



REPUBLIQUE DU BENIN

UNIVERSITE D'ABOMEY – CALAVI

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

-----  
ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'ABOMEY – CALAVI

Option : Biologie animale

Spécialité: Physiologie et Santé Animales



**Effets de ananas, *Ananas comosus* (L.) Merr.  
(Bromeliaceae), variété « Pain de sucre » sur le foie et  
les reins du rat Wistar intoxiqué au paracétamol**



*Soutenue publiquement le 21.11.2009*

*Par :*

**DOUGNON Tossou Jacques, DVM**

**Directeur de thèse: Marc T. T. KPODEKON (Maître de conférences, Agrégé)**

*devant le Jury composé de :*

**Président : GBEASSOR Messanvi (Prof.Titulaire)**

**Rapporteur : KARIM Dramane (Prof. Titulaire)**

**Membres :**

**KABORET Yalacé (Prof. Titulaire)**

**LOKO Frédéric (Maître de conférences)**

**LALEYE Anatole (Maître de Conférences, Agrégé)**

## Remerciements

Le présent travail est le fruit de la concrétisation des efforts consentis non seulement par son auteur, mais aussi par de nombreuses personnes de bonne volonté à qui nous tenons à adresser nos sincères remerciements:

- Au Dr Marc T. KPODEKON, Maître de Conférences Agrégé, Directeur de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC) et Responsable du Centre Cunicole de Recherche et d'Information (CECURI), qui a mis à notre disposition l'animalerie du Laboratoire de Pathologie du lapin et tout le matériel nécessaire pour conduire efficacement nos travaux de recherches ; sincères remerciements.
- Au Professeur Mansourou MOUDACHIROU, Directeur du Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles (LaPHE), qui nous a permis de faire nos manipulations dans son Laboratoire ; sincères reconnaissances.
- Au Professeur Raphaël DARBOUX pour nous avoir facilité nos travaux de recherches histologiques dans son Laboratoire de Biologie.
- Au Dr Frédéric LOKO, Maître de Conférences ; pour la réalisation de nos analyses hématologiques et biochimiques dans le Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée (LARBA) de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi. Votre contribution scientifique et vos conseils ont contribué à l'heureux aboutissement de la présente œuvre. Sincères remerciements.
- Au Dr Joachim GBENOU, Maître de Conférences ; votre contribution technique nous a été d'un grand secours. Votre rigueur scientifique nous a aidé dans la réalisation de ce document. Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté d'accompagner ce travail. Veuillez recevoir le témoignage de notre profonde gratitude.

- Au Dr Patrick EDORH, Maître de Conférences ; pour nous avoir enseigné la valeur de la recherche scientifique. Sincères remerciements.
- Au Dr Anatole LALEYE, Maître de Conférences Agrégé ; nous avons trouvé auprès de vous une sympathie, une bonne ambiance de travail et un amour pour le travail bien fait. Veuillez recevoir nos sincères remerciements.
- Au Docteur Joseph DOSSOU, pour nous avoir livré la technique d'obtention de l'extrait du pédoncule d'ananas. Sincères reconnaissances.
- Au Docteur Benoît KOUTINHOIN, pour votre sincère et franche collaboration ; vos conseils ne nous ont jamais fait défaut. Sincères remerciements.
- Au Docteur Issaka YOUSAO, Chef du Département de Production et Santé Animales de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, pour votre dévouement au travail bien fait ; pour vos multiples conseils, appuis financiers et moraux; sincères remerciements.
- Au Docteur Salomé KPOVIESSI et à Madame Marthe ZINSOU ; pour l'assistance technique que vous nous avez apportée ; profonde gratitude.
- A Monsieur Daniel AGBODJOGBE ; pour votre contribution à la réalisation de ce travail et votre sympathie ; merci.
- A Monsieur Marius ADJAGBA ; pour vos sages conseils ; nos vifs remerciements.
- A Madame Nicole CRINOT; votre précieuse sollicitude a été d'un grand intérêt pour nous ; profonde gratitude.
- A Monsieur Honoré Da ZOCLANCLOUNON et Monsieur Fabrice TALEHOU ; pour votre contribution technique et votre amitié ; merci.

## Hommages

Nous adressons nos hommages :

- A notre Maître de Thèse, le Professeur Agrégé de Pathologie Médicale et d'Anatomie Pathologique, Marc T. KPODEKON, Docteur Vétérinaire, Docteur ès Sciences Agronomiques, Directeur de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi. Vous avez bien voulu diriger nos travaux de recherches avec beaucoup de soins et de disponibilité malgré vos diverses occupations. Votre amour pour le travail bien fait et la rigueur soutenue de votre raisonnement scientifique font de vous un modèle à suivre. Recevez-en un hommage mérité.
- A tous les enseignants de l'EPAC, en l'occurrence ceux du Département de Production et Santé Animales (PSA). Nous vous en savons gré.
- Aux membres du jury, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Hommages respectueux.

## Tables des matières

Remerciements .....	I
Hommages .....	III
Tables des matières .....	IV
Liste des sigles et abréviations .....	XI
Liste des figures .....	XIV
Liste des tableaux.....	XVI
Liste des annexes.....	XVII
Résumé.....	XVIII
Abstract .....	XIX
Introduction générale.....	1
<b>PREMIERE PARTIE : REVUE DE LITTERATURE .....</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre 1 : Particularités anatomiques et histophysiologiques du foie et des reins .....</b>	<b>5</b>
1.1 Le foie .....	5
1.1.1 Conformation, topographie, rapports .....	6
1.1.1.1 Conformation .....	6
1.1.1.2 Topographie .....	7
1.1.1.3 Rapports.....	7
1.1.2 Structure histologique du foie .....	7
1.1.2.1 La séreuse.....	8
1.1.2.2 La tunique fibreuse .....	8
1.1.2.3 Le lobule hépatique .....	8
1.1.3 Histophysiologie du foie .....	13

1.1.3.1	Fonctions métaboliques du foie .....	13
1.1.3.2	Fonction biliaire : Sécrétion et excrétion biliaires .....	40
1.1.3.3	Fonctions xénobiotiques ou d'élimination.....	42
1.1.3.4	Fonctions de stockage : fer, cuivre, vitamines, A, D, B 12, K46	
1.1.4	Altérations hépatiques d'origine médicamenteuse .....	51
1.1.4.1	Aspects épidémiologiques de l'hépatotoxicité médicamenteuse.....	52
1.1.4.2	Facteurs de risque et mécanisme d'action.....	55
1.1.4.3	Caractères anatomocliniques des hépatites médicamenteuses.....	56
1.1.4.4	Hépatites médicamenteuses subaigües à chroniques .....	59
1.1.4.5	Eléments de diagnostic biochimiques des altérations hépatiques .....	71
1.2	Reins.....	77
1.2.1	Conformation.....	77
1.2.2	Topographie.....	78
1.2.3	Rapports .....	78
1.2.4	Fixité .....	78
1.2.5	Structure histologique du rein.....	79
1.2.5.1	Le néphron .....	80
1.2.6	Histophysiologie des reins.....	83
1.2.7	Physiopathologie des affections rénales d'origine médicamenteuse.....	85
1.2.7.1	Insuffisances rénales fonctionnelles .....	86

<b>Chapitre 2 : Paracétamol</b> .....	89
2.1 Définitions et indications .....	89
2.2 Structure et réactivité .....	89
2.3 Synthèse.....	90
2.4 Quelques points d'histoire sur le paracétamol.....	91
2.5 Absorption et mécanisme d'action du paracétamol .....	92
2.6 Métabolisme du paracétamol .....	93
2.7 Facteurs de risque .....	94
2.7.1 Jeûne et malnutrition .....	94
2.7.2 Consommation régulière de paracétamol.....	95
2.7.3 Prise de préparations combinées .....	95
2.7.4 Interactions avec les médicaments.....	96
2.7.5 Variabilités interindividuelles et interethniques .....	96
2.8 Toxicité du paracétamol .....	97
2.8.1 Effets sur l'homme .....	97
2.8.2 Effets sur les animaux.....	97
2.9 Traitement d'une intoxication liée au paracétamol.....	98
2.10 Effets sur l'environnement.....	99
<b>Chapitre 3: Ananas, <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. (Bromeliaceae) ....</b>	<b>100</b>
3.1 Différentes variétés d'ananas.....	101
3.1.1 Etude de la bromélaïne .....	102
3.1.2 Autres composants chimiques de <i>Ananas comosus</i> .....	105
3.1.2.1 Les flavonoïdes .....	105

3.1.2.2 Les anthocyanes .....	114
<b>DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTATIONS .....</b>	<b>116</b>
<b>EFFETS DE ANANAS COMOSUS, (VARIETE « PAIN DE SUCRE ») SUR LES LESIONS HEPATIQUES DUES A L'INTOXICATION AU PARACETAMOL CHEZ LE RAT WISTAR .....</b>	<b>119</b>
<b>Chapitre 1 : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>120</b>
1.1 Matériel.....	120
1.1.1 Matériel animal.....	120
1.1.2 Produit d'intoxication hépatique.....	122
1.1.3 Matériel végétal.....	122
1.2. Méthodes .....	123
1.2.1 Etape préliminaire ou préparation et obtention de la dose toxique du paracétamol .....	123
1.2.2 Préparation de l'ingéré frais d'ananas .....	123
1.2.3 Préparation des rats et essais .....	124
1.2.4 Examen clinique des animaux.....	124
1.2.5 Autopsie des rats et prélèvement d'organes.....	124
1.2.6 Examen histopathologique du foie .....	125
<b>Chapitre 2 : Résultats et Discussion.....</b>	<b>126</b>
2.1 Résultats.....	126
2.1.1 Plan de présentation selon les paramètres analysés.....	126
2.1.1.1 Examen clinique .....	126
2.1.1.2 Autopsie des rats et prélèvement d'organes .....	126
2.2 Discussion .....	128
Conclusion partielle .....	130



# EFFICACITE DE DETOXICATION HEPATIQUE DE *ANANAS COMOSUS* CHEZ DES RATS WISTAR INTOXIQUES AU PARACÉTAMOL : QUELQUES ASPECTS BIOCHIMIQUES..... 132

<b>Chapitre 1 : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>133</b>
1.1 Matériel.....	133
1.1.1 Matériel animal.....	133
1.1.2 Produit d'intoxication hépatique.....	133
1.1.3 Matériel de laboratoire.....	133
1.1.4 Matériel végétal.....	133
1.2 Méthodes.....	133
1.2.1 Préparation de l'ingéré frais d'ananas.....	133
1.2.2 Préparation des rats et essais.....	134
1.2.3 Analyses biochimiques.....	134
1.2.3.1 Prélèvement de sang pour le dosage de la phosphatase alcaline et des transaminases.....	134
1.2.3.2 Dosage de la phosphatase alcaline (Test de cholestase) et des transaminases (Test de cytolysé hépatique). ....	135
1.2.4 Méthodes statistiques utilisées.....	136
<b>Chapitre 2 : Résultats et Discussion.....</b>	<b>137</b>
2.1 Résultats.....	137
2.1.1 Etude clinique.....	137
2.1.2 Concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline (PAL).....	137
2.1.3 Concentrations plasmatiques de l'alanine aminotransférase (ALAT).....	139
2.1.4 Concentrations plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT).....	141

2.2 Discussion .....	143
2.2.1 Evolution des concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline.....	143
2.2.2 Evolution des concentrations plasmatiques de l'alanine aminotransférase (ALAT) .....	144
2.2.3 Evolution des concentrations plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT).....	145
Conclusion partielle .....	146
<b>« EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DU PEDONCULE D'ANANAS, VARIETE « PAIN DE SUCRE » SUR LE FOIE ET LES REINS DE RATS WISTAR INTOXIQUEES AU PARACETAMOL » .....</b>	<b>147</b>
<b>Chapitre 1 : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>148</b>
1.1 Matériel.....	148
1.1.1 Matériel animal.....	148
1.1.2 Produit d'intoxication hépatique.....	148
1.1.3 Extrait d' <i>Ananas comosus</i> .....	148
1.1.4 Matériel de laboratoire.....	148
1.2 Méthodes .....	149
1.2.1 Etape préliminaire ou préparation et obtention de la dose toxique du paracétamol .....	149
1.2.2 Préparation de l'ananas frais.....	149
1.2.3 Préparation des rats et essais .....	150
1.2.4 Analyse physicochimique de l'ananas .....	150
1.2.5 Examen clinique des animaux.....	150
1.2.6 Analyses biochimiques.....	150
1.2.7 Autopsie des rats et prélèvement d'organes.....	151
1.2.8 Examen histopathologique du foie et des reins .....	151

1.2.9 Méthodes statistiques utilisées.....	152
<b>Chapitre 2: Résultats et Discussion.....</b>	<b>153</b>
2.1 Résultats.....	153
2.1.1 Composition phytochimique de <i>Ananas comosus</i> .....	153
2.1.2 Mortalité des animaux d'expérience .....	155
2.1.3 Evolution du poids corporel, du foie et des reins des rats:.....	155
2.1.4 Observations histologiques .....	157
2.1.5 Paramètres biochimiques.....	165
2.2 Discussion .....	183
2.2.1 Evolution du poids corporel, du foie, des reins et modifications histologiques de ces organes.....	183
2.2.2 Paramètres biochimiques.....	184
Conclusion partielle .....	193
<b>Conclusion Générale.....</b>	<b>194</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>196</b>
<b>Références sur Internet.....</b>	<b>208</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>a</b>

## Liste des sigles et abréviations

<b>%</b>	: Pour cent
<b>°C</b>	: Degré Celsius
<b>ACP</b>	: acyl carrier protein
<b>ADN</b>	: acide désoxyribonucléique
<b>ADP</b>	: Adénosine diphosphate
<b>ALAT</b>	: Alanine Amino Transférase
<b>AMPc</b>	: adénosine monophosphate cyclique
<b>Apo</b>	: apoprotéine
<b>APS</b>	: Acide Périodique de Schiff
<b>ARN</b>	: acide ribonucléique
<b>ASAT</b>	: Aspartate Amino Transaminase
<b>ATP</b>	: Adénosine triphosphate
<b>Btu</b>	: unité de tyrosine de bromelain
<b>CDU</b>	: unité de digestion de caséine
<b>CECURI</b>	: Centre Cunicole de Recherches et d'Informations
<b>coll</b>	: collaborateurs
<b>CPT1</b>	: carnitine palmitoyltransferase1
<b>CPT2</b>	: carnitine palmitoyltransferase2
<b>Ctr 1</b>	: copper transporter 1

<b>CV</b>	: coefficient de variation
<b>EPAC</b>	: Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi
<b>FADH</b>	: flavine adénine dinucléotide hydrogénase
<b>FGT</b>	:(flavonoïde anthocyanidine-/flavonol)-3-glucosyltransférase
<b>g</b>	: gramme
<b>Gamma-GT</b>	: Gamma-Glutamyl-Transpeptidase
<b>GB</b>	: globule blanc
<b>GDU</b>	: Gelatin Digestion Unit
<b>GLUT-2</b>	: Glucose-Transporter 2
<b>GOT</b>	: Glutamate Oxalo acétique Transaminase
<b>GPT</b>	: Glutamate Pyruvate Transaminase
<b>GR</b>	: Globule rouge
<b>Hb</b>	: Hémoglobine
<b>HDL</b>	: high density lipoprotein
<b>HE</b>	: Hématéine-Eosine
<b>HMG</b>	: hydroxy-3-méthylglutamyl
<b>Hte</b>	: Hématocrite
<b>ISBA</b>	: Institut des Sciences Biomédicales Appliquées
<b>L</b>	: Lymphocyte

<b>LaPHE</b>	: Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles
<b>LARBA</b>	: Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée
<b>LDH</b>	: Lactate Déshydrogénase
<b>LDL</b>	: low density lipoprotein
<b>MCU</b>	: unités de coagulation de lait
<b>ml</b>	: millilitre
<b>N</b>	: Neutrophile
<b>NADPH</b>	: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogéné
<b>nm</b>	: Nanomètre
<b>OTC</b>	: ornithine transcarbamylase
<b>P</b>	: Plaquette
<b>PAL</b>	: Phosphatase Alcaline
<b>p</b>	: probabilité
<b>pV</b>	: poids vif
<b>UDP</b>	: Uridine diphosphate
<b>UTP</b>	: Uridine triphosphate
<b>UV</b>	: Ultraviolet
<b>VLDL</b>	: very low density lipoprotein

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma du lobule hépatique classique selon Rappaport (1963)	10
<b>Figure 2</b> : Schéma montrant les différentes cellules hépatiques Rappaport 1963) .....	11
<b>Figure 3</b> : Parenchyme hépatique et capillaires sinusoides (Rappaport, 1963).....	12
<b>Figure 4</b> : Synthèse (glycogénogenèse) et dégradation (glycogénolyse) du glycogène hépatique (Jiang et coll., 2003).....	17
<b>Figure 5</b> : Glycolyse/ Néoglucogenèse dans le tissu hépatique (Jiang et coll., 2003).....	19
<b>Figure 6</b> : Synthèse du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogené (NADPH) et du ribose-5-phosphate par le circuit des pentoses phosphates (Tozzi et coll., 2003).....	23
<b>Figure 7</b> : Transport des acides gras dans la mitochondrie hépatique et $\beta$ -oxydation (Parks et Hellerstein., 2006).....	28
<b>Figure 8</b> : Synthèse de l'urée selon Fouet (1978).....	35
<b>Figure 9</b> : Hydroxylation des xénobiotiques dans le foie par les cytochromes P-450 (Trottier et coll., 2005).....	45
<b>Figure 10</b> : Réduction du pyruvate par la LDH.....	74
<b>Figure 11</b> : Coupe longitudinale d'un rein (Kardong, 2002).....	80
<b>Figure 12</b> : Structure d'un néphron (Kardong, 2002).....	81
<b>Figure 13</b> : Corpuscule de Malpighi (Kardong, 2002).....	82
<b>Figure 14</b> : Synthèse du paracétamol.....	91
<b>Figure 15</b> : Structure de l'enchaînement benzo-p-pyrone (Di carlo et coll., 1999).....	106
<b>Figure 16</b> : Différents types structuraux de flavonoïdes (Havsteen., 2002).....	108
<b>Figure 17</b> : Animalerie ayant servi de site expérimental.....	121
<b>Figure 18</b> : Ananas, variété «Pain de sucre» utilisé pour les essais.....	122
<b>Figure 19</b> : Aspects morphologiques du foie normal de rat Wistar (HE, grossissement X 20).....	127

<b>Figure 20</b> : Foie de rat intoxiqué au paracétamol (HE, grossissement X 20).....	127
<b>Figure 21</b> : Foie de rat intoxiqué au paracétamol et traité à l’ananas (HE, grossissement X 20) .....	128
<b>Figure 22a</b> : Foie normal (HE, grossissement X20).....	158
<b>Figure 22b</b> : Foie normal (grossissement X40).....	159
<b>Figure 23</b> : Foie d’animaux intoxiqués au paracétamol mais non traités (grossissement X20).....	160
<b>Figure 24</b> : Foie d’animaux intoxiqués au paracétamol et traités avec 0,12 ml d’extrait d’ <i>Ananas comosus</i> (grossissement X20).....	161
<b>Figure 25</b> : Foie d’animaux intoxiqués au paracétamol et traités avec 0,06 ml d’extrait d’ <i>Ananas comosus</i> (grossissement X20).....	162
<b>Figure 26</b> : Cortex rénal normal (HE, grossissement X20).....	163
<b>Figure 27</b> : Cortex rénal de rat intoxiqué au paracétamol (HE, grossissement X20).....	164
<b>Figure 28</b> : Cortex rénal de rat intoxiqué au paracétamol et traité avec 0,06 ml d’extrait d’ <i>Ananas comosus</i> (HE, grossissement X20)..	164
<b>Figure 29</b> : Cortex rénal de rat intoxiqué au paracétamol et traité avec 0,12 ml d’extrait d’ <i>Ananas comosus</i> (HE, grossissement X20)..	165



## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Evolution des concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline (PAL) en (UI/L).....	138
<b>Tableau II :</b> Evolution des concentrations plasmatiques de l'alanine aminotransférase (ALAT) en (UI/L).....	140
<b>Tableau III :</b> Evolution des concentrations plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT) en (UI/L).....	142
<b>Tableau IV :</b> Résultat de l'analyse phytochimique de l'ananas.....	154
<b>Tableau V :</b> Evolution du poids corporel, du foie et des reins.....	156
<b>Tableau VI :</b> Evolution des concentrations de glucose (g/l).....	166
<b>Tableau VII :</b> Evolution des concentrations des triglycérides (g/l)....	168
<b>Tableau VIII :</b> Evolution des concentrations du cholestérol (g/l).....	170
<b>Tableau IX :</b> Evolution des concentrations de la bilirubine totale (mg/%).....	172
<b>Tableau X :</b> Evolution des concentrations de l'urée (g/l).....	174
<b>Tableau XI :</b> Evolution des concentrations de créatinine (mg/dl)....	176
<b>Tableau XII :</b> Evolution des concentrations de gamma-glutamyl-transpeptidase (UI/L).....	178
<b>Tableau XIII :</b> Evolution des concentrations de glutathion (mmol/g de foie).....	180
<b>Tableau XIV :</b> Evolution des concentrations de lactate déshydrogénase en UI/L.....	182

## Liste des Annexes

Annexe 1 : Technique de coloration à l'Hématéine-Eosine.....	a
Annexe 2 : Equipement ; consommables et réactifs.....	h
Annexe 3 : Articles publiés dans des revues à comité de lecture.....	r

## Résumé

Le présent travail a pour objectif de contribuer aux réparations par *Ananas comosus* des lésions hépatiques et rénales dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar. A cet effet, des lésions hépatiques ont été recherchées sur 27 rats intoxiqués au Doliprane® à 20% de paracétamol (2g/kg de poids vif (pV) par jour pendant 14 jours) puis traités avec du pédoncule de l'ananas frais (13 mg et 26 mg par kg de pV par jour pendant 28 jours). La nécrose centrolobulaire provoquée par le paracétamol a été corrigée chez les animaux traités avec de l'ananas frais.

En outre, 28 autres rats albinos Wistar intoxiqués pendant 14 jours avec le même produit, ont été traités avec de l'ananas frais (13 mg et 26 mg par kg de pV par jour pendant 28 jours). Les concentrations de la phosphatase alcaline (PAL), de l'alanine aminotransférase (ALAT), de l'aspartate aminotransférase (ASAT) ont diminué chez les rats traités avec *Ananas comosus* ( $p < 0,0001$ ).

Par ailleurs, l'efficacité de l'extrait du pédoncule d'*Ananas comosus* a été évaluée sur cent vingt rats Wistar intoxiqués au Doliprane® à 20% de paracétamol pendant 42 jours. Contrairement aux dommages rénaux qui ont été irréversibles, les altérations hépatiques ont été corrigées chez les rats traités avec de l'extrait du pédoncule d'ananas (0,06 ml et 0,12 ml par kg de pV pendant 42 jours). Les taux de glucose ( $1,28 \pm 0,13$  g/L), des triglycérides ( $0,71 \pm 0,1$ g/L), de cholestérol ( $0,63 \pm 0,1$  g/L), de bilirubine totale ( $1,52 \pm 0,1$ mg%), de l'urée ( $0,70 \pm 0,1$ g/L), de créatinine ( $0,95$  mg/dL), de Gamma-GT ( $81,83 \pm 0,9$  U/L) et de LDH ( $480 \pm 0,95$  UI/L) ont été statistiquement plus élevés chez les rats intoxiqués et non traités avec l'extrait d'*Ananas comosus*. Le taux de Glutathion ( $0,39 \pm 0,7$ mmoles /g de foie) a été plus bas chez ces mêmes animaux ( $p < 0,0001$ ).

L'effet hépato-protecteur de *Ananas comosus* serait lié à la présence dans ce fruit, de la bromélaïne et d'autres substances anti-oxydantes comme les flavonoïdes.

**Mots-clés** : détoxification hépatique, *Ananas comosus*, rats Wistar, paracétamol, flavonoïdes.

## Abstract

The aim of the present work is to study the repair effect of pineapple (*Ananas comosus*) on liver and kidney damage in Wistar rats intoxicated with paracétamol. Indeed, hepatic lesions were investigated in 27 rats addicted to Doliprane® containing 20% of paracetamol (2g/kg body weight (pV) per day for 14 days) and treated with fresh pineapple (13 mg and 26 mg / kg pV per day for 28 days). This administration of paracetamol induced in liver centrolobular necrosis which was reversed by treatment with fresh pineapple.

Moreover, 28 rats Wistar poisoned for 14 days with the same product have been treated with fresh pineapple (13 mg and 26 mg per kg of pV per day for 28 days). Plasma concentrations of PAL, ALAT and ASAT decreased in rats treated with *Ananas comosus* ( $p < 0.0001$ ). In another experiment, the same efficiency of the extract of the stalk of *Ananas comosus* was assessed on one hundred and twenty Wistar albinos rats addicted to paracétamol. The liver alterations were corrected in rats that were treated with the extract of pineapple stalk (0.06 ml and 0.12 ml per kg of pV during the 42 days) but no effect was observed on kidney damage.

The plasma levels of glucose ( $1.28 \pm 0.13$  g / L), triglycerides ( $0.71 \pm 0.1$ g / L), cholesterol ( $0.63 \pm 0.1$  g / L), total bilirubin ( $1.52 \pm 0.1$  mg %), urea ( $0.70 \pm 0.1$  g / L), creatinine (0.95 mg / dL), Gamma-GT ( $81.83 \pm 0.9$  UI / L) and LDH ( $480 \pm 0.95$  UI/ L) were higher among rats addicted to paracétamol and not treated with the extract of *Ananas comosus*. The rate of Glutathion ( $0.39 \pm 0.7$  mmol / g of liver) was lower in these animals ( $p < 0.0001$ ).

The protective effect of *Ananas comosus* could be linked to the presence in this fruit of bromelain and other anti-oxidant like flavonoids.

**Keywords:** Liver detoxification, *Ananas comosus*, Wistar rats, paracétamol, flavonoids.

## Introduction générale

Le foie est l'organe le plus volumineux du corps de l'animal. Il joue un important rôle de métabolisation et de dégradation de la majorité des substances, après oxydation, réduction, conjugaison et méthylation. Il transforme les toxiques en métabolites eux-mêmes parfois très agressifs pour l'organisme ou le foie lui-même. Nombreuses sont les causes des affections hépatiques. Par exemple, l'aflatoxine B<sub>1</sub> produite par *Aspergillus flavus* joue un rôle carcinogène ou participe à une synergie cancérigène sur des personnes ayant déjà une hépatite B. Les virus, les parasites mais surtout les toxines ont pour cible, le foie; les stéroïdes anabolisants, les oestrogènes de synthèse, le tabac et la vitamine A sont aussi incriminés dans les altérations hépatiques (Grethe et coll., 2000).

