boisson et à la nourriture. Ils sont soumis à un cycle lumière/obscurité de 12h/12h. La température est maintenue à 21°C ± 3°C dans les pièces d'hébergement.

Les animaux suivent une phase d'acclimatation d'une semaine avant de débuter l'expérimentation proprement dite.

Modèle

Les études ont été réalisées sur 60 rats (Albinos Wistar) de sexe male âgés de 10 semaines, avec un poids de moyenne (250±10g).

Les animaux sont répartis en six groupes (n = 6), chacun recevant une concentration différente en paracétamol et diclofénac (Para/Dicf) mg/kg par gavage oral d'une période de 7 jours.La nourriture a été standard, l'eau a été renouvelée quotidiennement.

Les lots sont répartis comme suit :

Les Lots	**Dose (PARA/DICF)mg/kg**
Lot 1	Témoin (0+0)
Lot 2	(100+0)
Lot 3	(15+3)
Lot 4	(100+3)
Lot 5	(200+3)
Lot 6	(400+3)

72 heures après le traitement, un prélèvement sanguin a été effectué pour chaque lot de rat afin de doser les paramètres biochimiques et enzymatiques du glutathion.

Ensuite, les rats ont été décapités, le foie, les reins, les intestins et la rate ont été prélevés, lavés avec 0,1 M de tampon phosphate (pH 7,4), pesés pour le dosage du glutathion tissulaire **(136)**.

Méthodes de dosage

Le glucose a été dosé par un glucose-mètre (Accu-Check Aviva fourni par Roche Diagnostics).

Les paramètres biochimiques : cholestérol, créatinine, ASAT, ALAT, phosphatases alcalines (PAL), bilirubine directe (D) et totale (T) ont été dosés sur analyseur Roche Diagnostics.

La GPx et la GR ont été dosés par la méthode de Randox laboratoires. Le glutathion dosé par spectrophotométrie selon la méthode de Weckbeker et Cory. Les protéines ont été dosées par la méthode de Bradford **(136)**.

Résultats
Et
Discussion

Résultats

Le dosage des paramètres biochimiques a révélé un déséquilibre métabolique.

Le traitement des rats avec une dose de paracétamol associe au diclofénac (15+3) montres une stabilité et aucun changement des paramètres biochimiques par rapport au témoin. Par contre l'administration de la concentration élevée du paracétamol sans l'association du diclofénac montre une augmentation au glucose, bilirubine D, bilirubine T, ALAT, ASAT et PAL. La dose du paracétamol donné est 100 et elle est considérée comme une dose toxique.

Le traitement des rats par diclofénac associe au paracétamol d'une dose (100+3) montre aucun changement aux niveaux des paramètres biochimiques par apport au témoin.

L'administration du diclofénac avec le paracétamol par les lots (4 et 5) (200+3 et 400+3) a révélé une variation importante de tous les paramètres dosés.

Tableau III : Concentrations des paramètres biochimiques chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne ± SD de 10 rats).

Paramètres	Doses (PARA + DiCF) mg/kg					
	Témoin (0 + 0)	(100 + 0)	(15 + 3)	(100 + 3)	(200 + 3)	(400 + 3)
Glucose (g/L)	1,56 ± 0,14	1,722 ± 0,16*	1,56 ± 0,29	1,69 ± 0,23	1,77 ± 0,14*	1,95 ± 0,34**
Cholestérol (g/L)	0,820 ± 0,07	0,779 ± 0,15	0,749 ± 0,08	0,740 ± 0,09	0,726 ± 0,04*	0,703 ± 0,07*
Créatinine (mg/L)	4,14 ± 0,51	4,50 ± 0,76	4,36 ± 0,62	4,52 ± 0,63	4,79 ± 0,71*	4,95 ± 0,53**
Bilirubine D (mg/L)	0,63 ± 0,24	1,12 ± 0,47*	0,83 ± 0,21	1,06 ± 0,46*	1,31 ± 0,70**	1,37 ± 0,33***
Bilirubine T (mg/L)	1,29 ± 0,26	1,65 ± 0,42*	1,49 ± 0,42	1,60 ± 0,44	1,83 ± 0,52**	1,96 ± 0,59***
ALAT (UI/L)	59,7 ± 14,8	71,5 ± 11,3*	60,1 ± 18,3	65,3 ± 13,3	115,5 ± 14,3***	140,1 ± 26,6***
ASAT (UI/L)	153,2 ± 26,9	245,2 ± 73,0*	163,2 ± 37,1	166,9 ± 20,0	313,5 ± 75,6***	425 ± 10,7***
PAL (UI/L)	172,2 ± 37,0	212,4 ± 45,3*	173,8 ± 43,6	193,7 ± 32,0	234,9 ± 43,3**	244,0 ± 59,4**

Le glutathion tissulaire a été dosé à partir des organes prélevés les résultats ont montré une diminution dans sa concentration lors du traitement avec une dose toxique au paracétamol.