De même, chez les animaux et chez l'homme, les pathologies hépatiques d'origine médicamenteuse sont fréquentes, polymorphes dans leur présentation et de diagnostic souvent difficile (Gruchalla, 2000). L'incidence annuelle de ces pathologies est inquiétante et bien supérieure à celle évaluée sur la base des données de la pharmacovigilance. En effet, chez l'homme, la moitié des cas d'hépatite fulminante sont d'origine médicamenteuse et selon le registre européen de transplantation, ils représentent 1 à 6% des indications de transplantation hépatique. La proportion la plus élevée se retrouve dans les pays scandinaves (5,4%), en Angleterre (5%) et surtout en Afrique et en Asie où les statistiques sont souvent mal évaluées (Sgro et coll., 2003).

En outre, environ 10% de tous les cas d'hépatite aiguë sont d'origine médicamenteuse tout comme 40% de celles survenant après l'âge de 50 ans (Cullen, 2005). Les femmes sont environ trois fois plus fréquemment atteintes que les hommes. Par ailleurs, selon Joliot et coll., (1996), les coûts globaux de prise en charge d'une hépatite et de ses complications s'élèveraient à 136947 francs français.

En outre, l'intoxication au paracétamol, principe actif à 20% dans le Doliprane® est une intoxication grave car il existe un risque non négligeable

d'altérations hépatiques. En médecine humaine, le traitement des altérations hépatiques par les méthodes classiques sont en général inefficaces (Sgro et coll., 2003). Les prises en charge sont mal structurées et n'existent pratiquement pas dans les pays en voie de développement. Les atteintes hépatiques débouchent souvent sur des cas de décès. Malgré les avancées technologiques comme la transplantation, les critères restrictifs comme l'âge, l'état physiologique et la pénurie de greffons retardent et limitent les indications. Les altérations hépatiques deviennent donc une véritable préoccupation surtout dans plusieurs régions d'Afrique où la recherche d'une alternative de thérapie endogène beaucoup plus accessible devient une nécessité (Sofowora, 1996).

Dans cette optique, *Ananas comosus* a été identifié comme un fruit efficace dans le traitement de plusieurs pathologies ; ses principaux composés actifs étant la bromélaïne et les flavonoïdes. Ces constituants, qui se retrouvent essentiellement dans le pédoncule de la plante exercent de multiples actions anti-inflammatoire, antitumorale, anti-œdémateuse ; de plus, ils participent à la digestion et améliorent les fonctions circulatoires et cardiovasculaires (Boivin et coll., 1998).

La présente étude intitulée «**Effets de *Ananas comosus* (L.) Merr. (Bromeliaceae), variété « Pain de sucre » sur le foie et les reins du rat Wistar intoxiqué au paracétamol**» se veut être la première étape d'un processus devant aboutir à l'utilisation de cette plante en thérapeutique aussi bien en médecine humaine que vétérinaire. Ainsi, la présente étude se propose de contribuer aux réparations par *Ananas comosus* des lésions hépatiques et rénales dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar. Cet animal a été choisi pour matériel en tant qu'animal de laboratoire, de manipulation facile et surtout pour son matériel génétique assez stable. Le paracétamol est reconnu toxique aussi bien pour l'homme que pour les animaux quand il est utilisé à des doses non thérapeutiques ; le travail vise alors les objectifs spécifiques suivants:

---

- répertorier les réparations histologiques au niveau du foie et des reins des rats albinos Wistar intoxiqués au paracétamol et traités avec le pédoncule frais de *Ananas comosus* ;

- répertorier les réparations histologiques au niveau du foie et des reins des rats albinos Wistar intoxiqués au paracétamol et traités avec l'extrait du pédoncule frais de *Ananas comosus* ;

- étudier certains paramètres biochimiques sanguins marqueurs des affections hépatiques chez les rats albinos Wistar intoxiqués au paracétamol et traités aussi bien avec le pédoncule frais qu'avec l'extrait du pédoncule de *Ananas comosus*.

Aussi, le présent document a-t-il été abordé en deux parties :

- la première a été consacrée à une étude bibliographique sur les particularités anatomiques et histophysiologiques du foie et des reins chez l'homme puis chez les animaux; sur le paracétamol et sur l'ananas.

- la deuxième partie regroupe les expérimentations sur les effets de *Ananas comosus*, (variété « Pain de sucre ») sur les lésions hépatiques dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar et l'efficacité de la détoxification hépatique par *Ananas comosus* frais chez des rats Wistar intoxiqués au paracétamol. Enfin, l'efficacité de détoxification hépatique et rénale de l'extrait du pédoncule de *Ananas comosus* chez des rats Wistar intoxiqués au paracétamol a été explorée.

# PREMIERE PARTIE : REVUE DE LITTERATURE

Cette première partie est abordée en trois chapitres à savoir les particularités anatomiques et histophysiologiques du foie et des reins, le paracétamol et l'ananas.



## Chapitre 1 : Particularités anatomiques et histophysiologiques du foie et des reins

Le foie est la glande annexe la plus volumineuse du tube digestif. Il est doué de fonctions métaboliques complexes et indispensables à la vie et est situé à la partie supérieure et droite de la cavité abdominale dans l'étage sus-mésocolique, sous la coupole diaphragmatique droite (Bouchet et Cuilleret, 1983). En dehors de quelques spécificités inhérentes d'une part à l'espèce humaine et aux animaux, et d'autre part aux différentes espèces animales, l'anatomie et l'histologie du foie sont les mêmes.

Quant aux reins, ils sont au nombre de deux et appartiennent au système excréteur. Situés l'un à droite, l'autre à gauche de la colonne vertébrale au niveau des lombes, ils sont simples et généralement entourés d'une épaisse couche de graisse. Ils ressemblent à un haricot chez l'homme, le rat, le cheval, le mouton, la chèvre, le porc, le chien, le chat, le lapin. Ils sont lobulés chez le bœuf. Le poids relatif des reins est faible chez les herbivores avec 0,6% du poids vif contre 1,1% chez les carnivores et 1,3% chez les omnivores (Barone, 1976).

Les deux organes interviennent d'une manière vitale dans les métabolismes, dans les processus de détoxification et dans certaines fonctions endocrines (Bourgelat, 1993).

### 1.1 Le foie

Interposé sur le flux sanguin en aval du tractus gastro-intestinal, le foie est une glande exocrine qui déverse son produit de sécrétion, la bile, dans le duodénum. Le foie est un organe plein, de consistance ferme (turgescent). Friable, il est divisé en lobes par des scissures. Sa couleur normale tire sur le brun-rouge. Il représente 2,5 à 4 pour cent de la masse corporelle, avec des variations dues à l'âge, à la taille et à l'état d'engraissement et de santé (Bourgelat, 1993).

## 1.1.1 Conformation, topographie, rapports

### 1.1.1.1 Conformation

Selon Bourgelat (1993), la face diaphragmatique du foie, crâniale et convexe, n'est pas entièrement péritonéalisée. L'aire nue, adhérente au diaphragme, étroite, est circonscrite par le ligament coronaire, formé par la réflexion péritonéale. Le bord dorsal adjacent, épais et fixé au diaphragme par les ligaments triangulaires droit (sur le pilier droit) et gauche (à gauche de l'hiatus œsophagien), est creusé à droite par la veine cave caudale (sillon de la veine cave) et échancré à gauche par l'œsophage (empreinte œsophagienne).

La face viscérale, caudale et concave, montre une dépression oblique, la porte du foie, occupée par le « pédicule hépatique » (veine porte, artère et nerfs hépatiques, conduit cholédoque). Cette face est marquée par des empreintes viscérales (gastrique à gauche, duodénale et rénale à droite). Le petit omentum s'attache sur les bords de la porte et autour du processus papillaire. Le bord ventral, mince et libre, est découpé par les incisures interlobaires, ainsi que par la fissure du ligament rond. A droite de celle-ci, l'incisure entre les lobes carré et droit porte la fosse de la vésicule biliaire, qui déborde sur la face diaphragmatique. Les bords droit et gauche limitent respectivement les lobes, droit, caudé et gauche médial, et le lobe gauche latéral.

La lobation hépatique répond aux nécessités mécaniques et organogénétiques : avant la naissance, le foie est traversé par la veine ombilicale gauche et le conduit veineux. Ces formations évoluent ensuite en ligament rond, porté par le ligament falciforme et en ligament veineux. Elles partagent l'organe en deux territoires. Le gauche se subdivise en lobe gauche latéral et lobe gauche médial. Le territoire droit est divisé par le développement de la veine porte et des voies biliaires en deux régions ; la partie intermédiaire comprend le lobe caudé (segmenté par le sillon de la veine cave en processus caudé à droite et papillaire à gauche) dorsalement à la porte du foie, et, ventralement, le lobe carré (encadré par la porte, le

ligament falciforme et la vésicule biliaire). La partie située à droite est le lobe droit, subdivisé en lobe droit médial et en lobe latéral (Bourgelat, 1993).

Le foie est maintenu en place par des plis péritonéaux, les ligaments du foie : ligament coronaire du foie continué par les ligaments triangulaires (le droit plus faible que le gauche), ligament hépato-rénal, ligament falciforme et son bord libre, le ligament rond du foie, enfin le petit omentum, constitué par les ligaments hépato-gastrique et hépato-duodéal. Après la naissance, seul ce dernier est vasculaire.

### 1.1.1.2 Topographie

Sur le plan de la topographie, le foie occupe la région épigastrique crânialement à l'hypochondre, plutôt à droite, l'estomac étant gauche. Sa direction générale est oblique : l'extrémité droite se porte dorsalement sous la 13<sup>ème</sup> côte, la gauche, plus ventrale, ne dépasse pas la 9<sup>ème</sup> ou la 10<sup>ème</sup> côte. L'exploration clinique du foie (palpation, percussion, ponction) s'effectue à droite, sous l'arc costal. Le foie dépasse en général l'arc costal en deux endroits : en arrière de l'extrémité dorsale de la dernière côte, où il s'appuie au rein droit, et autour du processus xiphoïde du sternum (Bourgelat, 1993).

### 1.1.1.3 Rapports

Les rapports du foie se résument ainsi : crânialement, le diaphragme ; dorsalement, l'œsophage, la veine cave caudale, le rein droit ; près du hile, la veine porte, le conduit cholédoque, l'artère, les nerfs, les nœuds lymphatiques hépatiques ; à droite, le duodénum et le corps du pancréas ; à gauche, le fundus et le corps de l'estomac, ventralement et à droite, la partie pylorique (Bourgelat, 1993).

## 1.1.2 Structure histologique du foie

La structure histologique du foie comprend une séreuse, une tunique fibreuse et le lobule hépatique.

### 1.1.2.1 La séreuse

La séreuse est le péritoine viscéral ; la sous-séreuse est mince et fibreuse, de sorte que le péritoine est intimement adhérent à la capsule fibreuse du foie, réalisant une « fibro-séreuse ». La séreuse hépatique est absente au niveau de l'aire nue.

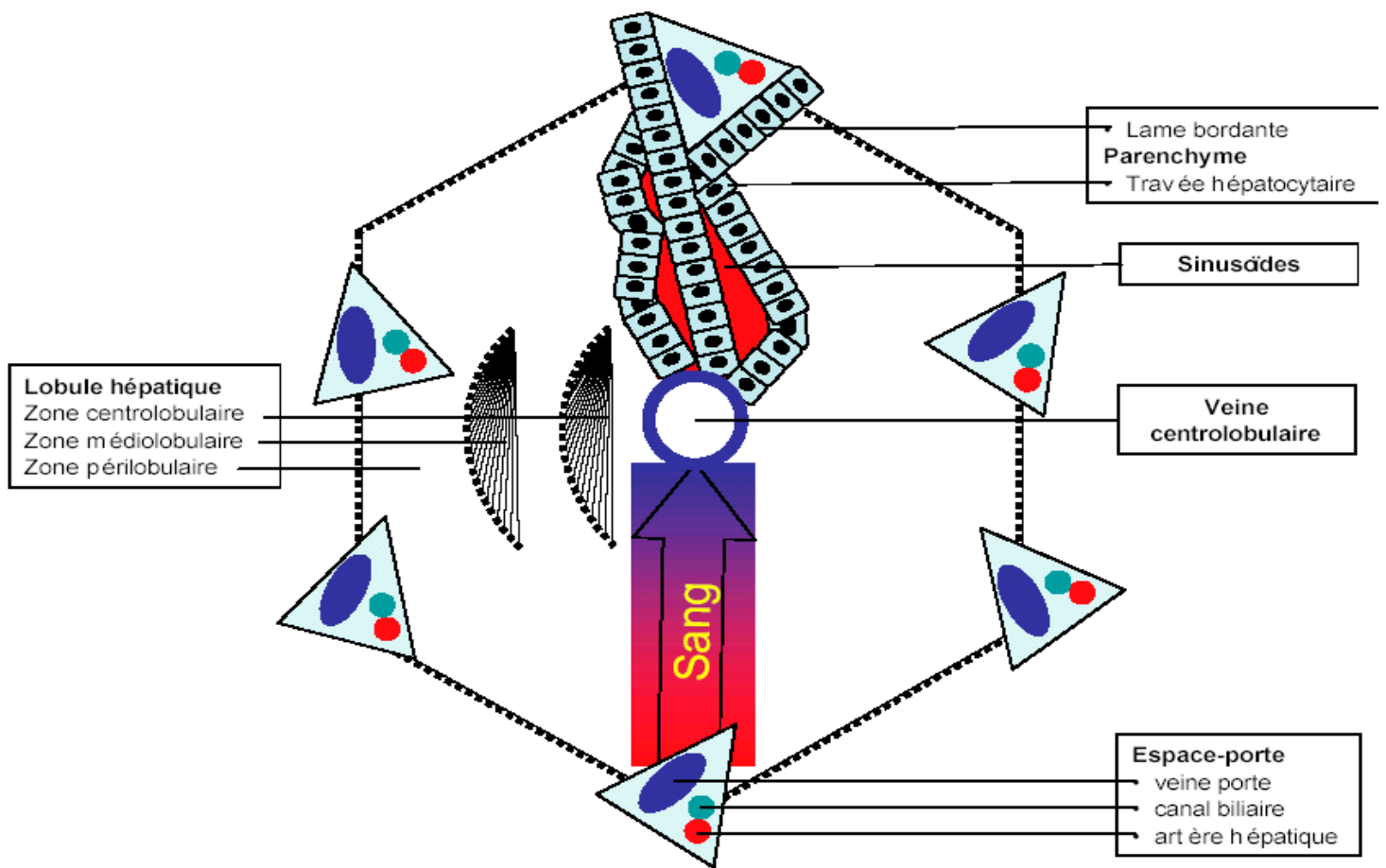
### 1.1.2.2 La tunique fibreuse

La tunique fibreuse (« capsule de Glisson ») est mince, transparente, résistante. Elle est adhérente au parenchyme sous-jacent, qui lui donne une tension importante, et y envoie une trame conjonctive formant d'innombrables septums interlobulaires ; autour de la porte, elle se réfléchit à l'intérieur de l'organe, pour suivre et supporter les vaisseaux jusque dans la trame conjonctive : c'est la capsule fibreuse périvasculaire. Cette double charpente conjonctive et vasculaire divise le parenchyme hépatique en lobules.

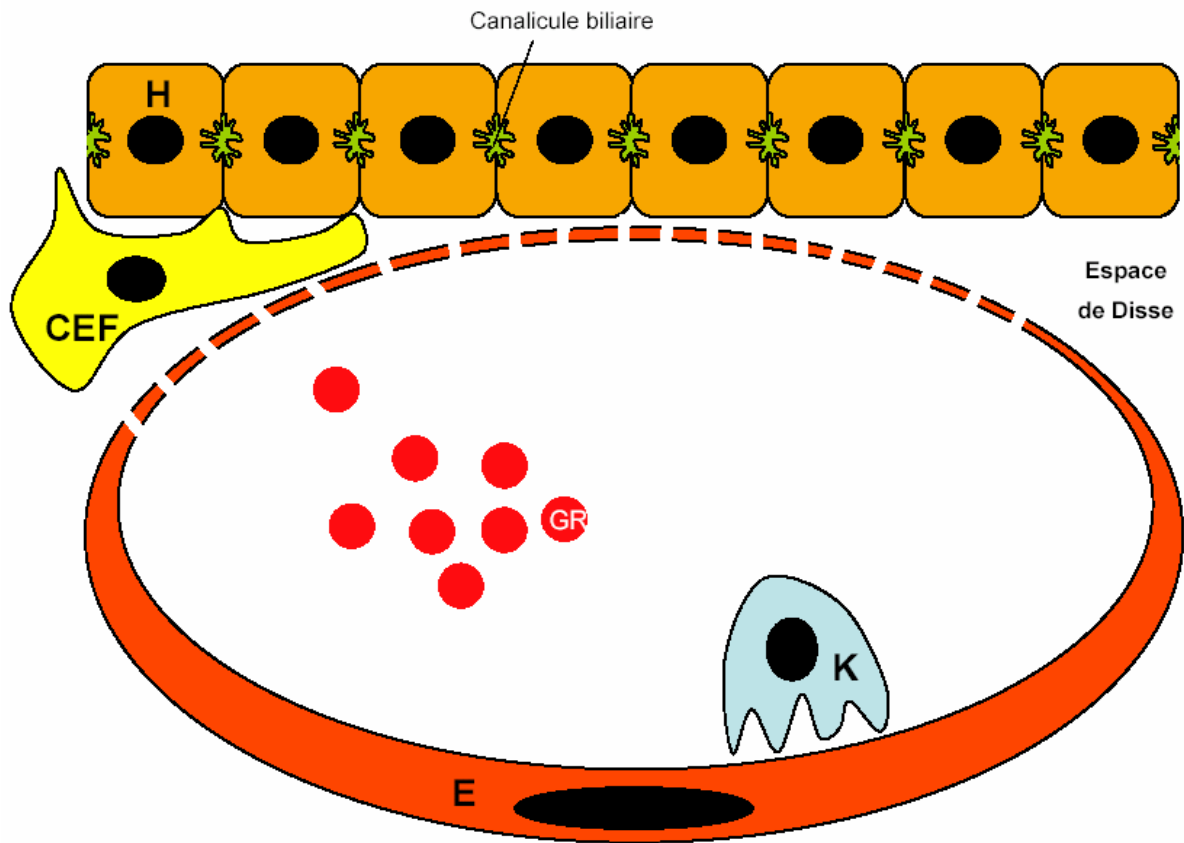
### 1.1.2.3 Le lobule hépatique

La ramification pédiculaire au sein des segments aboutit aux espaces portes constitués d'une branche de l'artère hépatique, d'une branche de la veine porte et d'un ou deux canaux biliaires. Plusieurs espaces portes délimitent un lobule que centre une veine centrolobulaire. Le sang passe de l'espace porte à la veine centrolobulaire au sein du parenchyme hépatique. Le parenchyme hépatique est constitué par les hépatocytes disposés en travées monocellulaires tendues de la zone périportale à la zone centrolobulaire et séparées les unes des autres par les sinusoides. Parmi les cellules hépatiques, on distingue, la cellule parenchymateuse (hépatocyte) et les cellules sinusoidales (cellule endothéliale, cellule de Kupffer et cellule étoilée du foie). L'hépatocyte a une double polarité. Sa face sinusoidale est en contact intime avec le sang portal *via* la cellule endothéliale. C'est une zone d'échanges intenses où la cellule puise les éléments nécessaires à ses activités de synthèse (lipides, protides et glucides) et de catabolisme (xénobiotiques, hormones) et déverse les produits de ces activités. Sa face

biliaire délimite le canalicule biliaire, espace sans paroi propre, définie par le repli des membranes de deux hépatocytes adjacents. La bile sécrétée par l'hépatocyte chemine dans ce système canaliculaire puis est recueillie dans les ductules juxta-portaux qui se jettent dans le canal biliaire de l'espace porte. La cellule endothéliale limite le sinusoiide et empêche le sang de s'immiscer dans l'espace de Disse tout en autorisant, par son système de pores, les échanges entre le plasma et l'hépatocyte. La cellule de Kupffer est un macrophage résident qui, situé à l'intérieur du sinusoiide, a pour fonctions d'épurer le sang sinusoiidal des impuretés non arrêtées par la barrière intestinale ; il s'agit des endotoxines bactériennes, des particules minérales ou virales (figures 1, 2 et 3). La cellule étoilée du foie également dénommée cellule de Ito ou cellule périsinusoïdale se trouve dans l'espace de Disse et a pour fonctions le stockage de la vitamine A et la synthèse de la matrice extracellulaire hépatique (Bourgelat, 1993).

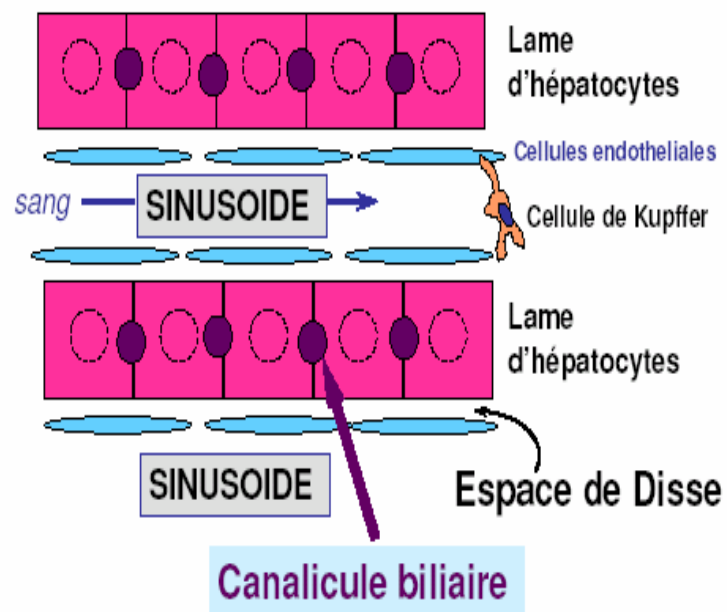


**Figure 1 : Schéma du lobule hépatique classique selon Rappaport (1963)**



**Figure 2 : Schéma montrant les différentes cellules hépatiques**

(H = hépatocyte, CEF = cellule étoilée du foie, E = cellule endothéliale, K = cellule de Kupffer, GR = globule rouge). Aspect tel qu'en microscopie électronique selon Rappaport (1963)



**Figure 3 : Parenchyme hépatique et capillaires sinusoides (Rappaport, 1963)**



### 1.1.3 Histophysiologie du foie

La présence du système de la veine porte place le foie à un carrefour important de la circulation sanguine, car il s'interpose entre le sang riche en nutriments, venu de l'intestin, et la circulation générale. Il répond à cette situation particulière d'une part en intervenant sur ces composés, qui ne peuvent pas être livrés bruts au reste de l'organisme, et d'autre part en contrôlant la qualité de l'ensemble du courant sanguin qui le traverse. De plus, c'est une glande exocrine (et c'est là son rôle primitif), indispensable à la digestion des lipides (dyspepsies par insuffisance hépatique). On peut distinguer, dans les diverses interventions du foie, des fonctions métaboliques, d'élimination et biliaire ; ces distinctions sont arbitraires, car les fonctions du foie sont interactives (Bourgelat, 1993).

#### 1.1.3.1 Fonctions métaboliques du foie

Le foie assure de multiples fonctions métaboliques comme le métabolisme des glucides, des lipides, des protéines ainsi que des hormones. En outre, il est utile pour d'autres fonctions comme la fonction biliaire, les fonctions xénobiotiques, les fonctions antixéniques des cellules de Kupffer puis dans les fonctions de stockage : fer, vitamines, A, D, B12. Un mauvais fonctionnement du foie entraîne de multiples perturbations dans l'organisme.

##### ▪ Métabolisme des glucides

Les glucides sont des molécules organiques largement répandues chez les animaux. Ils représentent une source énergétique pour les cellules de l'organisme et participent à la constitution de macromolécules telles que les mucines et substances intercellulaires. La forme circulante des glucides est le glucose. Le taux sanguin de glucose ou glycémie est maintenu constant chez les mammifères de 0,8 à 1,2g/l et chez les oiseaux à 2g/l grâce à la mise en jeu d'un système de régulation impliquant le foie, le rein, le tissu adipeux et les hormones (insuline et glucagon pancréatiques, catécholamines et corticoïdes).

Le foie est l'organe essentiel de régulation de la glycémie en stockant le glucose sous forme de glycogène par la glycogénèse ou en le mettant en circulation par glycogénolyse.

### ➤ **Métabolisme hépatique du glycogène**

La majorité des tissus de l'organisme dépend, d'un point de vue énergétique, de la concentration de glucose circulant. En particulier le cerveau est un important consommateur de glucose pour maintenir la polarisation des membranes neuronales et leur excitabilité. Le maintien de l'homéostasie glucidique dépend de l'aptitude du tissu hépatique à stocker le glucose sous la forme d'un polymère, le glycogène, susceptible de redonner du glucose, à distance des apports alimentaires.

Par ailleurs, selon Nordlie et coll., (1999), le foie possède la capacité de synthétiser du glucose à partir d'un vaste panel de substances provenant de la digestion ou d'autres métabolismes (néoglucogénèse), permettant de pallier les capacités limitées de stockage du glycogène au cours du jeûne nocturne ou prolongé. Ces phénomènes sont sous le contrôle hormonal hypoglycémiant (insuline) et hyperglycémiant (catécholamine et glucagon).

### **-Glycogénogénèse**

Le glycogène est un polysaccharide formé d'unités de glucose reliées par des liaisons  $\alpha$ -1,4 glycosidiques. Des branchements  $\alpha$ -1,6 existent tous les quatre à six résidus de la chaîne linéaire. Sa structure est proche de celle du polyoside de réserve existant dans les plantes, l'amidon. Le glucose pénètre dans le foie par diffusion facilitée faisant intervenir un transporteur de forte capacité ; il s'agit du transporteur-détecteur des sucres dans l'intestin (GLUT-2) qui n'est saturé qu'à des concentrations supraphysiologiques de glucose et qui assure également la sortie du glucose de l'hépatocyte. Il est transformé en glucose-6-phosphate par la glucokinase, enzyme inductible par un régime riche en carbohydrates, dont l'activité, à la différence des hexokinases présentes dans les autres tissus est importante uniquement lorsque le taux de glucose est élevé (environ 10 mM). La

synthèse de ce dernier nécessite l'activation du glucose-1-phosphate par l'uridine triphosphate (UTP). La glycogène synthétase additionne les molécules de glucose ; elle est l'enzyme régulatrice de la synthèse du glycogène (glycogénogenèse). La synthèse de glycogène hépatique a lieu pendant et immédiatement après les repas, lors de la capture hépatique du glucose arrivant par la veine porte. Comme de nombreuses activités de synthèse, celle-ci nécessite de l'énergie chimique sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) et est contrôlée par l'insuline sécrétée lors des repas. Cette hormone inhibe l'activation de la glycogène phosphorylase et active l'enzyme limitante de la synthèse de glycogène (glycogène synthétase) par le biais de protéines phosphatases. Pour la synthèse, le glucose de l'alimentation doit être activé sous forme d'uridine diphosphate (UDP) glucose, riche en énergie. La glycogène synthétase crée la liaison  $\alpha$ -1,4 glycosidique entre une nouvelle unité glucose et le glycogène en formation, allongeant la molécule d'une unité successivement. Les branchements en  $\alpha$ -1,6 requièrent une enzyme branchante qui transfère environ sept unités glucose sur un carbone C6 du polymère en formation (McGeown, 2003).

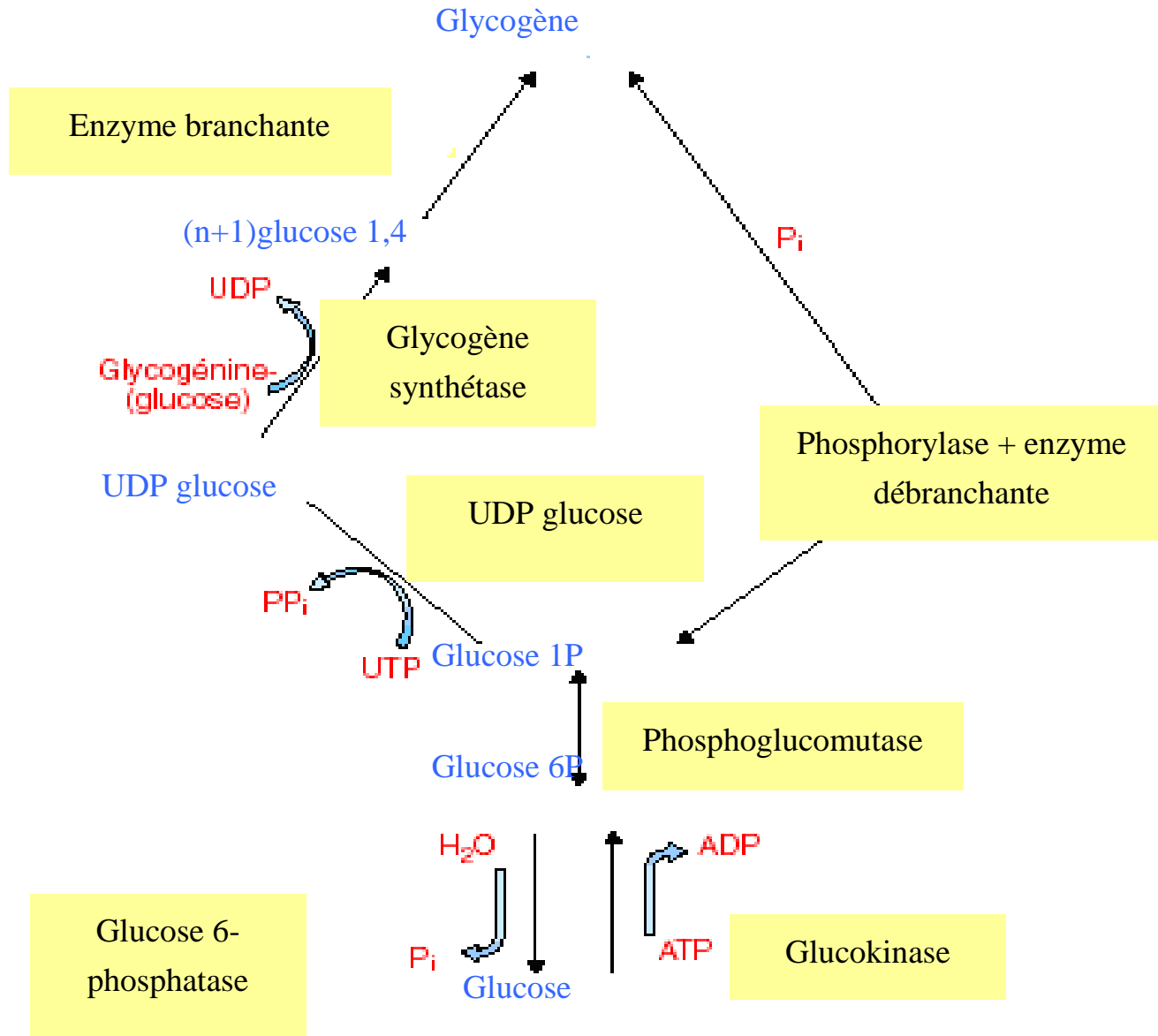
### **-Glycogénolyse**

La dégradation du glycogène (glycogénolyse) s'opère *via* l'action d'une glycogène phosphorylase qui coupe les liaisons  $\alpha$ -1,4 tandis que les liaisons  $\alpha$ -1,6 sont hydrolysées par une enzyme débranchante (figure 4).

La glycogénolyse hépatique est activée en réponse à un besoin de glucose (à distance des repas ou en réponse au stress) à l'aide d'une médiation hormonale impliquant principalement le glucagon pancréatique, l'adrénaline médullosurrénalienne et le cortisol. Ces hormones induisent finalement la stimulation du glycogène phosphorylase (Jiang et coll., 2003).

La dégradation du glycogène est assurée par une glycogène phosphorylase qui produit du glucose-1-phosphate en présence de phosphate inorganique. Les branchements  $\alpha$ -1,6 sont hydrolysés par une enzyme débranchante.

Le glucose-6-phosphate est soit orienté vers la glycolyse pour des besoins énergétiques, soit vers la fabrication du glycogène. Le foie synthétise le glycogène après un apport alimentaire de carbohydrates et le dégrade durant les périodes de jeûne (Jiang et coll., 2003).



**Figure 4 : Synthèse (glycogénogenèse) et dégradation (glycogénolyse) du glycogène hépatique (Jiang et coll., 2003)**

## - Néoglucogenèse

Lorsque le stock de glycogène hépatique est bas, la néoglucogenèse est essentielle pour le maintien des taux de glucose circulants. Cette situation survient pendant le jeûne ou la restriction alimentaire (8-10 h en moyenne après le repas) ; la néoglucogenèse est relativement lente à atteindre une activité optimale et requiert une source d'énergie qui provient du catabolisme des acides gras libérés du tissu adipeux. Le glucose peut être synthétisé à partir d'un large panel de molécules : acide lactique produit dans les tissus hypoxiques ou ne possédant pas de mitochondries (globules rouges par exemple), glycérol ou acide propionique provenant des triglycérides du tissu adipeux, aminoacides dits glucoformateurs provenant du catabolisme musculaire, oses différents du glucose d'origine alimentaire par exemple le fructose provenant du saccharose ou du galactose du lait (Leiter et coll., 2005).

### ▪ Déroulement du processus de néoglucogénèse

D'une façon générale, la néoglucogenèse est la synthèse de glucose par les voies opposées à celles de la glycolyse. Plus précisément, pour des raisons énergétiques, trois étapes de la glycolyse ne sont pas réversibles (glucokinase, phospho-fructokinase et pyruvate kinase) et nécessitent des voies alternatives.

Pour court-circuiter la pyruvate kinase, le foie utilise la pyruvate carboxylase mitochondriale et la phosphoénolcarboxykinase cytoplasmique. Pour éviter la phospho-fructokinase, le foie emprunte la route de la fructose-1,6-biphosphatase, tandis que la glucokinase de la glycolyse est remplacée par la glucose-6-phosphatase dans la néoglucogenèse (figure 5). La néoglucogenèse se réalise à partir des précurseurs les plus fréquents (en vert sur la figure 5). Pour reconstituer du glucose pendant les périodes de jeûne prolongé (le glycogène étant épuisé), le foie, mais aussi les reins, utilisent les réactions de la glycolyse, mais en sens inverse. Les enzymes en rouge sur la figure 5 sont des enzymes spécifiques de la néoglucogenèse qui court-circuitent les étapes non réversibles de la glycolyse.

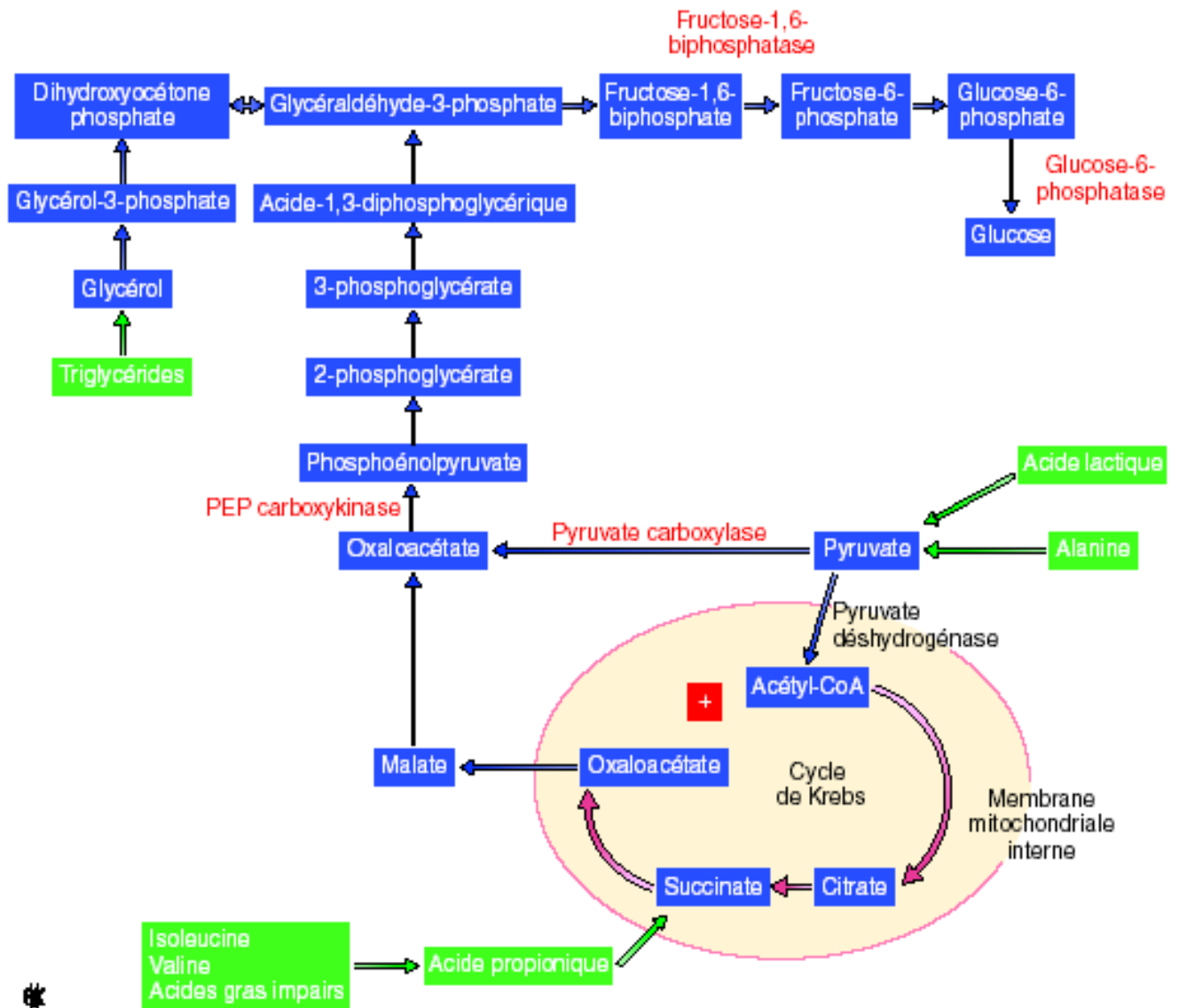


Figure 5 : Glycolyse/ Néogluco-genèse dans le tissu hépatique (Jiang et coll., 2003)

### ▪ Mécanisme de régulation de la néoglucogénèse

Le contrôle de la néoglucogénèse s'exerce au niveau des étapes spécifiques (en rouge). L'insuline stimule la glycolyse et inhibe la néoglucogénèse, faisant chuter le taux de glucose circulant. A l'inverse, le glucagon (une autre hormone peptidique d'origine pancréatique) stimule la néoglucogénèse et diminue la glycolyse. L'adrénaline produite pendant le stress et les glucocorticoïdes stimulent également la néoglucogénèse (Jiang et coll., 2003).

Le fructose-1,6-biphosphate, synthétisé sous le contrôle du glucagon, est un inhibiteur allostérique de la fructose-1,6-biphosphatase. La déficience de cette enzyme induit des hypoglycémies et une acidose sévère dans les premiers jours de la vie.

La néoglucogénèse est aussi régulée dans la mitochondrie par le taux d'acétyl-CoA provenant de la dégradation des acides gras stimulée par le glucagon. L'acétyl-CoA est un inhibiteur de la pyruvate déshydrogénase et un activateur allostérique du pyruvate carboxylase, ce qui favorise la néoglucogénèse (Jiang et coll., 2003).

### ▪ Effet aigu de l'ingestion d'un repas protéique sur la production endogène de glucose

L'ingestion de protéines est susceptible de favoriser la production endogène de glucose : les acides aminés stimulent la sécrétion de glucagon et le catabolisme des acides aminés augmente la disponibilité de substrats néoglucogéniques. Cependant, chez le sujet sain et diabétique de type II, l'ingestion d'un repas exclusivement composé de protéines ne provoque pas d'augmentation de la glycémie, qui est maintenue à sa valeur physiologique normale. De fait, la mesure directe de l'efflux hépatique de glucose par cathétérisation de la veine hépatique démontre l'absence d'augmentation de la production hépatique nette de glucose (PHG) en réponse à l'ingestion de protéines (Wahren et coll., 1986). La mesure de la synthèse d'urée indique toutefois une augmentation du catabolisme des acides aminés, suggérant



une augmentation de leur utilisation pour la néoglucogenèse (Tappy et coll., 2000).

### ▪ **Métabolisme du galactose et du fructose**

Le galactose du lait (lactose = galactose + glucose) et le fructose de l'alimentation (saccharose = fructose + glucose) sont métabolisés essentiellement par le foie. L'essentiel du fructose est phosphorylé par la fructokinase dans le foie et les reins en fructose-1-phosphate qui est ensuite clivé par l'aldolase B (distincte de l'aldolase A qui clive le fructose-1,6-diphosphate de la glycolyse) en dihydroxyacétone phosphate et glycéraldéhyde métabolisé par la glycolyse ou la néoglucogenèse. Le déficit en fructokinase conduit à la fructosurie essentielle avec présence de fructose (sucre réducteur) dans les urines. Le déficit en aldolase B provoque l'intolérance héréditaire au fructose entraînant nausées, vomissements et hypoglycémies. Les altérations hépatiques sont attribuées à l'accumulation de fructose-1-phosphate (Campbell et coll., 2005).

Le galactose est phosphorylé par la galactokinase en galactose-1-phosphate qui réagit avec l'uridine diphosphate (UDP) glucose pour former l'UDP galactose grâce à la galactose-1-phosphate uridylyltransférase. C'est cette enzyme qui fait défaut dans la plupart des cas de galactosémie congénitale. Cette maladie autosomale récessive entraîne l'accumulation de galactose et de galactose-1-phosphate après l'ingestion de lait. Les patients non traités développent une cirrhose hépatique et une cataracte (Campbell et coll., 2005).

### ▪ **Synthèse du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogéné (NADPH) et du ribose-5-phosphate par le circuit des pentoses phosphates**

Le circuit des pentoses phosphates est un élément relativement mineur du métabolisme des carbohydrates par rapport à ceux que nous venons d'évoquer. Cette séquence métabolique est située entièrement dans le cytosol cellulaire et synthétise deux composés importants : le NADPH et le

ribose-5-phosphate (Tozzi et coll., 2006). Le ribose-5-phosphate est le précurseur de la biosynthèse des nucléotides puriques et pyrimidiques. Le circuit des pentoses phosphates libère une molécule de dioxyde de carbone pour chaque molécule de glucose-6-phosphate oxydée. Le métabolisme des pentoses phosphates est minime dans le muscle et le cerveau dans lesquels la presque totalité du glucose est dégradée par la glycolyse. En revanche, ce métabolisme est actif dans les tissus réalisant des synthèses importantes (foie, tissu adipeux, cortex médullosurrénalien ou glande mammaire en lactation) ou particulièrement exposés ou sensibles aux espèces réactives de l'oxygène par exemple les globules rouges (figure 6).

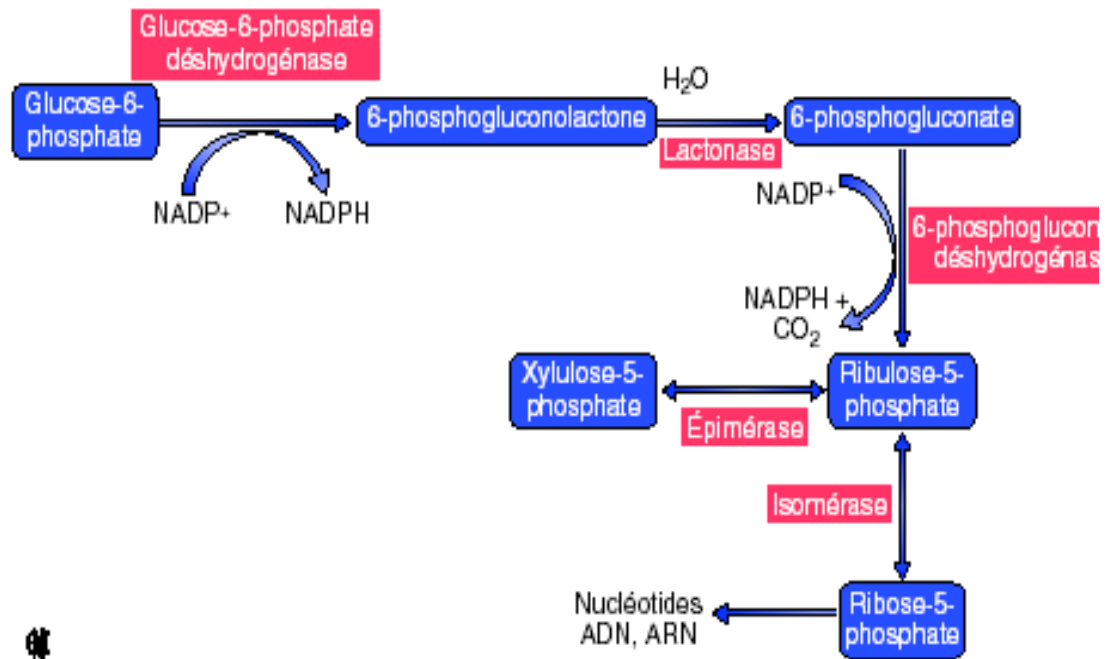


Figure 6 : Synthèse du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogené (NADPH) et du ribose-5-phosphate par le circuit des pentoses phosphates (Tozzi et coll., 2003)

## ▪ Métabolisme hépatique des lipides

Après les repas, des particules volumineuses de lipides (appelés lipides circulants) apparaissent dans le sang. Ils disparaissent en fin de digestion pour se fixer dans le foie et les autres tissus où ils constituent des réserves. Les lipides se présentent sous trois formes : des graisses simples, formées par l'association des molécules d'acides gras et de glycérol, des esters de stérols, composés de molécules d'acides gras et des dérivés du cholestérol, des lipides complexes qui participent à la constitution des lipoprotéines. Ils diffèrent par la longueur de leurs molécules, leurs différents composants, les acides gras qu'ils contiennent, ainsi que par leur structure chimique.

Les acides gras sont des molécules de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Les acides gras saturés sont formés de liaisons carbone-carbone simples et sont contenus essentiellement dans les matières grasses d'origine animale. Dans les acides gras insaturés, présents dans les huiles, on trouve des liaisons doubles sur un ou plusieurs des carbones constituant la molécule. Un acide gras mono-insaturé contient une seule double liaison ; la molécule d'un acide gras poly-insaturé contient plusieurs liaisons doubles (McGown, 2003).

Dans l'organisme, les lipides sont nécessaires pour produire l'énergie et de la chaleur, transporter les vitamines et hormones essentielles au bon fonctionnement de l'organisme. Ce sont également des constituants cellulaires primordiaux qui servent à la protection des organes vitaux (cœur, foie, reins, rate, cerveau, et moelle épinière).

Les viandes contiennent entre 5-30% de lipides, essentiellement des graisses saturées (viandes les plus maigres : cheval et volaille, viandes les plus grasses : mouton, porc et bœuf). Les poissons sont généralement plus maigres (1-10% de lipides). Ils contiennent des lipides poly-insaturés et sont une source importante d'acides gras oméga 3. Les produits laitiers, le

chocolat, la charcuterie et la pâtisserie sont des aliments riches en acides gras saturés (McGown, 2003).

Les œufs contiennent, entre autres matières grasses, du cholestérol. Ils sont déconseillés aux personnes ayant un indice de cholestérol élevé dans le sang. Les huiles végétales contiennent des acides gras insaturés. Elles sont sources d'oméga 6 et dans certains cas (huile de lin, huile de noix, huile de soja) d'oméga 3 (McGown, 2003).

La biosynthèse des acides gras et des lipides répond à deux impératifs dans la cellule :

- fourniture des acides gras nécessaires à la synthèse des lipides de structure

- mise en réserve de l'énergie. Lorsque des aliments sont trop riches et excèdent les besoins de l'organisme, les lipides sont stockés dans les tissus adipeux.

La synthèse des acides gras est entièrement cytosolique alors que leur dégradation par  $\beta$ -oxydation est intramitochondriale. Toute biosynthèse comme la synthèse des lipides nécessite :

- de l'énergie apportée par l'ATP

- du pouvoir réducteur, fourni sous forme de NADPH,  $H^+$  provenant essentiellement et du fonctionnement de la voie des pentoses phosphates

- des précurseurs, le seul précurseur de la synthèse des acides gras est l'acétyl-CoA. L'acétyl-CoA provient de la  $\beta$ -oxydation des acides gras (intramitochondriale), de l'oxydation du pyruvate (mitochondriale) et de la dégradation oxydative des acides aminés dits cétogènes. L'acétyl-CoA, quelle que soit son origine, est formé dans la mitochondrie. Pour servir de précurseur dans le cytosol à la synthèse des acides gras, il doit être transporté de la matrice mitochondriale dans le cytosol. Seul le radical

acétyle est transporté à travers la membrane interne par le système citrate (McGown, 2003).

La vitesse de l'hydrolyse des triglycérides est accélérée par des hormones (adrénaline, noradrénaline, glucagon, cortisol etc) qui activent la triglycéride lipase par phosphorylation catalysée par la protéine kinase A. La libération des acides gras dans le sang, transportés par l'albumine, constitue un signal pour leur utilisation par les tissus périphériques tels que le muscle squelettique et le foie. En même temps, la protéine kinase A phosphoryle et inactive l'acétyl-CoA carboxylase.

L'insuline, par l'intermédiaire de l'activation d'une protéine phosphatase, a des effets antagonistes par rapport aux hormones précédemment citées. L'enzyme, en retirant les groupements phosphates, inhibe la triglycéride lipase (effet antilipolytique) alors qu'elle restitue à l'acétyl-CoA carboxylase son activité (stimulation de la lipogénèse).

On constate que, par l'intermédiaire de la protéine kinase et de la protéine phosphatase, les deux groupes d'hormones assurent une régulation coordonnée de la lipolyse et de la lipogénèse (McGown, 2003).

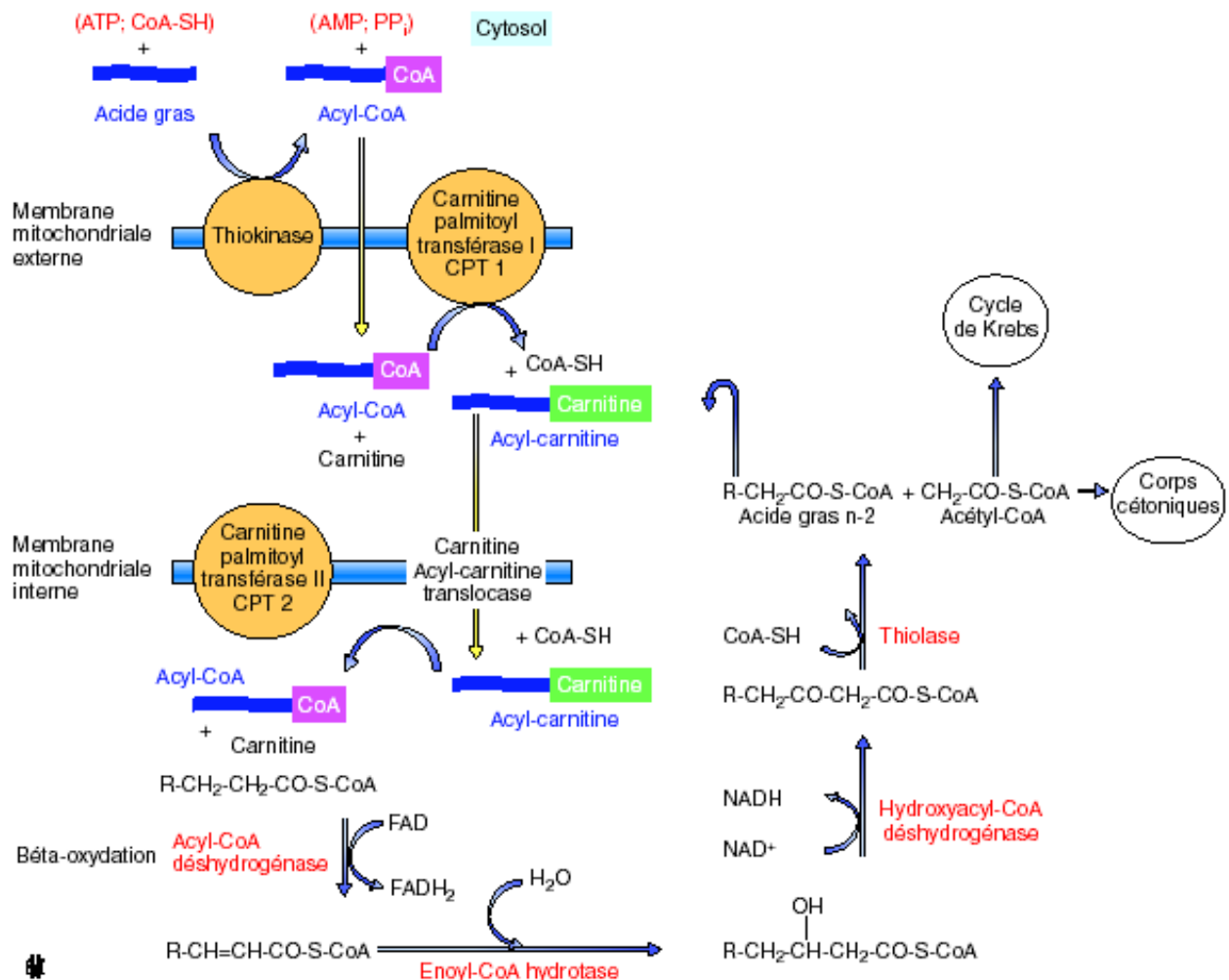
### ➤ **Devenir des acides gras dans les hépatocytes**

Il s'agit des synthèses, d'énergie, des triglycérides, du cholestérol, des phospholipides, du glucose.