Dans les lots (15+3) et (100+3) montré une stabilité et aucun changement de concentrations du GSH. Par contre on a observé dans les reste lots (100+0) et (200+3) et (400+3) une diminution significative des concentrations du glutathion tissulaire par rapport au lot témoin **(figure 14).**

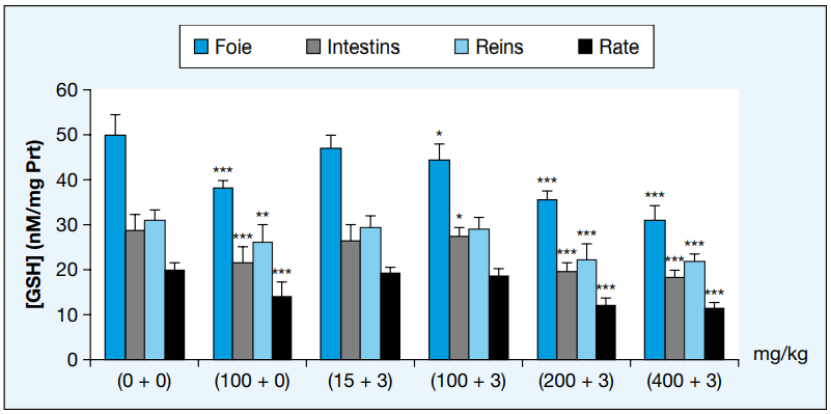


Figure 14 : Taux de glutathion (nM/mg protide) chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne ± SD de 10 rats).* (P < 0,05) ; ** (P < 0,01) ; *** (P < 0,001) : différence significative par rapport aux témoins.

Le résultat de dosage des enzymes d'oxydo-réduction du system de glutathion (GPx/GR) a montré un équilibre dans les lots (15+3) et (100+3) par rapport au lot témoin, d'autre part dans les lots (100+0) et (200+3) et (400+3) qui sont présenté les doses toxiques de paracétamol ont conduit à augmentation de GPx et GR comparativement au groupe contrôle **(figure 15-figure 16) (136)**.

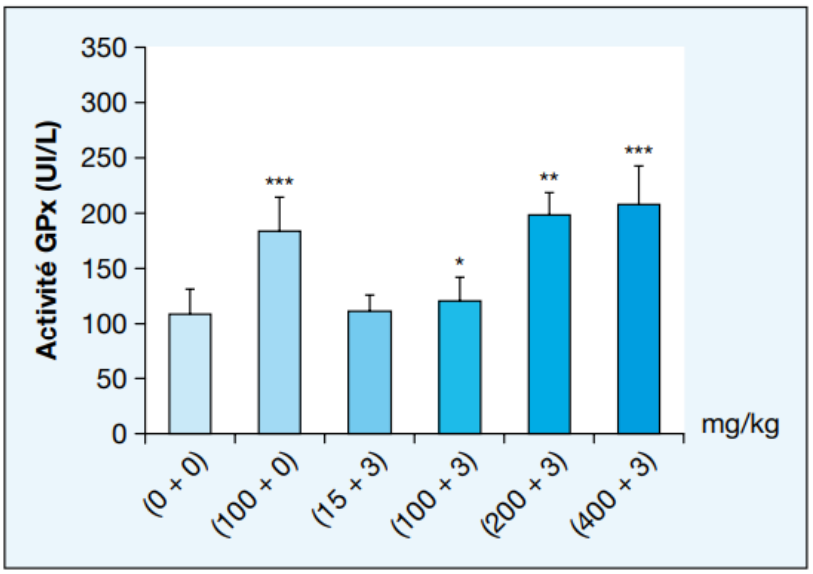


Figure 15 : Activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx (UI/L) chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement

(chaque valeur représente la moyenne ± SD de 10 rats). * (P < 0,05) ; ** (P < 0,01) ; *** (P < 0,001) : différence significative par rapport aux témoins.

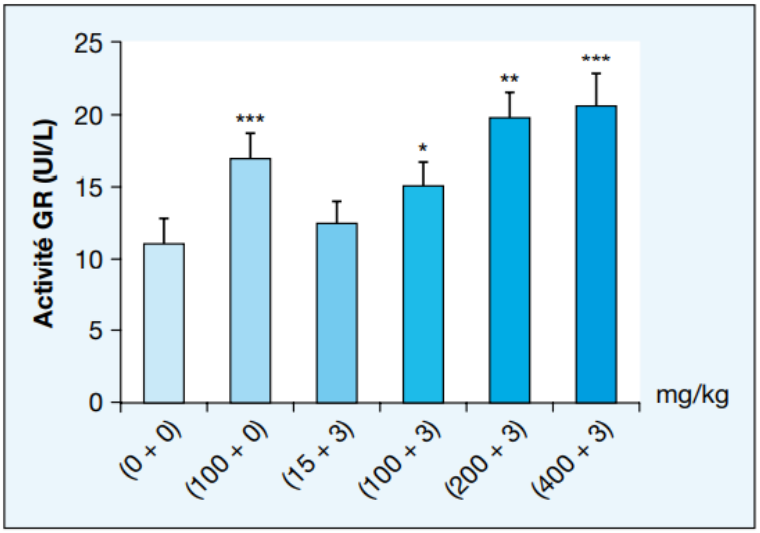


Figure 16 : Activité enzymatique de la glutathion réductase GR (U/ L) chez les rats témoins (0 + 0) et traités avec des doses associées PARA + DiCF (100 + 0 ; 15 + 3 ; 100 + 3 ; 200 + 3 ; 400 + 3) mg/kg après 7 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne ± SD de 10 rats). * (P < 0,05) ; ** (P < 0,01) ; *** (P < 0,001) : différence significative par rapport aux témoins.

Discussion

Le paracétamol et le diclofénac sont des analgésique fréquemment prescrite en association, les résultats de cette expérience montré une élévation des paramètres sanguin dans les lots traité par un dose toxique de paracétamol , une hyperglycémie a été observé due à un dysfonctionnement métabolique sous l'effet de métabolite toxique (NAPQI) **(137).** L'augmentation des transaminases reflet une hépato toxicité **(138).** L'évaluation de bilirubine induit par l'oxydation de l'hémoglobine par le NAPQI **(139).** L'association du diclofénac (100+3) a réduit l'intensité de la toxicité qui à reflétée par les changements de la valeur de paramètre biochimique qui indique stabilisation de la membrane plasmique et la réduction de la liaison covalente des métabolites toxique avec diminution de l'absorption du paracétamol **(136)** , cependant les résultats des reste lots (200et400) mg/kg ont dévoilé l'existence d'une grave toxicité qui reflète par l'augmentation des ces paramètre donc le diclofénac n'a pas un effet protecteur à ce niveau .

Les résultats du taux de glutathion (GSH) dans le lot qui reçoit un dose toxique de paracétamol seulement (100+0) montré une diminution dans tous les organes par rapport au lot témoins à cause de la peroxydation des lipides. La combinaison avec le diclofénac a réduit la déplétion du GSH au niveau du lot traité par 100mg/kg de paracétamol ces résultats montré l'effet du diclofénac sur la régénération du glutathion **(140).** Dans les doses (200 et 400) on a une diminution qui a été expliquée par l'élimination de ces organes des différents métabolites toxiques **(141-142).**

Concernant les enzymes clés du système anti-oxydant (GR et GPx) sont augmenté dans les différents lots à doses toxique signifié que ces dernière à un rôle détoxifient **(143).** Cette enzyme est connue par sa capacité à régénérer le GSH afin de maintenir le rapport (GSH/GSSG) normal. L'augmentation de GPx est liée au stress oxydatif induit par NAPQI, son action est la réduction des radicaux libre **(144).** À la combinaison avec le diclofénac en a trouvé une diminution de ces enzymes qui expliquée par la capacité du diclofénac à empêcher l'accumulation des métabolites toxique du paracétamol **(136)**

Conclusion

Conclusion

Le diclofénac possède un effet protecteur contre le stress oxydatif causé par accumulation du métabolite toxique du paracétamol. La perturbation du métabolisme biochimique et épuisement du système enzymatique de détoxification du glutathion ont été utilisés pour déterminer la toxicité. L'association (PARA + DiCF) a réduit la toxicité en augmentant le rendement du GSH par régénération et par conséquent, la fonction normale de la GPx et de la GR. Cela a augmenté la capacité de la cellule à piéger les radicaux libres, entraînant affaiblissement de leurs liaisons covalentes avec les protéines membranaires. La cytolyse cellulaire a donc probablement été affaiblie, ce qui a entraîné une diminution des concentrations des marqueurs biochimiques. On retrouve donc l'action protectrice du diclofénac, qui pourrait être associée à une réduction du stress oxydatif. L'association de ces deux médicaments semble avoir un avantage, ce qui rend leur association favorable. Il serait judicieux de poursuivre cette étude par un examen plus approfondi des mécanismes de défense contre les radicaux libres en mesurant d'autres marqueurs du stress oxydatif (rapport GSH/GSSG, SOD, catalase, vitamine C, etc.). Il serait également utile de pouvoir mesurer les composés conjugués du NAPQI et des protéines cellulaires afin de bien comprendre la toxicité du paracétamol.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

(1) Amar, P. J., Schiff, E. R. (2007). Acetaminophen safety and hepatotoxicity–where do we go from here? Expert opinion on drug safety, 6(4), 341-355.