- **Synthèse d'énergie**

De même que la dégradation du glucose permet une production d'énergie dans la cellule sous forme d'ATP, la dégradation des acides gras (des lipides) permet aux cellules d'obtenir l'énergie nécessaire à leur survie. Cette dégradation se réalise dans la mitochondrie, selon un ensemble de réactions regroupées sous le terme d'hélice de Lynen (béta-oxydation) des acides gras. A chaque « tour » de l'hélice de Lynen, l'acide gras perd deux carbones, sous la forme d'une molécule d'Acétyl-CoA. Cette molécule d'Acétyl-CoA entre alors dans le cycle de Krebs, d'où une production

d'énergie. La dégradation des lipides permet donc ainsi la synthèse d'une énergie utilisable par la cellule (ATP). Mis à part le cerveau et les érythrocytes, l'oxydation des acides gras par la  $\beta$ -oxydation mitochondriale est une source d'énergie importante. Ces acides gras, sous forme de CoA-thioesters, doivent entrer dans la mitochondrie. Le passage de la membrane externe ne pose pas de problème mais le transport au travers de la membrane interne requiert la carnitine. L'acide gras passe la barrière sous forme d'acylcarnitine, en échange de carnitine libre. L'acylcarnitine est transformée en acyl-CoA ; les transformations en acylcarnitine sont catalysées par deux carnitine palmitoyl transférases. Ensuite, la  $\beta$ -oxydation peut s'effectuer et produit à chaque cycle, du nicotinamide adénine dinucléotide hydrogéné (NADH), de la flavine adénine dinucléotide hydrogéné (FADH)<sub>2</sub> et une molécule d'acétyl-CoA dans la matrice mitochondriale de la plupart des cellules (figure 7) (Parks et Hellerstein, 2001). L'activité du système est surtout dépendante de la disponibilité en acides gras, c'est-à-dire dépend des taux de lipase hormonosensible du tissu adipeux. Le foie possède une forte capacité pour la  $\beta$ -oxydation. Si l'activité du cycle de Krebs est déficiente (diabète en situation d'insulinopénie, jeûne), l'acétyl-CoA formé peut donner lieu à la formation de quantités importantes de corps cétoniques (Reddy et Rao, 2006).



**Figure 7 : Transport des acides gras dans la mitochondrie hépatique et  $\beta$ -oxydation (Parks et Hellerstein., 2006)**



- **Synthèse des triglycérides**

Ils sont synthétisés, à partir d'acides gras et de glycérol, dans les hépatocytes, mais aussi dans les entérocytes et des adipocytes. Ils constituent la réserve lipidique. La synthèse des triglycérides comporte trois étapes. Il s'agit de la formation de l'acide phosphatidique, de la déphosphorylation de ce dernier en diglycéride et de l'estérification de la dernière fonction alcool du glycérol.

L'insuline favorise aussi l'entrée du glucose dans le tissu adipeux, active la glycolyse qui fournit le pyruvate qui sera converti en acétyl-CoA pour la synthèse des acides gras et le glycérol 3-P nécessaire à la formation des triglycérides. En cas d'excès de glucides, l'hormone stimule, à la fois, la pyruvate déshydrogénase et l'acétyl-CoA carboxylase.

- **Synthèse du cholestérol**

Le cholestérol est synthétisé surtout dans le foie, l'intestin et les glandes surrénales (cholestérol endogène). Il provient aussi de l'alimentation (cholestérol exogène). Il est présent au sein des membranes cellulaires, et représente la matière première des hormones stéroïdiques et des sels biliaires.

Les sels biliaires sont solubles dans l'eau, et solubilisent le cholestérol lui-même ; ils traversent le pôle biliaire de l'hépatocyte, et passent ensemble dans la bile. Dans la lumière intestinale, les sels biliaires et le cholestérol émulsionnent les lipides qui peuvent alors être attaqués par la lipase pancréatique. Le cholestérol alimentaire et le cholestérol biliaire sont également absorbés par les entérocytes : ceci boucle le cycle entéro-hépatique du cholestérol. Les sels biliaires restés dans la lumière intestinale constituent les agents principaux de l'élimination du cholestérol en excès.

L'insuline stimule aussi la synthèse du cholestérol. Elle active les protéines phosphatases aussi bien dans le foie que dans les adipocytes. Dans ces conditions, la 3-hydroxy 3-méthyl glutaryl-CoA (HMG CoA)

réductase, activée par déphosphorylation, prédomine dans les cellules hépatiques et oriente la synthèse vers le cholestérol alors que la lipase est inhibée dans les adipocytes.

- **Phospholipides**

Le foie synthétise des phospholipides, qui servent de ciment entre les triglycérides, le cholestérol, et leurs protéines de transport. La synthèse des triglycérides et celle des phospholipides utilisent les mêmes étapes enzymatiques jusqu'au niveau du diacylglycérol. En ce qui concerne les phospholipides, des réactions spécifiques permettent de fixer l'alcool (choline, éthanolamine, inositol) qui va déterminer la nature du phospholipide ; par exemple la phosphatidylcholine, un des phospholipides essentiels des membranes et des lipoprotéines qui est synthétisée à partir du diacylglycérol et de la choline dans le réticulum endoplasmique (Gustafson et coll., 1966).

- **Synthèse du glycogène**

Les cellules de l'organisme peuvent avoir besoin de synthétiser des acides gras, composants essentiels des membranes biologiques. Les cellules humaines sont ainsi capables de synthétiser des acides gras à partir du glucose. Ceci permet aussi un stockage de réserves énergétiques sous forme de lipides, qui peuvent être stockés en plus grandes quantités par l'organisme que les glucides stockés sous forme de glycogène. Cette synthèse nécessite un passage par la mitochondrie. L'acide gras en formation est allongé, par ajouts successifs de deux carbones, grâce à des molécules de malonyl-CoA, réaction qui peut être réversible.

- **Synthèse des corps cétoniques**

La céto-genèse est une voie métabolique uniquement présente dans les cellules hépatiques. Les enzymes de cette voie métabolique sont toutes situées dans la matrice mitochondriale. En période de jeûne sévère, ou lorsque le glucose ne peut pénétrer dans les cellules (cas des diabètes

sucrés insulino-dépendants en non insulino-dépendants), les cellules hépatiques produisent et libèrent dans le plasma le glucose synthétisé lors de la néoglucogenèse. L'ATP nécessaire aux cellules hépatiques est fournie par le catabolisme des acides gras libres. Lorsque les besoins cellulaires en ATP sont satisfaits (inhibition par l'ATP de l'isocitrate déshydrogénase), ainsi que lors de la diminution de la concentration en oxaloacétate (précurseur important de la néoglucogenèse), le cycle de Krebs est inactivé. Les résidus acétyl activés sous forme d'acétyl-CoA produits lors de la bêta-oxydation sont convertis en corps cétoniques. Le premier corps cétonique formé est l'acétoacétate. A partir de l'acétoacétate, les deux autres corps cétoniques sont élaborés. Les corps cétoniques sont produits par les cellules hépatiques en grande quantité en période de jeûne prolongé ou de diabète. Ils diffusent dans le plasma et ont des devenir distincts selon le corps cétonique considéré. L'acétone, molécule très volatile, est éliminée dans l'air par les poumons. Elle confère aux diabétiques une odeur de l'haleine très caractéristique. L'acétoacétate et le bêta-hydroxybutyrate sont transportés dans le plasma jusqu'aux tissus extra-hépatiques, notamment le tissu cardiaque et le tissu nerveux. Dans ces tissus, ils peuvent être catabolisés pour permettre la production d'ATP. Dans le cas des cellules nerveuses, cela ne se produit que dans le cas d'un jeûne prolongé, car les cellules nerveuses sont strictement glucose dépendantes. Les corps cétoniques sont retrouvés dans le plasma et conduisent à une acidose sévère. Une acidose importante conduit à un coma généralement mortel. L'acétoacétate et le bêta-hydroxybutyrate peuvent être éliminés dans les urines. Leur recherche en laboratoire d'analyses médicales est un élément de diagnostic d'un diabète sucré (McGown, 2003).

- **Transport des lipides : les lipoprotéines**

Les lipides étant insolubles dans l'eau, ils doivent être pris en charge par des molécules de transport, dans la lymphe des chylifères intestinaux et dans le sang, c'est-à-dire entre l'intestin et le foie, et entre le foie et le reste de l'organisme. Les lipoprotéines sont chargées de ce transport humoral ; ce sont des macromolécules en suspension dans le milieu plasmatique, de

volume variable, et constituées par un noyau de cholestérol, éventuellement entouré de triglycérides et de phospholipides, le tout emballé dans une gangue protéique polarisée et hydrosoluble. Ces protéines sont des apoprotéines ; elles sont synthétisées dans le foie et dans l'intestin selon leur type (A, B, C, D, E).

Les lipoprotéines sont globulaires ; les plus volumineuses (diamètre de 750 à 1000 nm) sont les plus riches en triglycérides ; elles se forment dans l'intestin, et se destinent au foie et au tissu adipeux : ce sont les chylomicrons (5 pour cent de protéines seulement). C'est le foie qui produit les lipoprotéines VLDL et HDL, tandis que les lipoprotéines LDL et IDL proviennent des modifications de VLDL.

Les VLDL (very low density lipoproteins) sont plus petites que les chylomicrons et plus riches en apoprotéines : elles transportent les triglycérides du foie vers les tissus périphériques.

Les LDL (low density lipoproteins) et les IDL (intermediate density lipoproteins) ont perdu leurs triglycérides. Les LDL distribuent leur cholestérol aux tissus périphériques, et les IDL reviennent au foie, ou bien redeviennent LDL par échange de protéines.

Les HDL (high density lipoproteins) ont un diamètre de 7 à 10 nm ; elles transportent du cholestérol en excès de la périphérie vers le foie, sous forme d'esters de cholestéryle. Elles contiennent 50 pour cent de protéines.

Les lipoprotéines sont fixées par l'endothélium vasculaire, où une lipoprotéine-lipase et une diglycéride-lipase libèrent les acides gras, qui peuvent alors pénétrer dans les tissus sous-jacents (adipeux ou musculaire) pour y être stockés ou utilisés.

Ces transferts sont tributaires de la présence de récepteurs spécifiques, spécialement au niveau des membranes hépatocytaires (Chapman, 1980).

- **Métabolisme des protéines**

Une protéine est une molécule comportant de l'azote et composée d'une séquence d'acides aminés (au nombre de 20) reliés par des liaisons peptidiques. La séquence détermine la structure primaire de la protéine ; la configuration de la chaîne peptidique dans l'espace détermine les structures secondaires et tertiaires, l'association de plusieurs chaînes peptidiques détermine la structure quaternaire. Par convention, une protéine comportant moins de cinquante acides aminés est appelée peptide. La taille d'une protéine est extrêmement variable, de quelques centaines à plusieurs millions de kilo-daltons. De même, les protéines ont de très nombreuses fonctions : protéines de structure (collagène), protéines contractiles (myosine), protéines de transport (albumine), protéines immunitaires (immunoglobulines), protéines enzymatiques, hormones, récepteurs. Malgré ces structures et fonctions très variables, toutes les protéines ont en commun une propriété, leur renouvellement permanent.

Le renouvellement des protéines musculaires représente environ 20% du renouvellement protéique total, celui du foie environ 10% (la masse hépatique est très inférieure à la masse musculaire mais ses protéines sont renouvelées beaucoup plus rapidement), les protéines de la peau et du tube digestif constituant les deux autres participants importants (environ 15% chacun). Ces pourcentages indicatifs varient en fonction de l'âge et probablement de l'espèce (Bourgelat, 1993).

- **Biosynthèse du foie et catabolisme hépatique des protéines**

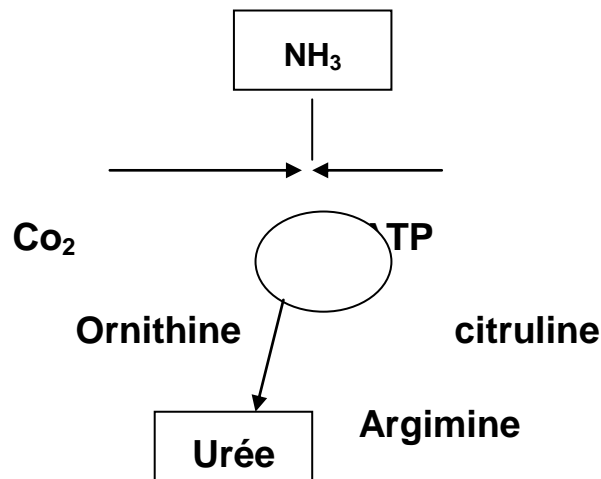
Contrairement aux glucides et aux lipides, il n'existe pas de forme de stockage des acides aminés. Ce sont les protéines viscérales (en particulier musculaires) qui fournissent, avec les protéines de l'alimentation, les aminoacides nécessaires à la synthèse protéique. Ces aminoacides peuvent aussi produire de l'énergie, soit directement, soit par le biais de la formation de glucose (néoglucogénèse). Le foie joue un rôle primordial dans la

synthèse et le catabolisme protéique, d'une part du fait de son rôle dans la synthèse de nombreuses protéines plasmatiques et d'autre part dans la détoxification de l'ammoniaque provenant de la dégradation des acides aminés qui aboutit à la synthèse de l'urée (Gabay, 2006).

### ➤ Synthèse de l'urée

Le foie reçoit la totalité des acides aminés d'origine alimentaire ainsi que ceux provenant du constant renouvellement des protéines tissulaires.

Certains subissent une dégradation (néoglucogénèse, lipogénèse, fourniture d'énergie) et perdent leur fonction amine qui est transformée en urée (azoté non protéique) dans le cycle de Krebs et Henseleit. Les déchets azotés provenant des autres tissus sont fixés sur l'acide alpha céto-glutarique pour former l'acide glutamique, puis la glutamine (forme de transport) : ils aboutissent soit au foie pour former de l'urée soit aux reins où ils sont éliminés sous forme d'ammoniaque (figure 8). Le foie est le lieu exclusif de formation de l'urée. Cette fonction qui se maintient pendant très longtemps au cours des affections hépatiques est dépendante de nombreux éléments extra-hépatiques et ne donne pas lieu à des épreuves fonctionnelles spécifiques. Le dosage de l'ammoniémie peut être intéressant et délicat (Fouet, 1978).



**Figure 8 : Synthèse de l'urée selon Fouet (1978)**

➤ **Synthèse des protéines plasmatiques par le foie**

Les protéines plasmatiques comprennent le groupe des albumines. Il s'agit de la pré-albumine, du retinol binding protein, de l'albumine ou sérum-albumine et du groupe des globulines (alpha1 globulines, orosomucoïde ou alpha 1 glycoprotéine acide, alpha 2 globulines, bêta gammaglobulines). Elles jouent un rôle dans l'homéostasie corporelle, dans le transport des hormones, des lipides, des métaux et des médicaments.

Elles ont une fonction anti-protéasique, hémostatique et immunitaire. Les albumines sont solubles et les globulines sont insolubles.

- **Alpha 1globulines**

On y rencontre l'alpha 1 antitrypsine et l'orosomucoïde ou alpha 1 glycoprotéine acide.

- **Alpha 1 antitrypsine**

C'est une protéine positive de la réaction inflammatoire. Elle présente une action antiprotéasique. Elle s'oppose à l'action des protéases qui sont des enzymes protéolytiques. C'est le constituant principal des alpha 1 globulines. Elle représente 90%. C'est une glycoprotéine qui présente 10 à 12% de glucides ; sa synthèse est hépatique et sa demi-vie biologique est de cinq jours. Elle présente un grand polymorphisme génétique.

- **Orosomucoïde ou alpha 1 glycoprotéine acide**

C'est une protéine à caractère très acide. C'est une glycoprotéine avec 40% de glucides. La synthèse et le catabolisme sont hépatiques. C'est une protéine de la phase aiguë de la réaction inflammatoire et elle aide au transport plasmatique de la progestérone et de certains médicaments.

- **Alpha 2 globulines**

On y trouve l'haptoglobine, la 1' α 2 macroglobuline, la céruloplasmine.

- **Haptoglobine**

C'est une protéine de la réaction inflammatoire ; son taux peut s'effondrer au cours des hémolyses intra-vasculaires. Elle comporte 19% de glucides. La synthèse de cette protéine est surtout hépatique et la demi-vie biologique est de trois à cinq jours. Le catabolisme se fait dans les hépatocytes et dans les macrophages. Elle se combine avec l'hémoglobine. En cas d'hémolyse, l'hémoglobine libérée est captée par l'haptoglobine et la fixation est irréversible ; le complexe hémoglobine-haptoglobine est donc épuré dans le système réticulo-endothélial. Ce complexe a des propriétés peroxydasiques. La synthèse de l'haptoglobine est stimulée dans les états comportant des destructions tissulaires avec hémolyse et libération d'hémolyse.



## - 1' α 2 macroglobuline

C'est une protéine assez abondante dans le sérum, pouvant former des complexes avec diverses protéases. Elle augmente peu dans le syndrome inflammatoire mais beaucoup au cours du syndrome néphrotique. La synthèse de cette protéine se réalise dans le foie et dans le système réticulo-endothélial. Elle peut se lier avec diverses molécules : ions hormones surtout l'insuline. Elle possède un rôle anti-protéasique avec des endopeptidases et d'autres protéines circulantes comme la plasmine, la pepsine, la trypsine, la chymotrypsine, la cathepsine (Fouet, 1978).

- $\gamma$  globulines

Les  $\gamma$  globulines ou immunoglobulines sont des anticorps. Ce sont des protéines animales glycosylées (glycoprotéines). Elles sont présentes dans le plasma, les autres liquides biologiques et les sécrétions. Ce sont les agents de l'immunité humorale. Elles sont synthétisées par des cellules spécifiques qui sont dans la moelle osseuse ; il s'agit des plasmocytes qui dérivent des lymphocytes B activés. Cette synthèse est secondaire au contact de l'organisme avec une substance étrangère appelée antigène ou immunogène. Ces anticorps sont produits et sécrétés dans la circulation générale. La réponse immunitaire est spécifique ; une immunoglobine (Ig) est spécifique de l'antigène (Ag) qui a déclenché sa synthèse. La spécificité est le plus souvent absolue. On remarque l'extraordinaire hétérogénéité de Ig en ce qui concerne la structure générale (Fouet, 1978).

- Albumine

Elle participe au maintien de la pression oncotique du plasma. C'est la protéine du plasma ; elle représente 55-60% des protéines totales. C'est une haloprotéine dont la taille est relativement faible et dont la structure est unipeptidique et globulaire. Elle possède une fonction thiol sur un résidu cystéine libre. Ceci participe à la fixation possible de différents ligands comme les métaux, les halogènes, les acides gras, les stéroïdes, les

colorants, les médicaments. Le pH isométrique de cette protéine est bas ; ceci explique pourquoi elle migre rapidement à l'électrophorèse. La synthèse de l'albumine est active (10 à 12 g/l), principalement au niveau du foie ; son espace de diffusion est le secteur vasculaire et le secteur extra-vasculaire ; sa demi-vie biologique est de 15 à 19 jours. Le catabolisme de l'albumine est effectué dans tous les tissus par pinocytose et hydrolyse dans les lysosomes par le biais des enzymes protéolytiques. Dans l'intestin, il existe un phénomène physiologique de transudation (exsudation normale de plasma au niveau de l'épithélium digestif). Cette exsudation est exagérée dans l'entéropathie exsudative. Elle est non filtrée par le rein et se traduit en pathologie par une albuminurie. Le foie produit aussi des protéines de coagulation ; cet aspect est développé plus loin au niveau de la vitamine K. (Fouet, 1978).

#### ▪ **Métabolisme hormonal**

Le foie, en plus le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines intervient efficacement dans le métabolisme hormonal. A cet effet, il est fortement impliqué dans le métabolisme de la vitamine D. La vitamine D doit être considérée comme une hormone car elle est en grande partie synthétisée par la peau, véhiculée par le sang, transformée par le foie et le rein en métabolite actif, le calcitriol, et agit sur des récepteurs spécifiques pour augmenter la calcémie ; sa synthèse est régulée par la calcémie.

Les formes actives de la vitamine D sont le calcifédiol et surtout le calcitriol. Ils ont comme précurseurs, le cholécalciférol ou la vitamine D3 et le calciférol ou ergocalciférol ou encore vitamine D2. Le cholécalciférol a une origine endogène et exogène. Le cholécalciférol peut être synthétisé par la peau, sous l'influence des rayons ultra-violet, à partir du cholestérol après sa transformation en 7-déhydrocholestérol. Il peut aussi être apporté par l'alimentation. L'ergostérol, provitamine D, apporté par l'alimentation ou sous forme de médicament, est métabolisé en ergocalciférol puis en cholécalciférol (Fouet, 1978).

Dans le foie, le cholécalférol est transformé en calcifédiol ou 25-(OH)D<sub>3</sub>, qui passe dans la circulation. Cette hydroxylation nécessite de l'oxygène et du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). Dans le rein, au niveau des cellules tubulaires, le calcifédiol est hydroxylé en calcitriol ou 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Cette hydroxylation est assurée par un complexe enzymatique, cytochrome P-450-flavoprotéine-ferrodoxine, en présence d'oxygène et de NADPH. L'activité de ce complexe est régulée. Elle est augmentée quand la concentration de la vitamine D, de calcium ou de phosphate diminue. Elle est influencée par la PTH, la prolactine et les oestrogènes. Elle est inhibée par la prise d'une forte dose de vitamine D. La demi-vie plasmatique du calcitriol est d'environ cinq heures. Le calcitriol est catabolisé par la transformation en acide calcitroïque et par conjugaisons.

La vitamine D agit sur le métabolisme phosphocalcique mais aussi sur la différenciation et la prolifération cellulaires. Le calcitriol favorise l'élévation de la calcémie et de la phosphatémie, essentiellement en augmentant l'absorption digestive de calcium et de phosphate, et accessoirement en augmentant leur mobilisation à partir de l'os et en réduisant leur excrétion rénale. La vitamine D n'exerce correctement son rôle que si l'alimentation apporte une quantité suffisante de calcium et de phosphate.

Le calcitriol agit au niveau nucléaire comme les hormones stéroïdes et thyroïdiennes. Il modifie la synthèse de protéines de transport et les enzymes impliquées dans le métabolisme du calcium et du phosphate. Il induit notamment la synthèse de protéines appelées calbindines qui favorisent l'absorption digestive du calcium en augmentant son passage à travers le cytosol, du pôle apical au pôle basal. L'extrusion du calcium à la partie basale de la cellule épithéliale se fait ensuite grâce à une pompe Ca<sup>2+</sup>/ATP dépendante, à l'échangeur Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> et par exocytose (Fouet, 1978).

Le calcitriol induit la synthèse par les cellules intestinales des phosphatases alcalines qui hydrolysent les polyphosphates non absorbés par le tube digestif en phosphate absorbable. Le calcitriol inhibe la sécrétion de parathormone, d'une manière indirecte en élevant la calcémie et d'une

manière directe en inhibant l'expression du gène responsable de sa synthèse. La déficience en vitamine D entraîne une malabsorption digestive du calcium et du phosphate dont les concentrations, surtout celle du calcium, tendent à s'abaisser dans le plasma, ce qui entraîne une hypersécrétion de PTH qui mobilise le calcium osseux pour maintenir une calcémie subnormale. Cette déficience entraîne ainsi une déminéralisation osseuse avec des symptômes correspondant au rachitisme ou à l'ostéomalacie. L'organisme, en absence de vitamine D, utilise de calcium de l'os pour maintenir une calcémie normale (Lips, 2006)

### **1.1.3.2 Fonction biliaire : Sécrétion et excrétion biliaires**

Le foie excrète par la bile un certain nombre d'éléments : acides, pigments biliaires, cholestérol, dont il faut étudier la sécrétion par le foie et le devenir dans les voies biliaires et l'intestin.

En ce qui concerne les acides biliaires, le foie synthétise à partir du cholestérol les acides dits primaires : cholique et chénodésoxycholique ; ceux-ci sont conjugués dans l'hépatocyte avec la taurine et le glycofolle puis éliminés dans la bile sous forme de sels de sodium. Ils passent ensuite dans l'intestin grêle où 90% sont réabsorbés par la paroi iléale, et retournent au foie : cycle entéro-hépatique. La fraction restante subit dans le caecum l'action de la flore microbienne, est déconjuguée et transformée en acides dits secondaires : désoxycholique d'une part (provenant de l'acide cholique), lithocholique et 7.kétolithocholique d'autre part (acide chénodésoxycholique).

L'acide désoxycholique est pour une faible part éliminé dans les selles et pour le reste retourne au foie où il est conjugué, éliminé dans la bile puis subit à nouveau une réabsorption intestinale, l'action des bactéries coliques et une partielle élimination et réabsorption.

L'acide lithocholique est pour les 4/5<sup>ème</sup> éliminé dans les selles et le 1/5<sup>ème</sup> restant réabsorbé. Le devenir de cet acide a été particulièrement étudié car il est hépatotoxique chez l'animal et son taux augmente lors du

traitement actuel de la lithiase. Chez l'homme, heureusement il subit une sulfatation qui le transforme en dérivé atoxique éliminé dans les selles en plus grande partie.