(2) **McGill, M. R., Jaeschke, H.** (2013). Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. Pharmaceutical Research, 30(9), 2174–87.

(3) Katrin Faber, Christine Rauber-Lüthy, Hugo Kupfer Schmidt, Alessandro Ceschi (2010) - Intoxication aiguë au paracétamol Clinique, diagnostic et traitement ; SchweizerischesToxikologisches Informationszentrum, Zürich ; Forum Med Suisse 10(38):647-651

(4) B MEGARBANE. (2016). Intoxication par le paracétamol : mécanismes de toxicité, facteurs prédictifs et modalités de prise en charge.- Réanimation médicale et toxicologique, hôpital Lariboisière, université Paris-Diderot, Inserm U1144, p11. 54e Congrès de la Société de toxicologie clinique — Nancy p240.

(5) Current Medicinal Chemistry (2005). Toxicity and oxidative stress. Volume 12, Number 10:1161-1208(48) Metals.

(6) Droge W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. PhysiolRev. 82: 47-95.

(7) Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

(8) Driad, Y. (2009). Stabilité du paracétamol: application à un sachet produit en industrie pharmaceutique (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

(9) Européenne, P. (2008). 6ème édition, conseil d4 Europe.

(10) Wittebole, X., & Hantson, P. (2002). Influence des relations toxicocinétiques-toxicodynamiques sur la prise en charge des patients intoxiqués. Réanimation, 11(7), 533-539.

(11) Heading, R. C., Nimmo, J., Prescott, L. F., & Tothill, P. (1973). The dependence of paracétamol absorption on the rate of gastric emptying. British journal of pharmacology, 47(2), 415.

(12) Prescott, L. F. (1983). Paracetamol overdosage. Drugs, 25(3), 290-314.

(13) Derlange, S. (2004). L'automédication de la personne âgée vue par le pharmacien d'officine: enquête auprès de 10 pharmaciens d'officine de l'Hérault.

(14) Bannwarth, B., Péhourcq, F. (2003). Pharmacological rationale for the clinical use of paracetamol: pharmacokinetic and pharmacodynamic issues. Drugs, 63, 5-13.

(15) Depré, M., Van Hecken, A., Verbesselt, R., Tjandra-Maga, T. B., Gerin, M., De Schepper, P. J. (1992). Tolerance and pharmacokinetics of propacetamol, a paracetamol formulation for intravenous use. Fundamental & clinical pharmacology, 6(6), 259-262.

(16) Rawlins, M. D., Henderson, D. B., Hijab, A. R. (1977). Pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) after intravenous and oral administration. European journal of clinical pharmacology, 11(4), 283-286.

(17) Tanaka, E. (1998). In vivo age-related changes in hepatic drug-oxidizing capacity in humans. Journal of clinical pharmacy and therapeutics, 23(4), 247-255.

(18) Dangoumau, J. (2006). Pharmacologie Générale. Edition2006. Département de pharmacologie-Université Victor Segalen Bordeaux2, 207-215.

(19) Notarianni, L. J., Oldham, H. G., Bennett, P. N. (1987). Passage of paracetamol into breast milk and its subsequent metabolism by the neonate. British journal of clinical pharmacology, 24(1), 63-67.

(20) Cardot, J. M., Aiache, J. M., Renoux, R., Kantelip, J. P. (1985). Corrélation entre les taux salivaires et les taux plasmatiques de paracétamol. Intérêt pour les études de biodisponibilité. STP pharma, 1(2), 114-120.

(21) Louvet, A., Boitard, J., Dharancy, S., Duriez, A., Deltenre, P., Paris, J. C., Mathurin, P. (2006). La mésaventure thérapeutique du paracétamol chez le buveur excessif. Gastroentérologie clinique et biologique, 30(5), 769-774.

(22) Faber, K., RauberLüthy, C., Kupferschmidt, H., Ceschi, A. (2010, September). Intoxication aiguë au paracétamol. In Forum Médical Suisse, 38(10), 647-651.

(23) Hodgman, M. J., Garrard, A. R. (2012). A review of acetaminophen poisoning. Critical care clinics, 28(4), 499-516.

(24) Prescott, L. F. (1980). Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. British journal of clinical pharmacology, 10(S2), 291S-298S.

(25) Bateman, D. N., Vale, A. (2016). Paracetamol (acetaminophen). Medicine, 44(3), 190-192.

(26) Tremblay, P. Y. (2011). Mécanismes d'action et de toxicité de l'acétaminophène. Bull Info Toxicol, 21(1).

(27) Manyike, P. T., Kharasch, E. D., Kalhorn, T. F., Slattery, J. T. (2000). Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 67(3), 275-282.

(28) Descotes, J., Payen, C., Pulce, C., Testud, F., Vial, T. (1998). VIGI. Rev Méd Int, 19, 262-264.

(29) Bidault, M. (2011). Prise en charge des intoxications au paracétamol: étude rétrospective sur trois ans dans le service des urgences adultes du CHU de Limoges (Doctoral dissertation, [Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Médecine]. Université de Limoges, faculté de médecine).

(30) Lumann H., Mohr K. (2003). Atlas de poche de pharmacologie. – 3ème éd. - Paris : Médecine Sciences Publications,. 381p.

(31) Jin, F., Wan, C., Li, W., Yao, L., Zhao, H., Zou, Y., Huang, W. (2017). Formononetin protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity through enhanced NRF2 activity. PloS one, 12(2), e0170900.

(32) Louvet, A., Cannesson, A., Colin, M., Mathurin, P., Dharancy, S. (2010). Paracétamol: risque hépatique (dose thérapeutique et surdosage). Hépato-Gastro & Oncologie Digestive, 17(5), 437-443.

(33) Calop, J., Aulagner, G., Fernandez, C., Limat, S. (2012). Pharmacie clinique et thérapeutique. Elsevier Health Sciences.

(34) Burns M.J., Friedman S.L. et al. (consulté le 23 fevrier2011). Acetaminophen poisoning in adults: pathophysiology, presentation and diagnosis. [En ligne]. Disponible sur www.uptodate.com.

(35) Sweetman, S. C. (Ed.). (2009). Martindale: the complete drug reference (Vol. 3709). London: Pharmaceutical press.

(36) Jones, A. L., Dargan, P. I. (2008). Toxicologie d'urgence.

(37) Hinson, J. A., Roberts, D. W., & James, L. P. (2010). Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. In Adverse drug reactions (pp. 369-405). Springer, Berlin, Heidelberg.

(38) Mégarbane, B., Deye, N., Baud, F. (2007). Foie toxique: mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques. Réanimation, 16(7-8), 632-642.

(39) Hengy, B., Hayi-Slayman, D., Page, M., Christin, F., Baillon, J. J., Ber, C. E.Rimmele, T. (2009). Acute renal failure after acetaminophen poisoning: report of three cases. Canadian journal of anaesthesia= Journal canadien d'anesthesie, 56(10), 770-774.

(40) Knell, A. J. (1975). Risk of hepatic coma in paracetamol poisoning. Lancet (London, England), 2(7943), 1039.

(41) Terneus, M. V., Brown, J. M., Carpenter, A. B., Valentovic, M. A. (2008). Comparison of S-adenosyl-L-methionine (SAMe) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. Toxicology, 244(1), 25-34.

(42) COMITE DE COORDINATION DE TOXICOVIGILANCE - Définition des critères de gravité d'une intoxication médicamenteuse.- Paris : Comité De Coordination De Toxicovigilance. 2008. 13p

(43) MEGARBANE B., DONETTI L., BLANC T., et al. 2006 - Intoxications graves par médicaments et substances illicites en réanimation. - Réanimation. 15, p.332-342

(44) MEGARBANE B., DEYE N., BAUD F. 2007 – Foie toxique : mécanismes lésionnels et thérapeutiques pharmacologiques spécifiques.- *Réanimation*. 16, p. 632-642

(45) BISMUTH C, 1998. - *Toxicologie clinique*. - 5ème éd. - Paris : Médecine Sciences Flammarion, 1092p.

(46) VETMED [23/09/14] - *What is the mecanism of acetaminophen toxicity?* [En ligne].- AdresseURL:http://www.vetmed.vt.edu/education/Curriculum/VM8304/vet 20pathology/CASES/CELLINJURY2/PAGE3-2.htm

(47) ZETLAOUI P., LENOBLE M, 2004. - *Intoxications aux urgences*.- Paris : Elsevier, 266p.