L'autre dérivé 7.kétolithocholique est transformé au niveau du foie en acide ursodésoxycholique, acide tertiaire qui normalement n'existe qu'en très faible quantité.

Le rôle physiologique des sels biliaires est important. La fraction réabsorbée influe sur la synthèse même des acides biliaires : il y a ainsi une auto-régulation et compensation stricte des pertes ; une quantité obligée d'eau et d'ions accompagne l'excrétion des sels biliaires (action hydrocholérique). Dans la bile, les sels forment des micelles, éléments volumineux composés en leur centre de substance variable (cholestérol, phospholipides), et en périphérie de sels biliaires. Chaque micelle se comporte comme une simple particule, la solution ainsi formée a un faible pouvoir osmotique ce qui est de grande importance pour la vésicule biliaire. Dans l'intestin, ils contribuent à l'absorption des lipides et des vitamines liposolubles en activant la lipase pancréatique et en solubilisant les graisses d'origine alimentaire (Fouet, 1978).

Au sujet du métabolisme de la bilirubine, celle-ci est un pigment biliaire qui provient de la dégradation de l'hémoglobine dans les systèmes de phagocytes monoclues (rate, moëlle osseuse) et parfois dans les cellules de Kupffer du foie en cas d'hémolyse intravasculaire. La bilirubine ainsi produite dite bilirubine libre, circule dans le sang accrochée à l'albumine. Elle parvient au foie où elle sera captée par les hépatocytes et catabolisée dans le réticulum endoplasmique par mono ou biglucuronoconjugaison, avant d'être excrétée sous forme de bilirubine conjuguée dans les canalicules biliaires avec la bile. Elle chemine le long des canalicules, puis les canaux biliaires avant d'être stockée dans la vésicule biliaire. Au cours du repas, la CCKPZ produite par les cellules de l'estomac stimule la contraction de la vésicule biliaire qui vide son contenu dans le duodénum au niveau de l'ampoule de Vater. Sous l'action de la flore intestinale, la bilirubine conjuguée est transformée en urobilinogène ou en stercobilinogène dont 5 à

15% seront réabsorbés par le cycle entérohépatique. Le reste est réduit en urobiline ou stercobiline dans la dernière portion de l'intestin avant d'être éliminé dans les matières fécales en lui donnant la couleur.

Tout facteur susceptible de compromettre la fonction hépatocytaire peut entraîner l'apparition de l'ictère. De même, l'obstruction des canaux biliaires s'accompagne d'ictère et d'une augmentation sérique d'enzyme, notamment la phosphatase alcaline.

La plupart des transporteurs hépatocytaires, cholangiocytaires ou entérocytaires impliqués dans la sécrétion biliaire ont été identifiés ces dernières années ainsi que plusieurs voies de régulation, notamment par les récepteurs nucléaires des acides biliaires (Jansen, 2000).

### 1.1.3.3 Fonctions xénobiotiques ou d'élimination

Les xénobiotiques sont des molécules de faible masse moléculaire étrangères à l'organisme. Il s'agit par exemple des médicaments, des polluants, de l'eau ou de l'atmosphère, des additifs alimentaires mais également de certains composés de certains composés naturels des aliments. Les êtres vivants sont donc obligatoirement exposés à ces composés et doivent être capables de faire face à certaines de leurs propriétés potentiellement délétères, telle que l'hydrophobie, qui ne permet pas leur élimination de l'organisme ou leur réactivité chimique avec certains constituants cellulaires. Compte tenu de la grande diversité et de la nature imprévisible de la structure chimique de ces xénobiotiques, les êtres vivants doivent disposer d'un arsenal diversifié d'enzymes et d'isoenzymes pouvant effectuer un large spectre de réactions chimiques sur des substrats ayant des structures très diverses (Trottier et coll., 2005). Le foie participe largement, avec les intestins et les poumons, à l'élimination des xénobiotiques, particulièrement de ceux qui sont ingérés avec l'alimentation. Généralement les xénobiotiques sont hydroxylés, ce qui peut faire apparaître des substances toxiques ou ayant un intérêt pharmacologique ; ensuite ces métabolites sont conjugués avec une molécule hydrophile qui accroît leur



solubilité dans l'eau et leur fait perdre leurs propriétés biologiques (Trottier et coll., 2005).

Les réactions d'oxydation et d'hydroxylation, qui constituent la phase I des processus d'élimination des xénobiotiques sont catalysées par des mono-oxygénases localisées dans les microsomes qui nécessitent le cytochrome P-450 comme transporteur d'électrons.

Ces réactions ont lieu dans le réticulum endoplasmique de l'hépatocyte. Le cytochrome est au préalable activé par deux électrons apportés par le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogéné (NADPH) (NADPH cytochrome P-450 réductase). La forme oxygénée du cytochrome est très réactive et peut former des époxydes à partir de certains constituants de la fumée du tabac par exemple. Ces époxydes peuvent ensuite causer des mutations ponctuelles sur l'acide désoxyribonucléique (Trottier et coll., 2005).

Les enzymes cytochromes P-450 sont des protéines contenant de l'hème qui cohabite dans la membrane du réticulum endoplasmique «microsomes» ou dans la membrane interne des mitochondries avec la NADPH-cytochrome P-450 réductase.

Il y a actuellement 14 familles de cytochromes P-450 et chaque locus correspondant comporte de multiples allèles. De nombreux membres de ces familles participent au métabolisme lipidique normal, y compris la synthèse des hormones stéroïdes et l'oxydation des acides gras. Pour la détoxification des molécules étrangères, il y a pratiquement un cytochrome P-450 pour métaboliser chaque molécule étrangère à l'organisme. Ces enzymes sont inductibles à la fois par leur propre substrat ou par d'autres xénobiotiques. Des variations alléliques qui affectent l'activité catalytique d'un cytochrome P-450 pourront affecter le métabolisme d'un médicament particulier. D'une façon générale, les maladies hépatiques vont retentir sur l'élimination de nombreux médicaments et les prescriptions médicamenteuses seront prudentes chez ces malades. La tolérance pour des doses croissantes de médicaments (par exemple le phénobarbital) est une fonction directe de

l'inductibilité qu'ils exercent sur les cytochromes P-450 chargés de les détoxifier (Beaune, 1999).

Dans une deuxième phase des réactions de détoxification des xénobiotiques, les substances étrangères ou leurs métabolites sont conjugués à une molécule hydrophile s'ils ne sont pas spontanément éliminés dans l'eau. Ces conjugaisons, selon Trottier et coll., (2005), peuvent avoir lieu avec l'acide glucuronique, avec un sulfate, la glycine, la glutamine ou le glutathion, augmentent la solubilité dans l'eau mais entraînent aussi la perte de toutes fonctions biologiques ou toxiques pour les molécules étrangères (figure 9). Ces produits neutralisent soit un groupement réactif thiol, amine, aldéhyde ou rendent le xénobiotique hydrophile afin de faciliter son élimination par l'organisme. Enfin, si le métabolite obtenu est très hydrophile, il devra être transporté à travers la membrane cellulaire par des protéines de phase III, telles que le transporteur *multidrug related protein* (*mrp*). Cette famille de transporteurs comprend de nombreux membres et s'accroît régulièrement. Le métabolite ainsi produit pourra être éliminé dans la bile ou les urines, soit après le transport dans le sang ou la bile, être métabolisé de nouveau dans d'autres tissus possédant un autre spectre d'enzyme de métabolisme des xénobiotiques (phase IV). Toutes les étapes ne sont pas obligatoires, vu la spécificité du métabolisme de chaque xénobiotique. Les conséquences de ce métabolisme en termes de toxicologie dépendent de facteurs génétiques, environnementaux et physiopathologiques qui vont intervenir dans la susceptibilité individuelle aux xénobiotiques (Beaune, 1999).

Les conséquences pharmacologiques et toxicologiques de ces variations peuvent être de natures diverses :

- voie métabolique de détoxification déficiente (inhibition, déficit génétique)
- augmentation de la production d'un métabolite toxique (induction, duplication du gène)
- vitesse d'élimination accrue (duplication d'un gène, induction)



- pas de production d'un métabolite actif (déficit génétique ou inhibition, en cas de pro-drogue)
- effet thérapeutique accru (surdosage)
- mauvaise élimination du médicament parent
- surproduction du métabolite actif.

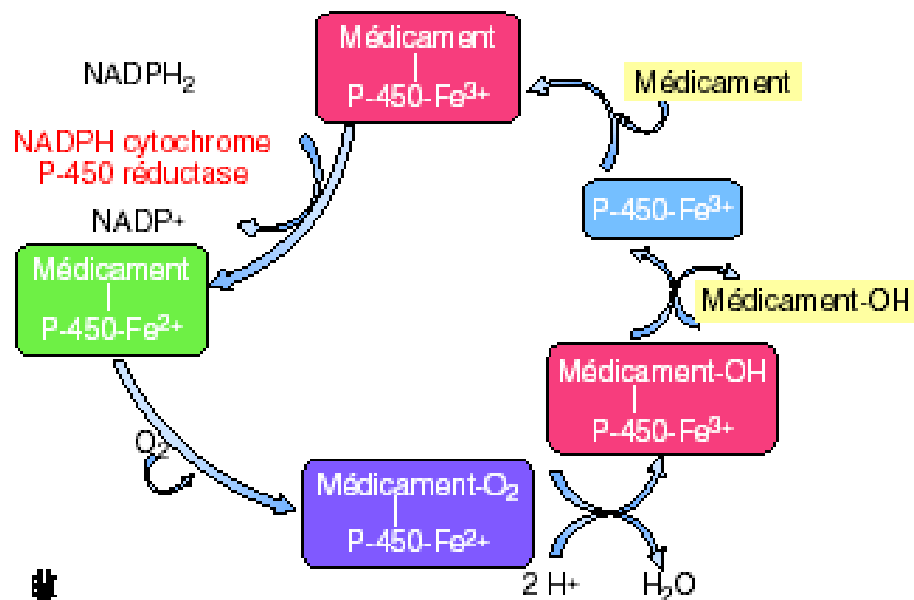


Figure 9 : Hydroxylation des xénobiotiques dans le foie par les cytochromes P-450 (Trottier et coll., 2005)

### 1.1.3.4 Fonctions de stockage : fer, cuivre, vitamines, A, D, B 12, K

Le foie est le lieu de stockage du fer, du cuivre ainsi que de toutes les vitamines liposolubles (A, K, D), B<sub>12</sub> et des oligo-éléments. Le métabolisme de la vitamine D est déjà expliqué au niveau du métabolisme hormonal.

- **Fer**

Le fer d'origine alimentaire et endogène (provenant du catabolisme de l'hème), lié à la ferritine (une protéine synthétisée par le foie), est capté par les hépatocytes et les cellules de Kupffer et mis en réserve dans le foie. En dehors de cette fonction de stockage (environ 500 mg), le foie participe également au transport plasmatique du fer par la synthèse de la transferrine ou sidérophiline. Il utilise le fer pour la synthèse de l'hème (McGeown, 2003).

- **Cuivre**

Le cuivre est utilisé dans de nombreuses réactions de transfert d'électrons dans des métabolismes aussi divers que la respiration mitochondriale, la biosynthèse de mélanine, le métabolisme de la dopamine, la formation du tissu conjonctif ou la défense contre les radicaux oxydants, etc. Dans les conditions normales, le cuivre de l'alimentation est capturé par le foie dans le sang de la veine porte et est incorporé pour une petite partie dans la céruléoplasmine, une ferroxidase qui contient 95 % du cuivre plasmatique. La majeure partie du cuivre est excrétée dans la bile. Plusieurs protéines sont impliquées dans le transport du cuivre au travers de l'hépatocyte dont le *copper transporter 1* (Ctr1), des métallothionéines et des metallochaperones qui délivrent le cuivre aux protéines spécifiques (McGeown, 2003).

- **Vitamine A**

La vitamine A ou rétinol, d'origine animale (esters de rétinol) ou végétale (caroténoïdes), est transportée par les chylomicrons après son absorption digestive puis captée par les hépatocytes, couplée à la *retinol binding protein* (RBP), sécrétée dans les espaces extrahépatocytaires, puis captée et stockée dans les cellules d'Ito (McGeown, 2003).

- **Vitamine K**

La vitamine K est une vitamine liposoluble apportée par l'alimentation, en particulier par certains légumes verts : brocolis, épinards, le thé vert, le foie. Elle intervient dans la coagulation sanguine. Elle est synthétisée par la flore microbienne intestinale ; absorbée dans l'intestin grêle, elle gagne l'hépatocyte où elle subit dans les microsomes un cycle d'oxydation réduction. Le foie utilise la vitamine K pour la synthèse des facteurs VII, IX et X, ainsi que des protéines C et S (Berkner et Runge, 2004).

La forme réduite de la vitamine K (naphtohydroquinone) sert de cofacteur à une carboxylase qui transforme neuf à douze résidus acide glutamique (Glu) en acide-carboxyglutamique (Gla) dans la région N-terminale des protéines vitamine-K dépendantes. Celles-ci peuvent alors se fixer aux phospholipides acides des membranes cellulaires en présence de  $Ca^{2+}$ .

Les protéines de coagulation incluent les facteurs de coagulation et les inhibiteurs physiologiques de la coagulation. Une protéine membranaire présente dans la tunique externe du vaisseau, le facteur tissulaire, est l'élément déclenchant le processus de coagulation suite à une lésion vasculaire. Les réactions de la coagulation sont caractérisées par la formation de complexes enzymatiques amarrés sur des surfaces, que l'on retrouve à toutes les étapes. En solution, les enzymes de la coagulation ont une faible affinité pour leur substrat. Les réactions deviennent plus rapides si l'enzyme et le substrat sont fixés sur une surface phospholipidique et atteignent leur vitesse optimale grâce à des interactions protéine-protéine:

un cofacteur protéique se lie d'une part aux phospholipides membranaires et d'autre part protège les enzymes de leur inhibiteur naturel, l'antithrombine, qui ne pourra interagir avec les enzymes (Fouet, 1978).

Les douze facteurs de coagulation sont, pour la majorité, désignés par des chiffres romains. Ex : prothrombine = Facteur II (F. II). Une fois activés, les facteurs de coagulation portent leur nom suivi du suffixe « a ». Ex : Facteur Xa (F. Xa) désigne le facteur X activé. Ils sont regroupés en différentes catégories, selon leur structure et leur fonction. Les facteurs II, VII, IX et X d'une part, les facteurs XI, XII d'autre part, sont les zymogènes de serine protéases, enzymes protéolytiques. Le F. XIII est le zymogène d'une transglutaminase, enzyme établissant des liaisons covalentes entre deux protéines. Le F. V, le F.VIII et le kininogène de haut poids moléculaire n'ont pas d'activité enzymatique mais jouent le rôle de cofacteur. Pour acquérir cette fonction, les F. V et VIII doivent être au préalable activés par protéolyse. Le fibrinogène est le substrat final des réactions de coagulation : protéine soluble, il est transformé en fibrine insoluble par la thrombine.

Toutes les protéines plasmatiques de la coagulation sont synthétisées dans l'hépatocyte avant d'être sécrétées dans la circulation, à l'exception du TFPI, produit par l'endothélium vasculaire. Le foie joue donc un rôle clé dans le maintien d'une hémostase normale. Toutefois, certaines des protéines de la coagulation ne sont pas exclusivement produites par le foie, mais aussi par d'autres organes : c'est le cas pour le F. VIII, produit également par la rate et le poumon, et pour la protéine S, produite également par l'endothélium vasculaire. Immédiatement après sa sécrétion dans la circulation, le F. VIII se lie au Facteur Willbrand (FW) qui le protège de la dégradation (Fouet, 1978).

Les protéines vitamine K-dépendantes (F. II, VII, IX et X, protéines C et S) subissent dans l'hépatocyte les modifications post-traductionnelles qui sont indispensables à l'acquisition de leur activité fonctionnelle. Les antagonistes de la vitamine K (AVK), médicaments utilisés pour la prévention des thromboses ou de leur extension, bloquent le cycle d'oxydation-réduction de la vitamine K et empêchent donc la carboxylation : les facteurs

vitamine K-dépendants ne se fixent plus aux phospholipides membranaires et ne sont donc plus fonctionnels.

Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation appartiennent à trois familles. Il s'agit des inhibiteurs de serine protéases et du tissue factor pathway inhibitor (TFPI). Les inhibiteurs de serine protéases ou serpins forment des complexes irréversibles avec leur(s) enzyme(s) cible(s). Elles incluent l'antithrombine (AT), le cofacteur II de l'héparine (HCII), et plus accessoirement l' $\alpha$ 1-antitrypsine et le C1-inhibiteur. L'AT et le HCII ont la particularité de posséder dans leur région N-terminale des structures qui leur permettent de se fixer sur certains glycosaminoglycanes, qui accélèrent considérablement leur interaction avec leur(s) enzyme(s) cible(s). Le système de la protéine C fait intervenir deux récepteurs membranaires (thrombomoduline et EPCR) et deux protéines plasmatiques, la protéine C (zymogène d'une serine protéase) et la protéine S (son cofacteur). Il régule la coagulation par protéolyse. Le tissue factor pathway inhibitor (TFPI) appartient à la famille des inhibiteurs de type Kunitz, c'est-à-dire des inhibiteurs qui se présentent comme de faux substrats vis-à-vis de leurs enzymes cibles. Il se fixe aux glycosaminoglycanes de la paroi vasculaire. Le facteur tissulaire (FT) n'est pas une protéine plasmatique mais une protéine membranaire, synthétisée de façon constitutive par les fibroblastes présents dans la tunique externe (adventice) des vaisseaux. Il est distribué de façon très particulière, formant une enveloppe hémostatique autour de l'arbre vasculaire, séparé du sang par l'endothélium mais prêt à intervenir en cas de lésion du vaisseau. Inséré dans la bicouche lipidique des membranes des cellules qui l'expriment, le FT est à la fois l'initiateur de l'activation de la coagulation sanguine et un vrai récepteur. La fixation du facteur VII sur le FT et son activation déclenchent des signaux intracellulaires et des réponses qui participent au remodelage de la paroi vasculaire (Fouet, 1978).

La protéine C est un inhibiteur de la coagulation par inactivation du Facteur Va et du Facteur VIIIa. Elle est activée par la thrombine et nécessite la protéine S comme cofacteur. C'est une peptidase vitamine K dépendante codée par le gène 2q13-q14. Un déficit en protéine C provoque un état

d'hypercoagulabilité. Il en est de même en cas de résistance du Facteur V à la protéine C, maladie génétique nommée Facteur V Leiden. La protéine S est une protéine plasmatique importante dans la fibrinolyse par son action de cofacteur de la protéine C. Elle est synthétisée par le foie et joue aussi un rôle dans l'apoptose. Un déficit en protéine S provoque un état d'hypercoagulabilité (Fouet, 1978).

- **Vitamine B12**

La vitamine B12 n'existe que très peu ou pas dans le monde végétal. L'organisme humain ne fait pas la synthèse de la vitamine B12. Dans la nature, cette synthèse est effectuée par des bactéries, des champignons inférieurs et des algues. Les herbivores seraient capables d'assimiler la vitamine B12 produite par les bactéries dans leur estomac. Les carnivores s'approvisionnent en dévorant les herbivores. La viande, le poisson, le lait et les œufs sont les principales sources de vitamine B12 pour l'homme. La vitamine B12 alimentaire est absorbée par un processus en plusieurs étapes. Dans le milieu acide de l'estomac, elle est séparée du substrat alimentaire par les pepsines gastriques. Elle se lie alors à des protéines dont elle se libère dans le duodénum sous l'effet des protéases pancréatiques. Elle peut alors s'associer au facteur intrinsèque, une glycoprotéine de liaison sécrétée par les cellules pariétales de l'estomac. Le complexe de vitamine B12 et de facteur intrinsèque parcourt tout l'intestin grêle avant d'être absorbé sous cette forme dans la partie terminale de l'iléon. L'assimilation de la vitamine B12 est compromise lorsque l'un des mécanismes ci-dessus fait défaut, par exemple lorsque l'estomac ne produit pas de facteur intrinsèque.

La vitamine B12 semble reposer sur son intervention dans la synthèse de la protoporphyrine libre des hématies et dans la transformation de l'acide folique en acide folinique. La vitamine B12 intervient dans la synthèse de la thymidine, substance importante pour le métabolisme des nucléotides qui joue un important rôle dans l'édification du noyau des cellules et donc dans la réplication cellulaire. Elle est indispensable à l'entretien des épithéliums et de la myéline (McGeown, 2003).

- **Oligo-éléments**

Les oligo-éléments sont des composants du corps animal. Ils existent en petites quantités dans l'organisme. On évalue leur présence à moins de 1 milligramme par kilogramme de poids. Ils participent aux processus de constitution des tissus, d'élaboration des hormones et enzymes, de régulation des mouvements d'eau et de l'excitabilité neuromusculaire. Par ailleurs, l'organisme doit être suffisamment pourvu en oligo-éléments pour intégrer efficacement les glucides, lipides, protides et vitamines. Leur rôle est fonctionnel. Ils ne sont pas source d'énergie. Ils sont éliminés en permanence par les reins et doivent être apportés régulièrement par l'eau de boisson et la nourriture. Les aliments les plus riches en oligo-éléments sont essentiellement d'origine végétale. Cependant, certains aliments d'origine animale peuvent en comporter également (McGeown, 2003).

#### **1.1.4 Altérations hépatiques d'origine médicamenteuse**

Les effets secondaires induits par les médicaments, en particulier au niveau du foie, constituent un problème majeur de pathologie médicale. En dépit des progrès importants en toxicologie et malgré la qualité croissante des essais cliniques en matière de sécurité, la fréquence des altérations hépatiques d'origine médicamenteuse n'a pas décrû au cours des dix dernières années. La toxicité hépatique reste la première cause de décès d'origine iatrogène et de retrait des médicaments du marché pour l'industrie pharmaceutique. Les lésions hépatiques induites par les médicaments sont extrêmement variées. Toutes les cellules présentes dans le foie peuvent être affectées par les médicaments (Itoh et coll., 1987).

Les médicaments peuvent entraîner une maladie hépatique aiguë, subaiguë ou chronique comme pour les hépatites virales. L'hépatite chronique survient quand les lésions hépatiques se développent silencieusement ; quand la prescription de l'agent responsable impliqué dans l'atteinte hépatique aiguë n'a pas été reconnue et que son administration est poursuivie ; quand l'agent responsable a été interrompu mais est réadministré ultérieurement avant la guérison complète ; quand le processus



aboutissant à l'atteinte hépatique persiste malgré l'arrêt de l'administration de l'agent responsable ; cette situation arrive avec des médicaments dont le stockage tissulaire est très important du fait de leur lipophilie permettant ainsi un relargage très prolongé dans la circulation systémique malgré l'arrêt de l'administration du médicament.

#### **1.1.4.1 Aspects épidémiologiques de l'hépatotoxicité médicamenteuse**

L'épidémiologie de l'hépatotoxicité des médicaments reste peu documentée en dépit de la création de départements de pharmacovigilance dans la plupart des pays depuis une vingtaine d'années. Il n'existe que très peu d'études évaluant la prévalence relative de l'hépatotoxicité des médicaments comparée aux autres causes d'hépatopathie. On estime que les médicaments sont responsables de 15 à 20 % de toutes les causes d'hépatites fulminantes ou subfulminantes dans les pays occidentaux et d'environ 10 % au Japon. Le risque d'hépatite fulminante est de 20 % chez les patients avec hépatite médicamenteuse, ce qui est vingt fois supérieur au risque observé chez des patients atteints d'hépatite aiguë virale. De plus, chez 70 % des patients avec hépatite médicamenteuse et encéphalopathie, la maladie a souvent une évolution subfulminante (McIntyre et Rosalki, 1993). Pour les maladies chroniques du foie telles l'hépatite chronique ou la cirrhose, les médicaments sont rarement incriminés; ils ne représentent qu'environ 1 % de toutes les causes confondues. Les agents chimiques, les herbes médicinales, les drogues tels que la cocaïne et certaines amphétamines en voie veineuse sont parfois mises en cause (Valla, 1995).

Les statistiques de l'hépatotoxicité due à la prise de médicaments sont mal établies dans les pays en développement.

#### **➤ Diagnostic de l'hépatotoxicité médicamenteuse**

Le lien de causalité est analysé essentiellement sur des bases chronologiques et des critères cliniques différentiels permettant d'éliminer d'autres causes et de démontrer le rôle du médicament suspecté.



Critères d'évaluation : critères chronologiques, critères cliniques, critères d'élimination et critères négatifs, critères positifs

- **Critères chronologiques**

Le premier critère est l'intervalle entre le début du traitement suspecté et le début de l'atteinte hépatique. Cela varie beaucoup. Le délai est considéré comme suggestif lorsqu'il est compris entre une semaine et trois mois. Une durée plus courte, d'un à deux jours par exemple, peut être observée chez des patients qui ont été préalablement exposés à l'agent impliqué et qui ont été ainsi sensibilisés. Un délai compris entre trois mois et un an reste compatible, mais est moins évocateur. Un délai supérieur à un an est rare et rend le rôle du médicament peu probable pour les cas d'hépatite aiguë, à moins d'avoir d'autres arguments très solides. Le second critère est la disparition des anomalies hépatiques après arrêt du traitement. Ce critère est très subjectif lorsque les signes cliniques disparaissent en quelques jours et quand les transaminases diminuent de plus de 50 % en une semaine. Le troisième critère est la rechute des anomalies hépatiques après une réadministration accidentelle du médicament causal. Cela constitue un excellent critère diagnostique. Cependant, cette réexposition ne doit pas être réalisée volontairement car elle peut être extrêmement dangereuse, surtout pour les hépatites immuno-allergiques. En effet, la réadministration d'un simple comprimé du médicament causal peut parfois occasionner une hépatite fulminante mortelle (Valla, 1995).

- **Critères cliniques**

Les critères (d'élimination, négatifs, positifs) sont basés, d'une part, sur l'exclusion des autres causes qui pourraient expliquer l'atteinte hépatique et, d'autre part, sur la présence de signes cliniques qui orientent vers une cause médicamenteuse.

- **Critères d'élimination et critères négatifs**

Les caractères analytiques varient beaucoup selon le type d'atteinte hépatique. Pour les hépatites aiguës, situation la plus fréquente, il est particulièrement important de rechercher un antécédent de maladie hépatique ou biliaire, une consommation excessive d'alcool ou des circonstances épidémiologiques compatibles avec une infection virale ; par exemple la toxicomanie, la transfusion sanguine, l'intervention chirurgicale récente, le voyage dans un pays d'endémie. Les examens sérologiques appropriés doivent être réalisés, notamment pour les principales hépatites virales A, B, C, D, E (Valla, 1995).