(48) Christelle Monteil, Paul Mulder, 2004 Christian Thuillez Médecine thérapeutique Cardiologie 2 (2), 78-85,

(49) Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In Annales pharmaceutiques françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson

(50) Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits.

(51) Vautrin, D. (2005) Une peau zéro défaut : le guide pratique pour conserver une belle peau à tout âge. Alpen Editions s.a.m.

(52) Bonnefont- Rousselot D., Therond P .et Delattre J., 2003. Radicaux libres et antioxydants .Ed :Flammarion Médecine-Sciences pp,59-81.

(53) Valko, M, et al. (2007). « Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease », In Biochem Cell Biol, n°39, p. 44-84

(54) Wu, Z, et al. (2003). «Mechanisms controllingmitochondrial biogenesis and respiration through the thermogeniccoactivator PGC-1. Yu BP». Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction, n°98, p. 115-124.Xu, G.H (2009). « Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of Thujaorientalis », ArchPharmRes, vol. 32, n°2, p. 275-82.

(55) HOCINE, F, M. GORINE, M, A. (2017) Évaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/anti oxydant chez les ouvriers exposes aux fumées de soudage .mémoire de master. Université ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN -

(56) Patrick, L. (2008) Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. John LibbeyEurotext.

(57) Desassis, C. et Labousset-Piquet, H. (2012) Biologie fondamentale et génétique. Elsevier Masson.

(58) Lucas, L. (2007) Biologie oxydative et implications cliniques du peroxynitrite, Revue Médicale Suisse.

(59) Janeway, C.Murphy, K. Travers, P. et Walport, M. (2009) Immunobiologie. De Boeck Supérieur.

(60)Cai H, Harrison D. (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. Circ Re; 87(10): 840-844.

(61) Hu Y, Block G, Norkus E (2006). Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. Am J Clin Nutr; 84: 70-76.

(62) Palot A, Kadouch C, Ercoli J (2008). Composés organiques volatils intérieurs : concentrations, sources, facteurs de variabilité, Revue des Maladies Respiratoires ; 25 : 725-730.

(63) Meral I, Kanter M. (2003). Effects of Nigella sativa L. and Urtica dioica L. on selected mineral status and hematological values in CCl4-treated rats. Biol Trace Elem Res; 96: 263-270.

(64) Beckmank b, Amesbn. (1998). The radical theory of aging matures physiol Rev;78: 547 -581.

(65) Deby-Dupont, G, Deby, C et Lamy, M (2002). « Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène», Réanimation ditions scientifiques et médicales, n°11, pp 28-39.

(66) Favier, A (2006). «Stress oxydant et pathologies humaines», Annales Pharmaceutiques Françaises, n°64, p. 390-396.

(67) Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007) Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts. Food Chem. 104: 21-29.

(68) Favier, A (2003). Le stress oxydant.L'actualité chimique, 108p

(69) Peyrot, F. (2004). Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques (Doctoral dissertation, Université Paris XI).

(70) Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue médicale de Liège, 62(10), 628-38.

(71) Alexander RW, Dzau VJ. Vascular biology: the past 50 years. Circulation 2000; 102: IV112-6.

(72) Darblade B, Privat C, Caillaud D, Rami J, Arnal JF. 2000. Exploration clinique et biologique du NO. J Soc Biol; 194: 151-7.

(73) Feron O, Michel T. 2000. Cell and molecular biology of nitric oxide synthases. In: Loscalzo J, Vita JA, editors. Nitric oxide and the cardiovascular system. Totowa: Humana Press: 11-31.

(74) Massion, P., Preiser, J. C., Balligand, J. L. (2002). Les espèces réactives de l'azote: bénéfiques ou délétères?. Nutrition clinique et métabolisme, 16(4), 248-252.

(75) Peyrot, F. (2004). Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques (Doctoral dissertation, Université Paris XI).

(76) Grisham M. B., Granger D. N. et Lefer D. J. (1998). "Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease." Free Radic Biol Med 25(4-5): 404-433.

(77) Bogdan C. (2001). "Nitric oxide and the regulation of gene expression." Trends Cell Biol 11(2): 66-75.

(78) Kim Y. M., Talanian R. V. et Billiar T. R. (1997). "Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms." J Biol Chem 272(49): 31138-31148.

(79) Wink D. A. Et Mitchell J. B. (1998). "Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide." Free Radic Biol Med 25(4-5): 434-456.

(80) Jacob R.A. (1995). The integrated antioxidant system. Nutrition Research, 15 (5), 755-66.

(81) Deby-Dupont G., Deby C., Lamy M. (1999). Neutrophil myeloproxidase: its role in health and disease. Intensivmed. 36, 500-13.