Il est également important de rechercher une ischémie hépatique liée à un dysfonctionnement cardiaque ou une baisse de tension particulièrement chez les personnes âgées ou ayant un risque cardio-vasculaire. Cette atteinte hépatique différentielle est très largement méconnue et risque d'impliquer à tort le médicament. L'obstruction biliaire doit être également écartée par échographie ou autre examen approprié. En effet, il est fréquent qu'au cours d'une migration lithiasique, les transaminases augmentent à plus de dix fois la normale simulant une hépatite aiguë. Il faut également éliminer une hépatite auto-immune ou une cholangite, certaines hépatites bactériennes aiguës notamment *Campylobacter*, à *Salmonella*, et à *Listeria*. Enfin, chez les sujets jeunes, il faut éliminer la maladie de Wilson qui est due à une intoxication par le cuivre (Valla, 1995).

- **Critères positifs**

La présence d'anticorps spécifiques de certaines hépatites médicamenteuses, particulièrement les anticorps anti-mitochondries de type 6 avec l'isoniazide et les anticorps anti-cytochrome P450 2E1 avec halothane constituent des marqueurs diagnostics importants. Les analyses médicamenteuses dans le sang ou dans les tissus peuvent être également utiles, par exemple pour le paracétamol et les surdosages en vitamines A. La présence de manifestations d'hypersensibilité, bien qu'incomplètement spécifique, constitue un argument positif, non seulement pour le rôle d'un

médicament, mais également en faveur d'un mécanisme immuno-allergique. Finalement, une biopsie hépatique peut être contributive au diagnostic lorsqu'elle montre la présence de dépôt de médicament ou de lésions suggestives d'une réaction médicamenteuse, par exemple, une stéatose micro-vésiculaire, un infiltrat éosinophile ou des lésions centrolobulaires, ou le tout associé (Diehl, 1988).

#### 1.1.4.2 Facteurs de risque et mécanisme d'action

L'hépatotoxicité des médicaments peut être favorisée par différents facteurs :

- le jeûne et la dénutrition qui diminuent les capacités de détoxication (baisse du glutathion) ;
- l'induction enzymatique qui peut augmenter la transformation d'un autre médicament en métabolite réactif par exemple la rifampicine et l'isoniazide ou l'alcoolisme chronique et le paracétamol;
- les facteurs génétiques : une faible capacité d'acétylation par exemple avec les sulfamides et l'hydralazine, la déficience en P450 2D6 avec le perhexiline ; une déficience de la capacité d'oxydation de la méphénytoïne liée au P450 2C19 ; une déficience dans les mécanismes de détoxication des métabolites réactifs avec l'halothane, la phénytoïne et les sulfamides. La toxicité est le plus souvent due à la transformation des médicaments en des métabolites réactifs toxiques principalement par les cytochromes P450 hépatiques. Habituellement, ces métabolites réactifs peuvent induire la nécrose hépatique à laquelle fait suite une réaction inflammatoire (hépatite) puis provoquer des cas de cytolyse hépatique et des tumeurs.

La cytolyse hépatique s'accompagne de la libération dans le milieu extracellulaire puis dans le sang d'enzymes normalement présentes dans les cellules du foie dont les plus importantes en biochimie clinique sont les transaminases sériques (aminotransférases) : alanine aminotransférase ou transaminase glutamique pyruvique (TGP), aspartate aminotransférase

(ASAT) ou transaminase glutamique oxaloacétique (TGO). L'augmentation sérique d'autres enzymes traduisent une nécrose hépatique : l'Arginase chez l'homme, le rat, le chien, les ruminants et l'OCT chez toutes les espèces (Kaneko et coll., 1989). Lorsque ces mécanismes sont insuffisants, les métabolites réactifs peuvent se lier de façon covalente sur certains constituants des hépatocytes et entraîner la mort cellulaire en interférant avec l'homéostasie cellulaire ou en déclenchant des réactions immunologiques. La toxicité peut être aussi liée à une apoptose de l'hépatocyte c'est-à-dire à la mort programmée cellulaire.

### **1.1.4.3 Caractères anatomocliniques des hépatites médicamenteuses**

Les hépatites médicamenteuses sont principalement des hépatites d'évolution aiguë. Cependant certains médicaments peuvent provoquer des hépatites subaiguës à chroniques.

#### **➤ Hépatites médicamenteuses aiguës**

Les hépatites aiguës sont classées en trois groupes selon des critères biochimiques tenant à une augmentation sérique de l'ALAT, de la PAL et de leur rapport. Les critères lésionnels distinguent les hépatites cytolytiques, les hépatites choléstatiques et les hépatites mixtes.

#### **• Atteintes hépatiques cytolytiques**

Elles sont définies par une augmentation de l'ALAT supérieure à deux fois la limite supérieure de la normale sans augmentation des phosphatases alcalines ou par un rapport R supérieur à 5. Ce type d'atteinte hépatique n'a généralement pas de caractère spécifique et ressemble beaucoup aux hépatites aiguës virales par exemple. L'atteinte hépatique peut être asymptomatique ou bien révélée par des symptômes non spécifiques tels qu'une asthénie, une anorexie, des vomissements et des douleurs abdominales modérées associées ou non à un ictère.

Le principal caractère anatomo-pathologique est la nécrose hépatocytaire généralement associée à un infiltrat inflammatoire lobulaire. Plusieurs centaines de médicaments peuvent entraîner ce type d'hépatite. Ces hépatites graves ont une évolution spontanée très défavorable avec une fréquence de décès de l'ordre de 90 à 95%. Les principaux médicaments responsables d'hépatite grave sont le paracétamol, l'halothane, l'isoniazide, la pyrazinamide, les sulfamides, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les antidépresseurs tricycliques. Les atteintes hépatiques aiguës cytolytiques évoluent parfois de façon insidieuse vers une hépatopathie chronique (Capron, 1989).

- **Atteintes hépatiques aiguës cholestatiques**

Elles sont caractérisées par une augmentation des phosphatases alcalines, isolée à plus de deux fois la limite supérieure de la normale sans anomalies de l'ALAT ou par un rapport R inférieur à 2. Ce type d'atteinte recouvre deux sous-types de cholestase hépatocytaire aiguë à savoir la cholestase pure et l'hépatite cholestatique vraie.

- + Cholestase pure**

La symptomatologie clinique complète de la cholestase pure associe un ictère, un prurit, une décoloration des selles et des urines foncées. L'ictère et le prurit peuvent manquer. Le diagnostic repose alors sur les anomalies biochimiques et l'histologie hépatique. En plus de l'augmentation des phosphatases alcalines, les autres anomalies biologiques comprennent une augmentation de la bilirubine conjuguée, une hypercholestérolémie, une augmentation de la concentration des acides biliaires et de l'activité de la gamma-glutamyltransférase (GGT). Les lésions histo-pathologiques hépatiques sont constituées d'un dépôt granulaire brunâtre de bilirubine dans les hépatocytes prédominant dans la zone centrolobulaire. Les canalicules sont plus ou moins dilatés et contiennent des pigments biliaires. La cholestase pure est observée principalement avec des dérivés hormonaux comme les contraceptifs oraux, les oestrogènes et les androgènes (Guérin, 2005).

### **+ Hépatite cholestatique vraie**

Ce sous-type est beaucoup plus fréquent. En plus des caractères de la cholestase pure, on peut observer des douleurs abdominales parfois très intenses, de la fièvre, des frissons et des manifestations d'hypersensibilité. Le syndrome clinique peut simuler une obstruction aiguë des voies biliaires ceci notamment avec les phénothiazines, les macrolides, l'amineptine et la carbamazépine. Les constatations histo-pathologiques sont celles d'une cholestase pure auxquelles il faut associer fréquemment une discrète nécrose hépatocytaire, un infiltrat inflammatoire fait de cellules mononucléées et parfois d'éosinophiles dans les espaces portes et dans les zones nécrosées. Les principaux médicaments sont les phénothiazines, les macrolides, les antidépresseurs tricycliques et les AINS. Rarement, une cholestase chronique peut survenir avec la destruction progressive des petits canaux biliaires. Les hépatites cholestatiques sont généralement attribuées à des mécanismes immuno-allergiques. Ceci est renforcé par l'observation de plusieurs cas d'hépatotoxicité croisée entre médicaments ayant des structures chimiques voisines par exemple, entre différents dérivés des phénothiazines, entre antidépresseurs tricycliques, entre érythromycine et troléandomycine, entre différents dérivés des sulfamides bactériens ou hypoglycémiantes ou entre dérivés des fibrates (Guérin, 2005).

### **+ Atteintes hépatiques aiguës mixtes**

Ce terme décrit les atteintes hépatiques aiguës dans lesquelles l'ALAT et les phosphatases alcalines sont toutes deux augmentées avec un rapport R compris entre 2 et 5. Les manifestations cliniques, biologiques et histopathologiques associent celles observées au cours des hépatites cytolytiques et cholestatiques. L'ictère est souvent présent. L'évolution vers une hépatite fulminante est exceptionnelle. Les médicaments responsables d'atteinte hépatique mixte sont principalement les anti-dépresseurs tricycliques, les AINS, les macrolides, les antibiotiques, les bêtalactamines. Les mécanismes impliqués dans les atteintes hépatiques mixtes paraissent être principalement de type immuno-allergique (Guérin, 2005).

#### **1.1.4.4 Hépatites médicamenteuses subaiguës à chroniques**

La nécrose hépatocytaire prolongée peut entraîner une hépatite subaiguë ou une hépatite chronique. Les principaux médicaments responsables de ces lésions sont l'amiodarone, l'iproniazide, le méthotrexate, la méthyldopa, la nitrofurantoïne, la papavérine et la vitamine A (Anne, 2005).

##### **➤ Caractères anatomo-cliniques des hépatites subaiguës à chroniques**

- **Hépatites subaiguës**

Les manifestations cliniques et biochimiques persistent ou même s'aggravent en quelques semaines après le début de l'ictère. Une ascite, une encéphalopathie, une hypoalbuminémie, une hypoprothrombinémie peuvent apparaître. Sur le plan histo-pathologique, il existe des lésions ayant différents stades d'évolution des lésions aiguës, des lésions secondaires constituées par une nécrose en pont reliant deux espaces portes ensemble ou un espace porte à une veine centrolobulaire, des lésions tardives suggestives d'un processus chronique avec une fibrose et un infiltrat inflammatoire dans les espaces portes et même, dans certains cas, des nodules de régénération. L'hépatite subaiguë survient principalement lorsque l'administration du médicament responsable a été poursuivie en dépit de la survenue d'une atteinte hépatique symptomatique (Anne, 2005).

##### **- Hépatites granulomateuses**

Elles sont caractérisées par la présence de granulomes non caséux dans le lobule et dans les espaces portes. Les granulomes peuvent être associés à une nécrose hépatocytaire ou une cholestase. Les hépatites granulomateuses peuvent être complètement asymptomatiques. Quand les granulomes sont nombreux, il peut y avoir une hépatomégalie, un ictère, voire un prurit. Biologiquement, il existe une augmentation de l'activité



sérique des phosphatases alcalines et de la GGT. Les transaminases sont généralement normales ou très peu augmentées. Il existe fréquemment des manifestations d'hypersensibilité associées. Le diagnostic repose sur l'examen histopathologique. Les principaux médicaments responsables d'hépatites granulomateuses sont l'allopurinol, la carbamazépine, la phénylbutazone, la quinidine, l'hydralazine, la dapsonne, les sels d'or, la nitrofurantoïne et les sulfamides (Guérin, 2005).

- **Hépatites chroniques**

Généralement, les symptômes sont absents ou non spécifiques pendant une longue période. Les transaminases sériques sont augmentées ainsi que la concentration sérique des gammaglobulines. Les anomalies histologiques consistent en une nécrose hépatocytaire périportale, une inflammation et une fibrose portale qui peuvent s'étendre toutes deux dans le parenchyme périphérique (Anne, 2005).

- **Cirrhoses**

Les manifestations cliniques sont très variables. La cirrhose peut être découverte fortuitement et être asymptomatique. Au contraire, elle peut être révélée par un ictère, une ascite, une encéphalopathie hépatique, une hépatomégalie ou des complications de l'hypertension portale. L'activité sérique des transaminases est modérément augmentée. L'hypoalbuminémie et l'hypoprothrombinémie sont fréquentes. Histologiquement, la cirrhose est caractérisée par une destruction de l'architecture lobulaire, une fibrose extensive et des nodules de régénération. Ces lésions peuvent être associées à celles d'une hépatite subaiguë ou d'une hépatite chronique (Rouès et coll., 1994).

- **Stéatoses hépatiques**

Elle est définie par l'accumulation de lipides, principalement des triglycérides, dans les hépatocytes. On en distingue la stéatose macro-



vésiculaire et celle microvésiculaire ayant des caractères cliniques et pronostics différents.

### **- Stéatose macro-vésiculaire**

Elle est caractérisée par la présence d'une gouttelette de graisse, unique et de grande taille, refoulant le noyau en périphérie de l'hépatocyte. Les stéatoses macrovacuolaires modérées sont asymptomatiques. Lorsque les lésions sont étendues, un ictère, des douleurs abdominales et une hépatomégalie peuvent être observés. Les transaminases et la gammaglutamyltranspeptidase sont modérément augmentées. La stéatose macrovacuolaire isolée n'a pas de caractère de gravité en soi. Les principaux médicaments en cause sont les corticostéroïdes, le méthotrexate et l'asparaginase. La stéatose macrovacuolaire pourrait être liée à une atteinte de l'excrétion des lipides à partir du foie (Causse et coll., 1995).

### **- Stéatose micro-vésiculaire**

Elle s'oppose point par point à la stéatose macrovacuolaire. La lésion est semblable à celle observée dans le syndrome de Reye (affecte le foie et le cerveau) et consiste en de multiples petites gouttelettes lipidiques dans l'hépatocyte sans déplacement du noyau. Les stéatoses micro-vésiculaires peuvent être isolées, comme avec les tétracyclines, ou bien associées à d'autres lésions hépatiques, notamment une nécrose, comme pour l'acide valproïque. Les stéatoses micro-vésiculaires modérées sont habituellement asymptomatiques. L'activité sérique des transaminases et la concentration de la bilirubine sont modérément augmentées. Quand les lésions sont étendues, on peut observer une insuffisance hépatocellulaire, une hypoglycémie et un coma avec une évolution fatale. Les principaux médicaments responsables sont les cyclines, surtout administrées par voie intraveineuse à forte dose, l'acide valproïque, les salicylés et, moins fréquemment, l'amineptine et les AINS comme le kétoprofène et l'ibuprofène. La stéatose micro-vésiculaire est probablement liée à une inhibition de la bêta-oxydation mitochondriale des acides gras par le médicament en cause (Martin et Feldmann, 1983).

## ➤ Ictère

C'est un jaunissement de la peau, des conjonctives et d'autres tissus, dû à l'augmentation des concentrations de bilirubine circulante.

Un ictère modéré est au mieux décelé par l'examen des conjonctives à la lumière du jour, mais il est normalement détectable lorsque la concentration de bilirubine augmente au-delà de la normale.

### • Métabolisme de la bilirubine

Le catabolisme de l'hème produit les pigments biliaries ; les sources comprennent l'hémoglobine provenant de la destruction des globules sénescents et des érythroblastes dans la moelle osseuse, et les protéines héminiques du foie et d'autres tissus. Il ne semble pas y avoir de synthèse directe de la bilirubine à partir des précurseurs de l'hème. La bilirubine, un anion organique pigmenté étroitement apparenté aux porphyrines et autres tétrapyrroles, est un déchet insoluble. Pour être excrétée, elle doit être convertie en substance hydrosoluble ; cette transformation est le stade essentiel du métabolisme de la bilirubine, qui comprend 5 étapes principales.

#### - Formation

Environ 250 à 350 mg de bilirubine sont formés quotidiennement ; 70 à 80 % proviennent de la dégradation des globules rouges sénescents. Les 20 à 30 % restants (la bilirubine précocement marquée) proviennent d'autres protéines héminiques situées principalement dans la moelle osseuse et le foie. La fraction hème de l'hémoglobine est dégradée en fer et en un produit intermédiaire, la biliverdine, par une enzyme, l'hème oxygénase. Une autre enzyme, la biliverdine réductase, convertit la biliverdine en bilirubine. Ces étapes prennent place essentiellement dans les cellules du système réticulo-endothélial (monocytes/macrophages). L'accentuation de l'hémolyse des globules rouges est la cause la plus importante d'augmentation de la synthèse de la bilirubine. Une production accrue de bilirubine précocement marquée survient dans certains troubles hématologiques avec érythropoïèse inefficace, mais elle ne se traduit habituellement par aucun signe clinique.

### **-Transport plasmatique**

A cause de la présence de ponts hydrogènes intra-moléculaires, la bilirubine n'est pas hydrosoluble. La bilirubine non conjuguée (« indirecte ») est donc transportée dans le plasma liée à l'albumine et ne peut traverser la membrane glomérulaire ; de ce fait, elle n'apparaît pas dans l'urine. Cette liaison est affaiblie dans certaines situations (p. ex. l'acidose), et quelques substances entrent en compétition au niveau des sites de liaison (p. ex. certains antibiotiques et salicylés).

### **- Captation hépatique**

Le mécanisme de captation de la bilirubine par le foie et le rôle des protéines de liaison intracellulaire (p. ex. ligandine et protéine Y) ne sont pas clairs. La captation de la bilirubine est rapide et fait probablement appel à un mécanisme de transport actif, mais ne comprend pas la captation de l'albumine liée (Fouet, 1978).

### **- Conjugaison**

La bilirubine libre est concentrée dans le foie, puis conjuguée avec l'acide glucuronique pour former le diglucuronide de bilirubine, ou bilirubine conjuguée (« directe »). Cette réaction, catalysée par une enzyme microsomale, la glucuronyltransférase, rend le pigment hydrosoluble. Dans certaines circonstances, la glucuronyltransférase ne forme que le monoglucuronide de bilirubine, la deuxième molécule d'acide glucuronique étant ajoutée au niveau des canalicules biliaires par un autre système enzymatique, mais la plupart des spécialistes ne considèrent pas encore comme normale, du point de vue physiologique, cette dernière réaction. Des conjugués de la bilirubine autres que le diglucuronide sont également formés ; leur signification est incertaine (Fouet, 1978).

### **- Excrétion biliaire**

La bilirubine conjuguée est sécrétée dans le canalicule biliaire avec d'autres constituants de la bile. D'autres anions organiques et certains médicaments peuvent affecter ce mécanisme complexe. Dans l'intestin, le pigment est déconjugué et réduit par la flore bactérienne pour former divers

composés appelés stercobilinogènes. La plupart d'entre eux sont éliminés dans les selles et sont responsables de leur coloration brunâtre ; des quantités importantes sont absorbées et excrétées de nouveau dans la bile, et de petites quantités sont éliminées dans les urines sous forme d'urobilinogène. Le rein peut excréter le diglucuronide de bilirubine, mais pas la bilirubine non conjuguée. Cela explique la coloration foncée des urines, typique de l'ictère par insuffisance hépato-cellulaire ou par cholestase, tandis que l'ictère hémolytique ne s'accompagne pas d'élimination urinaire de bilirubine.

Toute perturbation de l'une de ces étapes peut provoquer un ictère. L'augmentation de la synthèse, le défaut de captation hépatique, ou la diminution de la conjugaison peuvent provoquer une hyperbilirubinémie non conjuguée. Un obstacle à l'excrétion biliaire provoque une hyperbilirubinémie conjuguée. En pratique, les maladies hépatiques et l'obstruction biliaire provoquent des troubles multiples, aboutissant à une hyperbilirubinémie mixte. De plus, lorsque la bilirubine conjuguée se déverse dans le plasma, une fraction se fixe fortement de façon covalente à l'albumine sérique. Cette fraction liée à l'albumine peut échapper aux examens de routine, mais constitue souvent une fraction importante de la bilirubine circulante, en particulier pendant la période de rémission de l'ictère.

Ainsi, dans la plupart des cas de maladie hépatobiliaire manifeste, le dosage des deux fractions de la bilirubine, non conjuguée et conjuguée, a peu d'intérêt diagnostique. En particulier, il ne différencie pas l'origine hépato-cellulaire ou cholestatique d'un ictère parce que l'hyperbilirubinémie est de type mixte indépendamment de la cause sous-jacente. L'étude des 2 fractions n'est utile que si l'on soupçonne une des maladies décrites ci-dessous ; ces troubles provoquent un ictère en l'absence de maladie du foie (Fouet, 1978).

### ➤ **Approche clinique de l'ictère**

L'évaluation clinique et biologique doit répondre à certaines questions spécifiques : il faut d'abord se demander si l'ictère est dû à une hyperhémolyse ou à un trouble isolé du métabolisme de la bilirubine (rare), à

un dysfonctionnement hépato-cellulaire (fréquent), ou à une obstruction biliaire (assez fréquente). Si l'atteinte hépatobiliaire est présente, l'état est-il aigu ou chronique ? La cause est-elle une maladie hépatique primitive ou un trouble systémique touchant le foie ? L'agent causal est-il une infection virale, l'alcool ou un autre médicament ? La cholestase a-t-elle une origine intra ou extra-hépatique ? Une thérapeutique chirurgicale est-elle nécessaire ? Y-a-t-il des complications ? Une histoire détaillée de la maladie et un examen clinique complet sont fondamentaux, parce que les erreurs diagnostiques sont habituellement causées par une évaluation clinique insuffisante et un excès de confiance vis-à-vis des données de laboratoire (Fouet, 1978).

### **-Symptomatologie**

L'ictère modéré à urines claires évoque une hyperbilirubinémie non conjuguée due à une hyperhémolyse plutôt qu'à une maladie hépatobiliaire. Un ictère plus prononcé ou des urines foncées indiquent une origine hépatique ou biliaire. Les signes d'hypertension portale, d'ascite, ou de modifications cutanées et endocriniennes impliquent habituellement un processus chronique plutôt qu'un processus aigu. L'apparition d'urines foncées précède souvent la pigmentation cutanée ; ainsi, le moment où surviennent les urines foncées fournit la meilleure indication sur la durée de l'ictère. Les nausées et les vomissements précédant l'ictère indiquent très souvent une hépatite aiguë ou une obstruction lithiasique de la voie biliaire principale ; la présence de douleurs abdominales ou de frissons étant en faveur de la seconde hypothèse. Une anorexie plus insidieuse et un malaise général sont observés dans de nombreux états, mais sont particulièrement évocateurs de maladie alcoolique du foie ou d'hépatite chronique (Fouet, 1978).

Une maladie générale doit aussi être recherchée ; p. ex. la turgescence des veines jugulaires est un indice important d'insuffisance cardiaque ou de péricardite constrictive chez un patient ayant une hépatomégalie et une ascite. La cachexie et le caractère inhabituellement dur et nodulaire du foie sont plus souvent dus à des métastases qu'à une cirrhose. Des adénopathies disséminées suggèrent une mononucléose infectieuse en cas d'ictère aigu et un lymphome ou une leucémie en cas d'atteinte chronique.

L'hépatosplénomégalie sans autres signes d'hépatopathie chronique peut être due à une maladie infiltrative (p. ex. lymphome ou amylose), bien que l'ictère soit habituellement discret ou absent dans ce cas ; la bilharziose et le paludisme réalisent souvent ce tableau clinique dans les zones d'endémie. (Fouet, 1978).

### ➤ **Phospholipidose et lésions pseudo-alcooliques du foie**

#### **-Phospholipidose**

La phospholipidose hépatique est caractérisée par l'accumulation de phospholipides dans les lysosomes hépatocytaires. Cette lésion a été observée avec trois médicaments antiangineux, l'amiodarone, le maléate de perhexiline et le 4-4'-diéthyl-amino-éthoxy-hexestrol. Ces médicaments sont des composés cationiques amphiphiliques avec un radical lipophile et un azote ionisable. Ces propriétés favorisent l'accumulation de ces médicaments dans les lysosomes des cellules hépatiques. Il en résulte une inhibition des phospholipases lysosomiales aboutissant à une accumulation de phospholipides. En raison d'un stockage tissulaire important, responsable d'une élimination très lente, ces médicaments peuvent être détectables dans le plasma plusieurs semaines à plusieurs mois après l'interruption du traitement. Lorsqu'elle est isolée, la phospholipidose n'a pas de conséquence clinique grave. Le diagnostic repose sur l'examen en microscopie électronique qui peut mettre en évidence des structures pseudolamellaires dans les lysosomes (Guérin, 2005).

#### **-Lésions pseudo-alcooliques**

Généralement, celles-ci sont observées chez les malades recevant un traitement au long cours et paraissent corrélées avec la dose cumulative. Le plus souvent, la maladie a un développement insidieux. Elle peut être révélée par une asthénie, une hépatomégalie ou une augmentation modérée des transaminases. Elle peut se révéler plus tardivement au stade de complications d'une cirrhose. L'examen histo-pathologique met en évidence des lésions qui ressemblent à une hépatite alcoolique aiguë en associant

une nécrose acidophile, la présence de corps de Mallory, un infiltrat fait de polynucléaires neutrophiles et une stéatose dans les lobules hépatiques. Il peut s'y associer une fibrose portale ou une cirrhose. L'interruption du traitement est habituellement suivie d'une diminution progressive des anomalies hépatiques. Dans quelques cas cependant, l'état hépatique continue à s'aggraver et peut aboutir à la mort probablement du fait de libération prolongée dans la circulation systémique du médicament à partir de ces sites de stockage tissulaire. L'hépatotoxicité de la perhexiline est très fortement influencée par le déficit génétique en P450 2D6 qui entraîne une accumulation de médicament dans les hépatocytes. Des lésions pseudo-alcooliques du foie peuvent être observées en l'absence de phospholipidose après l'administration de tamoxifène et très rarement de nifédipine et de diltiazem.

### ➤ **Maladies vasculaires du foie**

Les médicaments constituent une des causes principales de maladies vasculaires du foie. Il s'agit de la fibrose sinusoidale, de la dilatation sinusoidale, de la péliose, de la maladie veino-occlusive et le syndrome de Budd-Chiari.