(82) FAVIER A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. Ed. Centre d'Étude Nucléaire de Grenoble, Grenoble. 8p

(83) Von Sonntag C (1987). Enzymes (chap. 14), the Chemical Basis of Radiation Biology, Taylor & Francis, Londres 429.

(84) Halliwell .B..Gutterridge.J. (1986) .oxygene free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts.Arch .Biochem.Biophys .246.501-514

(85) C. PASQUIER. (1995). Stress oxydatif et inflammation Revue française des laboratoires, N ° 276 PAGE : 89

(86) Christelle Koechlin-Ramonatxo. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. , université Montpellier-I, France Page 168.

(87) Atawodi SE. (2005). Antioxidant potential of african medicinal plants, African Journal of Biotechnology 4 (2), 128 – 133.

(88) Green, D.R., Reed, J.C. (1998). Mitochondria and apoptosis. Science 281, 1309- 1312

(89) TOUSSAINT J.F., JACOB M.P., LAGROST L., CHAPMAN J., (2003).L'athérosclérose: physiopathologie, diagnòstics, thérapeutiques. Ed.Elsevier Masson, Paris. 776 p.

(90) Nakajima K, Nakano T, Tanaka A (2006.). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma .CliChim Acta, 367, 36-47.

(91) J. Haleng, J. Pincemail , J.O. Defraigne , c. cHarlier , J.P. cHaPelle (2007). Le stress oxydant Rev Med Liege; 62 : 10 : 628-638 page629

(92) Saad A, Virella G, Chassereau Ch, et al. (2006). OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. J Lipi Res, 47, 1975-1983.

(93) HUNT J., WOLF S. (1991). Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complication. Free Rad Res Comm. Vol.12(1):115-123.

(94) LENZI F(2011). Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traineau en course de sprint. Thèse Méd. Vét., Ly

(95) Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., Chapelle, J.-P. (October 2007). Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège, 62 (10), 628-38.

(96) Defraigne, J. O.,Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, *63*, 10-19

(97) Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue (Boulogne)*, *18*(1), 16-23.

(98) Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, *108*(10), 863-832.

(99) Goudable, J., Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et metabolisme*, *11*(2), 115-120.

(100) McCord, J. M., Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *The Journal of biological chemistry*, *244*(22), 6049–6055.

(101) Almolki, A. (2007) Physiologie et physiopathologie de l'hème oxygénase 1 : implication dans la modulation de la contractilité et prolifération du muscle lisse bronchique et de la sécrétion de mucus dans les maladies obstructives bronchiques. Thèse de doctorat. Paris 12.

(102) Bakehe, D. (2013) Système Cardiovasculaire I. Xlibris Corporation

(103)Tessier, F., Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, *10*(1), 1-13.

(104) Conner, E. M.,Grisham, M. B. (1996). Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*, *12*(4), 274-277.

(105) Stamler, J. S., Slivka, A. (1996). Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutrition Reviews*, *54*(1), 1-30.

(106) Sies, H.1999.Glutathione and its role in cellulair functions.Free Radica Biol Med 27(9-10): 916-21.

(107) Dringen, R.2000. Metabolism on functions of glutathione in brain.Prog Neutrabiol 62(6):649-71.

(108) Voet, D et J.G. Voet 2002. Biochimie. Paris : DeBoeck Université.

(109) Pastore, A., G.Federici, E.Bertine et F.Piemonte.2003. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification .Clin, Chim Acta 333 (1):19-39.

(110) Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur et J. Telser. 2007. Free radicals and antioxydants in normal physiological functions and humain disease. In J Biochen Cell Biol 39(1):44-84.

(111) Roussel A. M., J. Nève et I.Hininger. 2005. Antioxydant et nutrition. Aspects In Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edited by Lavoisier.

(112) Allard, J. P., Royall, D., Kurian, R., Muggli, R., Jeejeebhoy, K. N. (1994). Effects of β-carotene supplementation on lipid peroxidation in humans. *The American journal of clinical nutrition*, *59*(4), 884-890

(113) Langsjoen, P. H., Langsjoen, A. M. (2003). The clinical use of HMG CoA-reductase inhibitors and the associated depletion of coenzyme Q10. A review of animal and human publications. *Biofactors*, *18*(1-4), 101-111.

(114) Migdal C, Serres M. 2011. [Reactive oxygen species and oxidative stress]. Medecine Sciences: M/S. Apr; 27(4):405-412. DOI: 10.1051/medsci/2011274017. PMID: 21524406.

(115) Harman D. J Gerontol. juill 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry; 11(3):298-300

(116) Oxygen: The Molecule that Made the World. Oxford; New York: Oxford University Press; 2004. 384 p

(117) Delattre J. 2007. Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York: Tec & Doc Lavoisier.

(118) Kirkwood TBL. 25 févr 2005. Understanding the odd science of aging. Cell. 120(4):437- 47

(119) Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC. 1 sept 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free Radic Biol Med; 33(5):575-86.

(120) Bonnefont-Rousselot D. sept 2002. Glucose and reactive oxygen species. Curr Opin Clin Nutr Metab Care; 5(5):561-8.

(121) Bonnefont-Rousselot D. 2004. The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. Treat Endocrinol;3(1):41-52.

(122) Varthaman A, Khallou-Laschet J, Thaunat O, et al. 2008. L'athérogenèse : une maladie dysimmunitaire. Med Sci (Paris) ; 24 : 169-76

(123) Morozova S, Suc-Royer I, Auwerx J. 2004. Modulateurs du métabolisme du cholestérol et avenir du traitement de l'athérosclérose. Med Sci (Paris); 20 : 685-90.

(124) Poli G, Sottero B, Gargiulo S, Leonarduzzi G. 2009. Cholesterol oxidation products in the vascular remodeling due to atherosclerosis. Mol Aspects Med; 30: 180-9

(125) Desmier Thomas, 2016. *Les antioxydants de nos jours : définition et applications*, thèse d'exercice, Limoges, Université de Limoges.

(126) Christen Y. févr 2000. Oxidative stress and Alzheimer disease. Am J Clin Nutr.; 71(2):621S - 629S.

(127). **VIDAL** – Diclofénac [Internet]. Disponible sur: https://www.vidal.fr/substances/6757/diclofenac/

(128). Dictionnaire Vidal. 84ème édition. France. 2008. Voltarène ; p.2518-20.

(129). Direction de la qualité du médicament. Pharmacopée européenne publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne (Série des traités européens, n° 50). Strasbourg: Conseil de l'Europe; 2007.

(130). **Niazi S.** Handbook of bioequivalence testing. New York: Informa Healthcare USA; 2007. 569 p. (Drugs and the pharmaceutical sciences).

(131). BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MÉDICAMENTS disponible sur : https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/extrait.php?specid=66544465

(132). **Talbert. M.** (1998). Guide Pharmacolgique, 3 ed, Lammrie. Paris, pp: 49-61.

(133). **Claude Ecoffey, Daniel Annequin.** (2011). La Douleur chez L'enfant, pp: 28.

(134). **S. Swarnalata,** « NSAIDs Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs; An Overview ». PharmaMed Press, 2008; P.63-64.

(135). The Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for Exercise-Induced Muscle Damage - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Simplified-schematic-of-the-COX-inflammatory-pathway-from-exercise-induced-muscle-damage_fig1_231213209 [accessed 21 May, 2022]

(136)Aouacheri, W., Saka, S., Djafer, R., Lefranc, G. (2009, November). Effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracétamol chez le rat. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 67, No. 6, pp. 619-627).

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

(138) Klaassen CD, Watkin JB. 1984. Pharmacol Rev. Mechanism of formation hepatic uptake and biliary excretion; 36 : 1-67.

(139) Udosen EO, Udosen EO, Ebong PE, Ekanemessang UM. 1989. Cent Afric J Med. Hepatoxicity evaluation in rats given a single overdose of acetaminophen (paracetamol).; 35 : 495-6.

(140) Van Bree L, Groot EJ, De Vries J. 1989. J Pharm Pharmacol. Reduction by acetylsalicylic acid of paracetamol induced hepatic glutathione depletion in rats treated with 4,4'-dichlorobiphenyl, phenobarbitone and pregnenolone-16 alphacarbonitrile; 41 : 343-5.

(141) Duke RC, Ojcius DM, Young JDE. 1996. Sci Am. Cell suicide in health and disease; 23 : 79-87.

(142) Saka S, Bairi A, Guellati M. 2003. J Soc Biol. Relations immuno-corticotropes dans un environnement nociceptif chez la rate wistar; 197 : 67-71.

(143) Kozer E, Evans S, Barr J, Greenberg R, Soriano I, Bulkowstein M, et al. 2003. . Br J Clin Pharmacol. Glutathione, glutathione-dependent enzymes and antioxidant status in erythrocytes from children treated with high-dose paracetamol; 55 : 234-40.

(144) Remirez D, Commandeur JN, Groot E, Vermeulen NP. 1995. Eur J Pharmacol. Mechanism of protection of lobenzarit against paracetamol induced toxicity in rat hepatocytes.; 293 : 301-8.