#### **- Fibrose sinusoidale**

Cette lésion résulte de l'accumulation de fibres de collagène dans les espaces de Disse. La fibrose sinusoidale peut être asymptomatique ou être révélée par une hépatomégalie ou une hypertension portale. Sa principale cause est l'hypervitaminose A chronique. L'accumulation de vitamine A peut être mise en évidence par la microscopie optique et électronique d'une hyperplasie des cellules d'Ito. La concentration de vitamine A hépatique est fortement augmentée. Une fibrose portale, voire une véritable cirrhose, peuvent survenir si l'administration de vitamine A est poursuivie. Les autres médicaments responsables sont l'azathioprine, la 6-mercaptopurine, le méthotrexate et les dérivés arsenicaux.

#### **- Dilatation sinusoidale**



Au cours de la dilatation sinusoidale, l'endothélium vasculaire est conservé. Cette lésion est décrite dans les mêmes circonstances que la péliose. La péliose a été rapportée au cours d'affection entraînant des états de cachexie évolués quelle qu'en soit la cause (tuberculose, SIDA, tumeurs) et chez des malades recevant certains médicaments en particulier des stéroïdes anabolisants, des oestroprogestatifs, des androgènes (Guérin, 2005).

### **- Péliose**

La péliose hépatique est un trouble de la microcirculation sanguine intra-hépatique dans lequel le tissu hépatique est parsemé de cavités remplies de sang. Elle est caractérisée histologiquement par l'existence de cavités intralobulaires remplies de sang et bordées d'hépatocytes, distribuées au hasard dans le parenchyme hépatique sans prédominance zonale. Le plus souvent, la péliose est asymptomatique et les tests hépatiques sont normaux ou peu perturbés. Dans certains cas, la péliose est révélée par une hépatomégalie, un ictère, une hypertension portale et même une insuffisance hépatocellulaire ou un hémopéritoine. Les principaux agents responsables sont les stéroïdes androgéniques et anabolisants, l'azathioprine, la 6-thioguanine et les dérivés arsenicaux.

### **- Maladie veino-occlusive**

Cette maladie est caractérisée par une obstruction non thrombotique de la lumière des petites veines hépatiques centrolobulaires responsable d'une congestion sinusoidale et d'une nécrose des hépatocytes dans la région centrolobulaire.

L'atteinte peut être aiguë ou chronique. La forme aiguë est caractérisée par la survenue brutale de douleurs abdominales et d'une ascite. Elle peut évoluer soit vers la guérison soit, au contraire, vers une insuffisance hépatocellulaire mortelle. La maladie peut se développer beaucoup plus insidieusement conduisant à une fibrose centrolobulaire et éventuellement à une cirrhose. La maladie veino-occlusive, initialement observée après



l'ingestion de plantes médicinales contenant des alcaloïdes de la pyrrolizidine, est maintenant surtout observée chez les patients traités par irradiation et chimiothérapie pour greffe de moelle. Elle peut être également observée au cours de l'administration de diverses thiopurines (Guérin, 2005).

### **-Syndrome de Budd-Chiari**

Il est caractérisé par une obstruction des grosses veines hépatiques qui entraîne une congestion hépatique à prédominance centrolobulaire associée à une nécrose hépatocytaire. La sévérité du syndrome varie avec le lieu et l'extension de la thrombose. Les manifestations cliniques sont voisines de celles de la maladie veino-occlusive et peuvent être aiguës ou chroniques. Le lobe de Spiegel qui est épargné par la maladie est hypertrophié. Les contraceptifs oraux et les oestrogènes augmentent le risque de survenue d'un syndrome de Budd-Chiari en exacerbant une maladie thrombogène, en particulier un syndrome myéloprolifératif latent. Le syndrome de Budd-Chiari peut être également provoqué par certains agents antinéoplasiques (Guérin, 2005).

### **➤ Tumeurs hépatiques**

Les médicaments peuvent entraîner plusieurs types de tumeurs hépatiques. Il s'agit fondamentalement de l'adénome hépatocellulaire et du carcinome hépatocellulaire.

### **- Adénome hépatocellulaire**

L'adénome hépatocellulaire est une tumeur bénigne constituée d'hépatocytes d'aspects normaux sans espace porte ou veine centrolobulaire. La survenue de cette tumeur est accrue chez les femmes prenant des contraceptifs oraux. L'incidence apparaît liée à la fois à la durée d'administration et à la dose ingérée. Les quantités d'oestrogènes présents dans les contraceptifs oraux sont beaucoup plus faibles depuis plusieurs années. Parallèlement, l'incidence de l'adénome est devenue très faible. La tumeur est généralement asymptomatique et souvent découverte

fortuitement par l'échographie. Moins souvent, elle est révélée par une hépatomégalie, des douleurs abdominales et, exceptionnellement, par une hémorragie intrapéritonéale ou intratumorale. L'interruption des contraceptifs oraux est parfois suivie d'une réduction de la taille de la tumeur. La tumeur peut récidiver en cas de réadministration de contraceptifs oraux ou de grossesse. La dégénérescence de l'adénome induit par les contraceptifs oraux en carcinome hépatocellulaire reste controversée. La survenue d'un adénome hépatique est également favorisée par l'administration prolongée de stéroïdes anabolisants androgéniques alkylés en 17-alpha. Les adénomes provoqués par ces derniers médicaments peuvent évoluer vers un carcinome hépatocellulaire. Des cas exceptionnels d'adénomes ont été observés après l'administration de clomifène et de noréthistérone (Guérin, 2005).

### **- Carcinome hépatocellulaire**

La survenue de cette tumeur maligne développée à partir des hépatocytes paraît augmentée par la prise prolongée de stéroïdes anabolisants androgéniques et peut-être de celle de contraceptifs oraux bien que ceci soit controversé. Le carcinome hépatocellulaire associé à ces médicaments a des particularités qui le distinguent du carcinome hépatocellulaire compliquant la cirrhose. Il survient principalement chez des sujets jeunes (20 à 45 ans). La concentration de l'alphafoetoprotéine reste en général normale. La survenue de la tumeur pourrait parfois régresser après l'arrêt du traitement. Le rôle des stéroïdes dans la survenue de cancers fibrolamellaires est encore inconnu (Duvelder, 1998).

### 1.1.4.5 Eléments de diagnostic biochimiques des altérations hépatiques

Les paramètres biologiques prennent en compte la phosphatase alcaline, les transaminases et la gamma-glutamyl-transferase. Des examens complémentaires comme la créatinine, l'urée, la bilirubine, la glycémie, le fibrinogène, la prothrombine, le dosage du glutathion et de la lactate déshydrogénase (LDH) sont utilisés pour le diagnostic des affections hépatiques.

#### - Phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline est une enzyme présente dans pratiquement tout l'organisme, mais avant tout dans le foie et les os. En cas de suspicion d'atteinte de ces organes, le dosage de la phosphatase alcaline oriente le diagnostic et permet de surveiller l'efficacité du traitement. Le prélèvement sanguin s'effectue par une ponction veineuse en général au pli du coude. Il n'y a pas de conditions spéciales pour ce prélèvement (Guérin, 2005). Les valeurs exactes dépendent du type de dosage réalisé, mais sont variables selon l'âge du sujet. Les valeurs suivantes sont données chez les enfants de 0 à 15 ans. Ces valeurs sont comprises entre 90 à 450 UI/L et chez l'adulte dont l'âge est inférieur à 60 ans, elles varient de 40 à 100 UI/L. Ces valeurs varient de 50 à 130 UI/L chez l'adulte âgé de plus de 60ans (Guérin, 2005). Une diminution de la phosphatase alcaline est rencontrée dans les cas d'hypothyroïdie, de scorbut, d'anémie sévère, d'insuffisance hépatique sévère, d'hypophosphatémie congénitale. Une élévation de la phosphatase alcaline se rencontre dans les cas de maladies osseuses (métastases osseuses, la maladie de paget, d'ostéomalacie, de croissance osseuse chez l'enfant, de certaines variétés de rachitisme chez l'enfant) ; d'hyperparathyroïdie, des maladies hépatobiliaires comme les obstructions biliaires, les hépatites, les infiltrations hépatiques, les abcès hépatiques et les septicémies (Guérin, 2005).

## **-Transaminases**

Les transaminases sont des enzymes importantes de l'organisme dont le rôle est de transférer un groupe amine lors de nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique. Les organes les plus riches en transaminases sont le foie et les muscles, y compris le cœur. Toutes altérations de ces organes vont libérer de la transaminase.

## **-Gamma-glutamyl-transpeptidase (Gamma GT)**

La gamma-glutamyl-transférase est une enzyme qui participe au métabolisme des acides aminés. La Gamma GT est présente dans le foie, le rein et le pancréas (Guérin, 2005). Le taux de Gamma GT est considéré comme un marqueur fiable de l'intoxication alcoolique. Le dosage permet de suivre l'observance d'un régime sans alcool. Les Gamma GT n'augmentent pas en cas d'une intoxication alcoolique aiguë. Il faut en moyenne un mois d'intoxication pour voir le taux augmenter (Guérin, 2005).

## **-Lactate Déshydrogénase**

La lactate déshydrogénase (LDH) ou déshydrogénase lactique est une enzyme présente dans une grande diversité d'organismes, aussi bien végétaux qu'animaux. Elle catalyse la conversion réciproque de pyruvate et de lactate accompagnée de la conversion concomitante de NADH et de NAD<sup>+</sup>. Vu qu'elle peut également catalyser l'oxydation d'hydroxybutyrate, elle est occasionnellement appelée Hydroxybutyrate Déshydrogénase (HBD). Chaque molécule de LDH consiste en quatre sous-unités. Chaque sous-unité peut être soit de type H (anglais heart = cœur) ou M (muscle) (sur base de leur comportement électrophorétique.) Il y a donc cinq isotypes de LDH :

LDH-1 (4H) - principalement dans le cœur

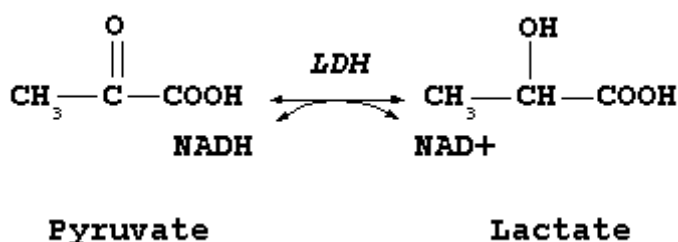
LDH-2 (3H1M) - principalement dans le système réticulo-endothélial

LDH-3 (2H2M) - principalement dans les poumons

LDH-4 (1H3M) - principalement dans les reins

LDH-5 (4M) - principalement dans le foie et les muscles striés

En général, la forme prédominante dans le sérum est la LDH-2. Un taux de LDH-1 plus élevé que celui de LDH-2 suggère un infarctus du myocarde (des lésions des tissus cardiaques qui libèrent la LDH cardiaque, qui est riche en LDH-1, dans la circulation sanguine). Le diagnostic, sur la base de ce phénomène, de l'infarctus a toutefois en grande mesure été supplanté par la mesure des taux de troponine I ou T. Comme le lactate apparaît comme un important métabolite énergétique pour les cellules du cerveau, il s'ensuit que la localisation cellulaire de la lactate déshydrogénase (LDH), enzyme limitant les flux de lactate, mérite une attention particulière. Chez les vertébrés, les cinq isoenzymes de la LDH sont une combinaison tétramérique de deux polypeptides différents (Pevzner, 1983). Le polypeptide A (ou M pour muscle) que nous appellerons ici la sous-unité LDH5, et le polypeptide B (ou H pour heart) que nous appellerons ici la sous-unité LDH1. Les différentes propriétés catalytiques des cinq isoenzymes de la LDH (B4 ou LDH-1, B3A ou LDH-2, B2A2 ou LDH-3, B A3 ou LDH-4, et A 4 ou LDH-5) sont proportionnelles aux taux des deux sous-unités LDH5 et LDH 1 (Bishop et coll., 1972). De plus, la distribution relative des sous-unités LDH1 et LDH5 sont spécifiques aux différents tissus. La sous-unité LDH5 a été identifiée de manière prédominante dans des tissus produisant le lactate, alors que la sous-unité LDH1 est active dans des tissus fonctionnant de manière principalement aérobie. Plusieurs travaux indiquent que la sous-unité LDH1 est mieux désignée pour oxyder le lactate en pyruvate (Pevzner, 1983), alors que la sous-unité LDH5 convertit préférentiellement le pyruvate en lactate. La pyruvate déshydrogénase, quant à elle, catalyse l'entrée irréversible du pyruvate dans le cycle de Krebs. Elle est donc un marqueur de la phosphorylation oxydative, au même titre que la cytochrome oxydase (Wong-Riley, 1993). La réduction du pyruvate par la LDH est exprimée dans la figure 10.



**Figure 10 : Réduction du pyruvate par la LDH**

### **-Glutathion et statut redox**

Le glutathion ( $\alpha$ -glutamylcystéinyglycine) est le tripeptide composé de cystéine, glutamate et glycine. Principal sulfhydryle de faible poids moléculaire de l'organisme, il présente deux caractéristiques structurales qui permettent sa participation à de nombreuses fonctions cellulaires : sa liaison  $\alpha$ -carboxyle entre les résidus glutamate et cystéine, qui le protège de l'hydrolyse, et son groupement sulfhydryle (ou thiol), porté par son résidu cystéine (Pastore et coll., 2003). Il joue un rôle particulièrement important dans les défenses antioxydantes et le maintien du statut redox de l'organisme.

La synthèse de glutathion, consommatrice d'ATP, est assurée par l'action séquentielle de deux enzymes cytosoliques ubiquitaires, la  $\alpha$ -glutamylcystéine synthase ( $\alpha$ -GCS) et la glutathion synthase. Lors de la réaction catalysée par la  $\alpha$ -GCS, le groupement  $\alpha$ -carboxyle du glutamate réagit avec le groupement aminé de la cystéine. Cette première réaction, qui constitue l'étape limitante de la synthèse de glutathion, permet la formation d'une liaison peptidique résistante aux peptidases. Bien qu'elle puisse être convertie en oxoproline et cystéine par la  $\alpha$ -glutamyl cyclotransférase, 95 % de la  $\alpha$ -glutamylcystéine formée lors de cette première réaction est orientée vers la synthèse de glutathion par la glutathion synthase, une enzyme présentant une forte affinité pour ses deux substrats, la glycine et la  $\alpha$ -glutamylcystéine. Cette seconde étape de la synthèse de glutathion est rarement limitante (Griffith, 1999). La synthèse de glutathion peut avoir lieu

dans toutes les cellules de l'organisme, mais le foie en est le principal site de production et la plus grande partie du glutathion hépatique est exportée vers les autres tissus.

La formation de alpha-glutamylcystéine étant l'étape limitante de la synthèse de glutathion, la synthèse de *novo* de glutathion est principalement influencée par l'activité  $\alpha$ -GCS, les concentrations de ses substrats et celle du glutathion, qui exerce un rétrocontrôle négatif sur l'activité  $\alpha$ -GCS. La  $\alpha$ -GCS est une enzyme constituée de deux sous-unités, une sous-unité régulatrice et une sous-unité catalytique (Huang et coll., 1993). Les quantités relatives et absolues de ces deux sous-unités varient d'un tissu à un autre et, pour un même tissu, d'une espèce à une l'autre (Griffith, 1999). En l'absence de sous-unité régulatrice, la sous-unité catalytique, qui présente tous les sites de fixation pour les substrats de l'enzyme et l'ATP, est fonctionnelle, mais son activité est 3 à 15 fois plus faible que celle de l'holoenzyme, selon les espèces. La sous-unité régulatrice module l'affinité de la sous-unité catalytique pour ses substrats et ses inhibiteurs (Huang et coll., 1993). La régulation de l'activité  $\alpha$ -GCS est complexe et modulée par de nombreux facteurs susceptibles d'agir simultanément à différents niveaux : transcription, stabilité des ARN messagers, traduction, modulations post-traductionnelles par phosphorylation et formation de l'holoenzyme (Griffith, 1999).

La transcription des gènes codant pour la  $\alpha$ -GCS est principalement influencée par des facteurs associés au stress et à l'inflammation. Dans des conditions de stress oxydant et/ou de stress nitrosant, la transcription des gènes codant pour les deux sous-unités de l'enzyme est accrue (Moellering et coll., 2003), ainsi que la formation de l'holoenzyme (Pastore et coll., 2003). L'effet du stress oxydant sur la transcription des gènes codant pour la  $\alpha$ -GCS implique un site de type ARE/EpRE (antioxydant et électrophile response element) présent sur les promoteurs des gènes de chacune des sous-unités de la  $\alpha$ -GCS (Dickinson et coll., 2004) De même, les cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\alpha$ , activent la transcription des gènes codant pour la  $\alpha$ -GCS (Dickinson et coll., 2004).



Le glutathion est impliqué dans de nombreuses fonctions vitales (Wu et coll., 2004) et joue en particulier un rôle central dans les défenses antioxydantes de l'organisme et la détoxification. Il exerce un effet protecteur vis-à-vis des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène, grâce à son pouvoir réducteur important ou par l'intermédiaire d'enzymes antioxydantes dont il sert de cofacteur. Il tamponne l'environnement redox intracellulaire, ce qui permet entre autres de maintenir les groupements sulfhydryles des protéines sous forme réduite. Dans des conditions de stress oxydant, il contribue à la réponse adaptative au stress notamment en se liant aux groupements sulfhydryles des protéines (il modifie ainsi leurs fonctions) et en régulant l'activation de facteurs de transcriptions impliqués dans la réponse antioxydante. De cette manière, le glutathion module les fonctions immunitaires et la progression de nombreuses pathologies impliquant stress oxydant, inflammation ou réponse immune. Un statut en glutathion altéré est observé dans plusieurs pathologies, comme le diabète, qui est associé à la présence d'un stress oxydant important. Enfin, le glutathion sert de forme de stockage et de transport de la cystéine qui est très instable dans le milieu extracellulaire et s'oxyde spontanément et rapidement en cystine, un processus pouvant conduire à la production de radicaux libres. Ainsi, le glutathion permet l'approvisionnement en cystéine des tissus qui ne peuvent pas la synthétiser et il peut être mobilisé pour faire face aux besoins en cystéine pour la synthèse protéique ou la synthèse de taurine (Townsend et coll., 2003).

Le glutathion joue un rôle majeur dans les défenses antioxydantes de l'organisme et la détoxification. Il réagit spontanément avec les radicaux hydroxyles produits par la réaction de Fenton, ainsi qu'avec le peroxyde d'azote produit lors de la réaction entre le monoxyde d'azote (NO) et l'oxygène ou l'anion superoxyde (Griffith, 1999).

Il contribue également aux réactions enzymatiques antioxydantes, catalysées par les différentes isoformes de la glutathion peroxydase. La glutathion peroxydase agit de concert avec la catalase et la superoxyde dismutase pour protéger l'organisme des effets délétères des espèces



réactives de l'oxygène qu'elle neutralise, et éliminer les peroxydes. L'élimination des peroxydes par la glutathion peroxydase produit du glutathion oxydé, qui peut être recyclé sous l'action de la glutathion réductase ou exporté et éliminé par le rein. Lors des réactions catalysées par la glutathion-S-tranférase, le glutathion réagit avec divers composés électrophiles et xénobiotiques pour produire des sulfures de glutathion chimiquement stables qui sont ensuite catabolisés, ce qui permet la récupération des résidus glycine et glutamate. Le produit final, appelé acide mercapturique, est éliminé dans l'urine, entraînant une perte nette de cystéine (Pastore et coll., 2003). Enfin, le recyclage du glutathion est impliqué dans la régénération de la forme réduite d'autres antioxydants impliqués dans la lutte contre les espèces réactives de l'oxygène, tels que les tocophérols ou l'acide ascorbique (Sen et Packer, 2000).

## 1.2 Reins

Les reins sont des organes qui appartiennent à l'appareil excréteur. Ils sont généralement pairs et sont généralement entourés d'une épaisse couche de graisse. Ils sont simples et ressemblent à un haricot chez l'homme, le rat, le cheval, le mouton, la chèvre, le porc, le chien, le chat, le lapin. Ils sont lobulés chez le bœuf. Ils sont au nombre de deux, situés l'un à droite, l'autre à gauche de la colonne vertébrale au niveau des lombes. Le poids relatif des reins est faible chez les herbivores avec 0,6% du poids vif contre 1,1% chez les carnivores et 1,3% chez les omnivores (Barone, 1976). Le parenchyme rénal, disposé autour des premiers segments des voies excrétrices de l'urine c'est-à-dire les calices et les bassinets, est hétérogène. L'examen de la coupe frontale de rein parallèle aux faces de l'organe permet en effet de lui reconnaître une zone corticale de coloration foncée et une zone médullaire plus claire (Larrat et coll., 1971).

### 1.2.1 Conformation

Les reins sont en fait constitués par l'assemblage de plusieurs petits reins indépendants et simples, les rénicules, appendus aux ramifications de l'urètre et réunis entre eux par une substance conjonctive plus moins lâche.

Quand on retire la capsule, on s'aperçoit que les rénicules ont une forme anguleuse, géométrique ; ils ne sont pas tous arrondis. Les deux reins sont à peu près symétriques, de forme identique. Malgré la lobulation, ils sont allongés, incurvés, aplatis dorso-ventralement et réniformes. Chaque rein est revêtu d'une capsule qui lui est propre.

On observe entre les rénicules beaucoup de graisse et particulièrement en région ventrale. Le pelvis rénal est étroit et est diverticulé. En effet, chaque rénicule qui équivaut à un rein simple, unipapillaire, possède un pelvis rénal qui lui est propre et fonctionne isolément. Les différents pelvis rénaux marquent en quelque sorte le point d'aboutissement des divisions ultimes d'un uretère particulièrement ramifié.

### **1.2.2 Topographie**

Le rein gauche est plus caudal que le droit. Tous deux sont sous la voûte lombaire, situés relativement caudalement. Le rein droit est placé entre la jonction L2-L3 et L5 tandis que le rein gauche est plutôt situé entre L3 et la jonction L5-L6 chez les mammifères domestiques.

### **1.2.3 Rapports**

Dorsalement, le rein droit est en rapport avec le diaphragme, les muscles grand et petit psoas ; le rein gauche est en rapport avec le foie, le pancréas, la glande surrénale gauche et la courbure duodéno-jéjunale.

### **1.2.4 Fixité**

Ce sont des organes extra-péritonéaux placés dans une loge délimitée par un fascia dorsal et un fascia ventral. Cette loge, assez vaste, est occupée par du tissu conjonctif et de la graisse. Les reins sont également plaqués en région sous-lombaire par la pression des autres viscères. Le rein gauche est plus mobile que le rein droit.

### 1.2.5 Structure histologique du rein

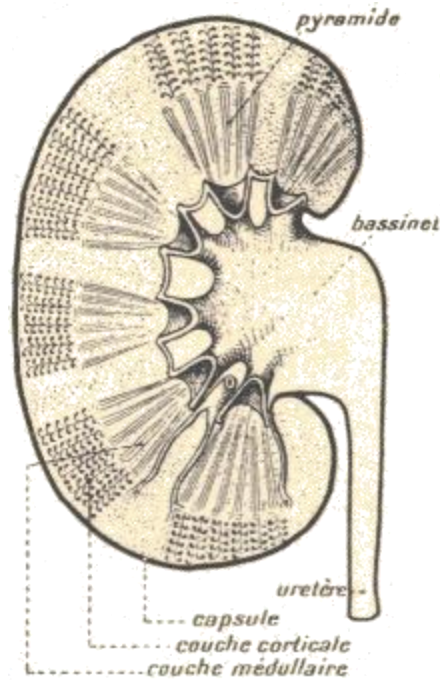
On observe deux zones, la zone corticale et celle médullaire.

#### ➤ La zone corticale du rein

Elle occupe tout l'espace délimité par les bases des pyramides de Malpighi et les extrémités des colonnes de Bertin d'une part et par la capsule du rein d'autre part. Elle est parcourue par les formations pyramidales, étroites et hautes qui se détachent de la base des pyramides de Malpighi et dont le sommet est dirigé vers la capsule du rein ; il s'agit des pyramides de Ferrein ou rayons médullaires de Ludwig. On reconnaît à l'œil nu, la présence de corpuscules de Malpighi qui sont disséminés dans la zone corticale et qui lui donnent un aspect granuleux. Le corpuscule de Malpighi du rein est désigné aussi glomérule de Malpighi ou glomérule vasculaire.

#### ➤ La zone médullaire du rein

Selon Kardong (2002), la zone médullaire du rein apparaît occupée par des formations grossièrement triangulaires, correspondant à la coupe d'unités anatomiques au nombre de six à neuf ; il s'agit des pyramides de Malpighi. Chaque pyramide de Malpighi possède une base tournée vers la surface du rein et un sommet ou papille qui fait saillie dans la lumière d'un petit calice. Cette papille est perforée par plusieurs orifices où s'abouchent les canaux collecteurs des néphrons ; on l'a désignée sous le nom d'*area cribosa*. Les pyramides de Malpighi sont séparées les unes des autres par du parenchyme rénal (figures 11, 12, 13).



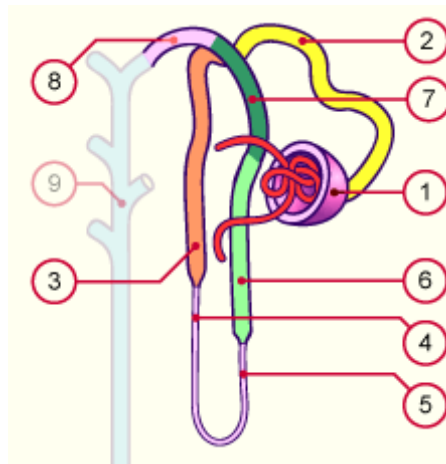
**Figure 11 : Coupe longitudinale d'un rein (Kardong, 2002)**

### 1.2.5.1 Le néphron

Le parenchyme rénal est constitué par des unités anatomiques et fonctionnelles élémentaires appelées néphrons. Les néphrons sont drainés vers l'*area cribosa* par des tubes collecteurs. L'ensemble du néphron et du système des tubes collecteurs dans lequel il s'abouche est désigné sous le nom de tube urinaire ou encore tube urinaire.

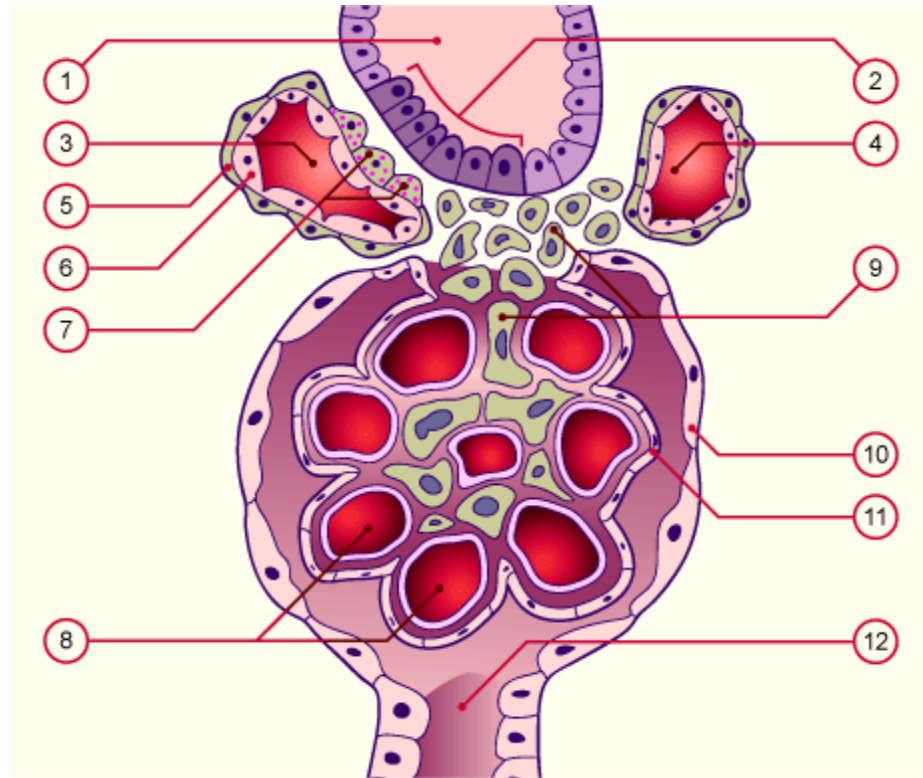
Le néphron est l'unité structurale et fonctionnelle du rein ; il n'est visible qu'au microscope. La majeure partie du néphron se trouve dans le cortex rénal. Chaque néphron est composé :

- d'une partie vasculaire (artériole afférente et efférente, capillaires glomérulaires et capillaires péri-tubulaires),
- d'une partie rénale (capsule glomérulaire et tubules rénaux). Au plan topographique, chaque néphron comprend :
  - le corpuscule de Malpighi ou glomérule
  - le tube proximal
  - le tube intermédiaire
  - tube distal



**Figure 12 : Structure d'un néphron (Kardong, 2002)**

1 corpuscule rénal, 2 tube contourné proximal, 3 tube droit proximal, 4 partie descendante du tube intermédiaire, 5 partie ascendante du tube intermédiaire, 6 tube droit distal, 7 tube contourné distal, 8 segment d'union, 9 tube collecteur.



**Figure 13 : Corpuscule de Malpighi (Kardong, 2002)**

1 tube droit distal, 2 macula densa, 3 artériole afférente, 4 artériole efférente, 5 cellules musculaires, 6 endothélium, 7 cellules juxtaglomérulaires, 8 capillaires glomérulaires, 9 cellules mésangiales, 10 capsule de Bowman feuillet pariétal ,11 capsule de Bowman feuillet viscéral, 12 tube contourné proximal.

## 1.2.6 Histophysiologie des reins

Les reins assurent des fonctions émonctoires et des fonctions endocriniennes.

### ➤ Fonctions émonctoires des reins

Tous les organismes vivants doivent assurer le maintien de la constance des caractères physico-chimiques de leur milieu intérieur. Les protozoaires disposent à cet effet de vacuoles pulsatiles qui leur permettent de réguler leur osmolarité et d'éliminer les déchets. Chez les métazoaires, on voit se différencier au cours de l'évolution, un organe de plus en plus complexe grâce auquel le milieu intérieur puis le sang circulant sont filtrés, débarrassés de certaines substances et éventuellement enrichis par d'autres. Chez les vertébrés, c'est le rein qui joue ce rôle. L'unité physiologique du rein est le néphron. Au niveau du glomérule vasculaire, le sang est filtré et l'ultra-filtrat glomérulaire ou urine primitive ainsi obtenue est acheminée vers l'extérieur. Tout au long de son passage dans la partie tubulaire du néphron, cet ultra-filtrat est modifié ; la plus grande partie de l'eau, une partie des ions, de certaines molécules qui le constituent sont résorbés et repassent dans le sang ; certaines substances sont, au contraire, sécrétées dans l'ultra-filtrat (McGeown, 2003).

A ces trois processus physiologiques fondamentaux c'est-à-dire la filtration, la réabsorption et la sécrétion correspondent à des structures histologiques hautement différenciées. Lorsque ces remaniements sont terminés, l'urine primitive devenue urine définitive, est rejetée à l'extérieur grâce à un système de canaux collecteurs, les uns intra-rénaux, les autres extra-rénaux. Le rein n'est pas seulement un organe excréteur. En effet, il est la source de plusieurs substances hormonales.

## ➤ Fonctions endocriniennes du rein

Le rein est le siège de l'élaboration de la rénine, de l'érythropoïétine, des prostaglandines et éventuellement de la somatomédine B (McGeown, 2003).

- **Métabolisme de l'angiotensine**

L'angiotensine représente une série de trois polypeptides qui dérivent de l'angiotensinogène : l'angiotensine I, décapeptide inactif, l'angiotensine II, octapeptide vasoconstricteur très puissant et l'angiotensine III, heptapeptide qui favorise la sécrétion d'aldostérone.

La biosynthèse de l'angiotensine se fait selon deux voies : la voie classique qui met en jeu la rénine et l'enzyme de conversion, et une voie qui met en jeu le rôle de l'enzyme, chymase qui joue le même rôle que l'enzyme de conversion de l'angiotensine et d'autres enzymes qui permettent la transformation directe de l'angiotensinogène (glycoprotéine) en angiotensine II. La rénine est une enzyme qui assure la production d'angiotensine I à partir de l'angiotensinogène. C'est une protéase acide de type aspartyl de nature glycoprotéique qui coupe la liaison leucine-valine et détache ainsi l'angiotensine I de l'angiotensinogène. La sécrétion de la rénine est augmentée par diminution de la pression artérielle et de la concentration du sodium plasmatique. Cette sécrétion augmente aussi en cas d'augmentation des catécholamines et par effets de divers médicaments comme les anesthésiques généraux et les diurétiques. Les effets de l'angiotensine sont essentiellement cardiovasculaires. L'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II est environ quarante fois plus important que celui de la noradrénaline. L'angiotensine a un effet tachycardisant. A doses très faibles non vasoconstrictrices, l'angiotensine II et III stimulent la synthèse d'aldostérone qui retient le sodium et favorise l'élimination du potassium. Par ailleurs, *in vitro*, l'angiotensine II exerce une action contracturante sur diverses fibres lisses comme l'iléon, l'utérus et les bronches. L'angiotensine provoque des



effets centraux comme l'augmentation de la soif et de la sécrétion de la vasopressine et d'ACTH puis de l'appétence sodique (Bohlius et coll., 2009).

- **Métabolisme de l'érythropoïétine**

L'érythropoïétine est sécrétée essentiellement par le cortex rénal (près de 90%). Le foie, surtout chez le fœtus, le cerveau et l'utérus en produisent également ; sa production est stimulée par la baisse du dioxygène dans les artères rénales.

La baisse de la pression partielle en oxygène (vie en altitude), la diminution du nombre d'érythrocytes causée par une hémorragie ou par une destruction excessive, entraînent une sécrétion accrue de l'érythropoïétine. Son action s'effectue sur les cellules érythroblastiques de la moëlle osseuse. Cette hormone stimule la prolifération des cellules souches précurseurs des hématies au niveau de la moëlle osseuse, augmentant ainsi, la production de ces dernières en une ou deux semaines. La déficience de cette hormone entraîne une anémie hypoplasique (Steensma, 2007).

### **1.2.7 Physiopathologie des affections rénales d'origine médicamenteuse**

L'atteinte rénale consécutive à l'administration d'un médicament est une situation fréquente en pratique clinique. Il s'agit d'un évènement grave qui est associé à une morbidité et une mortalité importantes. Du fait de sa riche vascularisation soit 25 % du débit cardiaque, le rein est en effet un organe particulièrement vulnérable à la toxicité des médicaments présents dans l'organisme. Par ailleurs, l'existence d'un gradient osmotique cortico-médullaire favorise l'accumulation interstitielle des substances toxiques au niveau des papilles et de la zone médullaire. Le rôle fondamental du tubule rénal dans la réabsorption des solutés expose également le rein à une concentration particulièrement élevée de substances médicamenteuses tant dans la lumière tubulaire que dans les cellules tubulaires. Ainsi, l'atteinte rénale médicamenteuse peut concerner l'intégralité de la structure rénale c'est-à-dire les glomérules, les tubules, le tissu interstitiel et les vaisseaux.

Ainsi, les affections médicamenteuses d'origine rénale comprennent les insuffisances rénales fonctionnelles, les néphropathies glomérulaires, les néphropathies tubulaires, les néphropathies interstitielles, les néphropathies vasculaires et les néphropathies obstructives (Chiurciu et coll., 2005).

### 1.2.7.1 Insuffisances rénales fonctionnelles

Les insuffisances rénales fonctionnelles peuvent être provoquées par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens.

#### ➤ Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

Actuellement très largement utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'insuffisance cardiaque, ils sont souvent associés à des diurétiques. Ils sont habituellement bien tolérés et remarquablement efficaces. Cependant, dans certaines circonstances, ou pour maintenir une filtration glomérulaire normale, il est indispensable d'avoir un système rénine-angiotensine opérant, ces médicaments pouvant avoir un effet délétère (Chiurciu et coll., 2005).

#### -Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens

Ils peuvent également provoquer des insuffisances rénales aiguës fonctionnelles. Les prostaglandines ont une action vasodilatatrice; elles contrebalancent l'action vasoconstrictrice d'autres substances. L'inhibition de la synthèse de la prostaglandine par les anti-inflammatoires non-stéroïdiens entraîne une baisse du flux sanguin rénal et de la filtration glomérulaire. C'est essentiellement au cours des situations pathologiques où le système rénine-angiotensine est fortement stimulé que l'action des anti-inflammatoires non-stéroïdiens favorise l'apparition de l'insuffisance rénale fonctionnelle (Gekle, 2005).

### **-Néphropathies glomérulaires**

Elles ne sont pas les plus courantes et se traduisent par l'apparition d'une protéinurie et d'un syndrome néphrotique. Les œdèmes sont fréquents en cas d'albuminémie basse. On observe rarement une diminution de la fonction rénale. Le sédiment urinaire est le plus souvent normal, et on ne note pas d'hématurie microscopique.

Ces complications rénales sont surtout à craindre au cours de traitements par les sels d'or, par les composés chimiques ayant un groupe thiol comme la D. Penicillamine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les sels de lithium ou d'autres métaux lourds (Gekle, 2005).

### **-Néphropathies tubulaires**

Elles ont été initialement décrites et sont secondaires à l'administration de trop fortes doses d'aminoglycosides. La survenue de ces atteintes est particulièrement insidieuse. Aucun signe n'attire l'attention sur le rein et il n'y a aucune réaction générale connue. On n'observe ni œdèmes, ni douleurs lombaires, ni hématuries macroscopiques. La polyurie, due à un trouble de la concentration urinaire, est le signe le plus précoce. C'est l'élévation de l'urée et de la créatinine sanguine qui fait découvrir l'atteinte rénale, laquelle apparaît habituellement vers le 5<sup>ème</sup> ou le 8<sup>ème</sup> jour de traitement et lorsque de trop fortes doses d'aminoglycosides ont été administrées (Gekle, 2005).

En ce qui concerne le paracétamol, ce produit utilisé en dose non thérapeutique peut provoquer une nécrose corticale rénale chez le rat intoxiqué avec 800 mg par Kg de poids vif par jour. Ceci peut être dû à deux mécanismes d'activation métabolique: l'une dépendant du cyt-P-450 et l'autre consécutive à la désacétylation de l'acétaminophène ou paracétamol en p-aminophénol (Newton et coll., 2005).

### **-Néphropathies interstitielles**

Un mécanisme immuno-allergique est souvent à leur origine. Environ une centaine de médicaments peuvent être tenus pour responsables de ce

type d'atteintes, avec, parmi eux, la méthycilline, la pénicilline et ses dérivés, les sulfamides, la rifamycine ou encore les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Christensen et coll., 2007).

### **-Néphropathies vasculaires**

Elles semblent plus rares, mais peut-être sont-elles méconnues. Seules, celles qui s'accompagnent de signes extra-rénaux sont plus aisément identifiées.

Des angéites bouchant les petits vaisseaux et responsables d'insuffisance rénale ont été détectées au cours de traitements par la pénicilline, les sulfamides, les anticancéreux ou les immunosuppresseurs. L'atteinte rénale est alors caractérisée par une protéinurie, une hématurie microscopique, une hypertension artérielle et une élévation plus ou moins importante de la créatinine sanguine (Takeda et coll., 2003).

### **-Néphropathies obstructives**

Les insuffisances rénales secondaires aux traitements par les inhibiteurs des récepteurs de l'angiotensine II ou les anti-inflammatoires nonstéroïdiens sont fréquentes. Fort heureusement, ces insuffisances rénales cèdent rapidement dans la majorité des cas. Les insuffisances rénales secondaires à l'administration de produits de contraste iodés demeurent elles aussi trop fréquentes. Enfin, la plus redoutable des complications rénales d'origine médicamenteuse est celle survenant lors de chimiothérapies anti-cancéreuses. La plus fréquente est due au cisplatine. Son apparition est extrêmement insidieuse (Takeda et coll., 2003).

## Chapitre 2 : Paracétamol

### 2.1 Définitions et indications

Le paracétamol, aussi appelé acétaminophène, est la substance active de nombreuses spécialités médicamenteuses de la classe des antalgiques antipyrétiques non salicylés. Il est appelé Doliprane®, Dafalgan® ou Efferalgan® en France et Tylenol® ou Panadol® aux Etats-Unis.

Ce produit est indiqué dans le traitement symptomatique de la fièvre et des douleurs d'intensité faible à modérée, seul ou en association à d'autres analgésiques. Contrairement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens et notamment à l'aspirine, il est dépourvu de propriétés anti-inflammatoires et n'agit pas sur l'agrégation plaquettaire.

Le nom paracétamol vient de la contraction de para-acétyl-aminophénol. Acétaminophène quant à lui provient de N-acétyl-para-aminophénol. Le paracétamol a l'avantage d'avoir peu de contre-indications, de pouvoir être prescrit à tout âge et d'être dénué d'effets indésirables sérieux lorsqu'il est utilisé à la posologie recommandée. En cas de surdosage cependant, le paracétamol est très toxique pour le foie et est chaque année responsable de décès par hépatite fulminante.

### 2.2 Structure et réactivité

Dans les conditions ordinaires, le paracétamol est une poudre blanche avec un léger goût, soluble dans 70 volumes d'eau, 7 volumes d'alcool à 95 %, 13 volumes d'acétone, 40 volumes de glycérol ou 50 volumes de chloroforme. Cependant, il est insoluble dans l'éther et le benzène. Le paracétamol est stable dans l'eau, mais sa stabilité diminue en milieu acide ou basique. Les mélanges de paracétamol sont stables dans des conditions humides. Cependant, les comprimés qui contiennent de la codéine ou du stéarate de magnésium se dégradent en diacétyl-p-aminophénol dans une atmosphère humide.

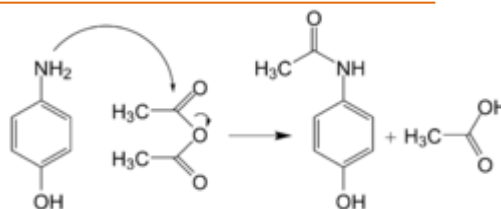
La molécule est constituée d'un cycle benzénique, substitué par un groupement hydroxyle et par un groupement amide en position para. Le paracétamol ne comporte pas de carbone asymétrique et n'a pas de stéréoisomère. Un des deux doublets libres de l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle, le cycle benzénique, le doublet libre de l'atome d'azote et l'orbitale p du carbone du carbonyle forment un système conjugué. Cette conjugaison réduit la basicité des oxygènes et de l'azote et rend le groupement hydroxyle plus acide (comme les phénols) car la délocalisation des charges s'effectue sur un ion phénolate.

La présence de deux groupements activants rend le cycle hautement réactif pour une substitution électrophile aromatique, les substituants étant ortho et para directeurs. Toutes les positions du cycle sont plus ou moins activées de la même manière et il n'y a donc pas de site privilégié dans le cas d'une substitution électrophile. Le paracétamol est le métabolite actif de l'acétanilide et de la phénacétine : le paracétamol est produit par la décomposition de ces deux produits dans l'organisme. Ces espèces chimiques sont de la même famille chimique et ont une structure chimique très proche.

### 2.3 Synthèse

La synthèse du paracétamol se réalise à partir de l'acylation du para-aminophénol avec l'anhydride acétique ce qui donne du paracétamol et de l'acide acétique.

Le paracétamol ne comprend pas de centre chiral et n'a aucun stéréoisomère. La synthèse n'a pas besoin d'être stéréocontrôlée et elle est plus simple que les synthèses asymétriques d'autres substances pharmaceutiques (figure 14).



**Figure 14 : Synthèse du paracétamol**

## 2.4 Quelques points d'histoire sur le paracétamol

L'acétanilide, dont le paracétamol dérive par hydroxylation, est le premier produit de cette famille et fut introduit en thérapeutique en 1886. Ses propriétés anti-pyrétiques ont été découvertes de manière fortuite par Cahn et Hepp. Ces deux médecins strasbourgeois travaillaient sur les effets de dérivés du naphthalène sur des parasitoses intestinales. A court de produit, ils s'approvisionnent dans une pharmacie de la ville. A leur grande surprise, le produit livré ne présente aucune activité antiparasitaire mais révèle une puissante action antipyrétique. La substance fournie n'est pas du naphthalène mais de l'acétanilide. Ainsi apparaissait le premier antipyrétique non salicylé. Il devient rapidement un médicament commercialisé sous le nom d'Antifébrine®. Cependant, l'acétanilide est très toxique et de nombreuses recherches ont porté sur l'élaboration de drogues dérivées et mieux tolérées. La phénacétine, dérivé acétylé de l'acétanilide, a été utilisée dès 1887. Mais cette dernière a vu son utilisation limitée en raison d'effets néphrotoxiques au point que son utilisation chronique fut strictement réglementée puis totalement interdite. Le paracétamol, dérivé hydroxylé et non néphrotoxique de l'acétanilide, est apparu en 1893, son emploi s'est étendu de manière considérable depuis la fin de la deuxième guerre mondiale, surtout depuis 1949 lorsqu'on a mis en évidence qu'il constitue le principal métabolite actif de l'acétanilide et de la phénacétine.

Malgré son utilisation longtemps et largement reconnue comme sans danger à dose thérapeutique (jusqu'à 4 g/jour pour les adultes), les cas d'hépatotoxicité sévère sont plus fréquents chaque année, de sorte que le paracétamol représente actuellement la première cause d'insuffisance hépato-cellulaire aiguë observée dans les centres d'urgences aux Etats-Unis



et en Europe. Le paracétamol était en 2003 à l'origine d'environ 51% des cas d'insuffisance hépato-cellulaire (surdosages intentionnels et non intentionnels), chiffre qui a quasi doublé en six ans (28% en 1998) (Larson et coll., 2003). Plus préoccupant encore, alors même que l'argumentaire commercial pour ce médicament a longtemps porté sur sa grande sécurité d'emploi à dose thérapeutique (notamment par rapport aux anti-inflammatoires non stéroïdiens), émergent maintenant des cas d'hépatotoxicité sévère survenant à dose thérapeutique (Kurtovic et Riordan, 2003).

## 2.5 Absorption et mécanisme d'action du paracétamol

Le mécanisme d'action du paracétamol est similaire à celui des anti-inflammatoires non stéroïdiens bien qu'il ne possède pas d'action anti-inflammatoire. Il est communément admis que l'action antalgique du paracétamol est liée à une diminution de la synthèse de prostaglandines par inhibition de la cyclo-oxygénase (Larson et coll., 2005). Quand on administre le paracétamol par voie orale, la biodisponibilité est bonne c'est-à-dire de 70 à 90%. La liaison aux protéines plasmatiques est faible et est de l'ordre de 10%. La demi-vie d'élimination est de 2 h à 2 h 30. Elle augmente en cas d'atteinte hépatique. Comme les salicylés, le paracétamol dispose d'une activité antipyrétique et analgésique, mais il s'en distingue par l'absence d'activité anti-inflammatoire ou anti-agrégante, ainsi que par l'absence de toxicité sur la muqueuse gastro-duodénale. Plus d'un siècle après son introduction en thérapeutique, son mécanisme d'action demeure néanmoins incertain (Moling et coll., 2006)

Un mécanisme d'action sérotoninergique central a également été proposé par certains. Le paracétamol favoriserait le fonctionnement des neurones sérotoninergiques descendantes, exerçant au niveau spinal, un contrôle inhibiteur sur les voies de la douleur (Vitol et coll., 2004).

Le paracétamol provoque une diminution du risque cardio-vasculaire et a un effet préventif sur la cataracte. Les conditions de l'exploitation clinique de ces propriétés restent toutefois à établir. Après administration par voie



orale, le paracétamol est rapidement et presque totalement réabsorbé au niveau de l'intestin grêle. Par voie rectale, le paracétamol est résorbé et sa biodisponibilité n'est que de 10 à 20%, donc inférieure à celle de la voie orale. Cette résorption est progressive et la courbe de concentration en fonction du temps est voisine de celle observée avec un comprimé de paracétamol à libération prolongée (Watkins et Seeff, 2006). Le paracétamol peut s'administrer en perfusion intraveineuse. Les concentrations maximales de paracétamol sont environ deux fois supérieures à celles obtenues après la prise de la même dose sous forme de comprimés. Le paracétamol est peu lié aux protéines plasmatiques. Il diffuse rapidement à travers la barrière hémato-encéphalique et ses concentrations dans le liquide céphalorachidien sont proches des concentrations plasmatiques. Les concentrations dans la salive sont voisines des concentrations plasmatiques (Schmidt et coll., 2002).

Le paracétamol est éliminé principalement par voie rénale sous forme de métabolite glucuro ou sulfoconjugué ; moins de 10% de la dose administrée sont éliminés par les urines sous forme inchangée. Le paracétamol possède des propriétés pharmacocinétiques stables sans variation interindividuelle importante, n'impliquant pas habituellement d'adaptation posologique (Watkins et Seeff, 2006).

## 2.6 Métabolisme du paracétamol

Le point essentiel est que le métabolisme du paracétamol dépend de la dose administrée. A dose «thérapeutique» (1 à 3 g/jour), plus de 85% du paracétamol administré sera gluco- ou sulfo-conjugué, générant ainsi des métabolites hydrosolubles excrétés dans les urines (Zimmerman et Maddrey, 1995). Une fraction minimale (5-8%) sera métabolisée via le cytochrome P-450 (surtout l'isoforme CYP-2E1, accessoirement les isoformes CYP-1A2 et CYP-3A4) en un intermédiaire électrophile hautement réactif et toxique : le N-acétyl p-benzoquinone-imine (NAPQI). Celui-ci, produit en quantité infime à dose thérapeutique, est cependant conjugué au glutathion hépatique donnant lieu à des conjugués de mercaptate, avant élimination dans l'urine.

Le paracétamol est un antalgique et un anti-pyrétique efficace. L'origine de ces effets est quasiment superposable à celui de l'aspirine et des AINS. En effet, le paracétamol bloque de façon réversible la cyclo-oxygénase et empêche donc la production des prostaglandines responsables de la fièvre (effet anti-pyrétique central) et de la sensibilisation des nocicepteurs périphériques (effet antalgique périphérique). Le paracétamol ne combat pas les inflammations. La raison de cette inefficacité n'est pas encore totalement élucidée. L'hypothèse avancée est que le paracétamol ne pourrait pas inhiber la cyclo-oxygénase dans un milieu riche en radicaux peroxydes, ce qui est le cas de la zone inflammatoire. Il reste que cela n'explique pas pourquoi le paracétamol n'est ni gastrotoxique, ni antiagrégant plaquettaire, des tissus (ou cellules) non inflammatoires en situation normale (Larson et coll., 2003).

## 2.7 Facteurs de risque

Le surdosage en paracétamol arrive trop fréquemment car ce médicament est en vente libre et est un des produits les plus utilisés dans l'auto-médication. Une personne non informée sur la dose journalière prend le risque d'être confrontée dans les premières 24 heures à des cas de nausée, de vomissement, d'anorexie, de pâleur, de douleurs abdominales et de risque de cytolyse hépatique plus ou moins importante selon la quantité absorbée. Une quantité supérieure à 10 g par jour est extrêmement dangereuse (Lee, 2004).

Plusieurs facteurs de risque, isolés ou combinés, affectent la susceptibilité individuelle au paracétamol et le risque d'hépatotoxicité. Le prescripteur doit les rechercher avant toute administration à dose élevée et/ou prolongée, ainsi que devant une élévation inexplicée des transaminases chez les consommateurs de paracétamol.

### 2.7.1 Jeûne et malnutrition

Une hépatotoxicité du paracétamol peut survenir à dose thérapeutique, après une période de jeûne ou chez des patients dénutris. En l'absence

d'autres facteurs de risque, un jeûne prolongé ou une dénutrition est associée à une déplétion majeure des réserves en glutathion. Celui-ci, comme indiqué plus haut, est nécessaire à la détoxification et l'élimination du NAPQI, le métabolite toxique du paracétamol. Outre son effet sur le stock de glutathion, le jeûne réduit les réserves hépatocytaires en hydrates de carbone et altère la glucuro- et la sulfo-conjugaison, toutes deux dépendantes de ces réserves. Il en résulte un shunt du métabolisme du paracétamol vers la voie microsomale oxydative (via le CYP-2E1) qui induit la formation de l'intermédiaire toxique NAPQI.

En pratique, ceci justifie une attention toute particulière aux populations à risque suivantes : les consommateurs excessifs d'alcool, les patients oncologiques exposés aux effets secondaires digestifs des chimiothérapies, les opérés (chirurgie abdominale en particulier), les sujets atteints d'intolérance digestive (gastro-entérite), et les patients très âgés. Pour ces patients, la recommandation est de limiter la dose quotidienne de paracétamol à 2 g et de respecter un intervalle d'au moins quatre heures entre chaque prise (Lee, 2004).

### **2.7.2 Consommation régulière de paracétamol**

Une consommation régulière de paracétamol peut induire un déclin régulier, asymptomatique, du stock de glutathion hépatique. Celui-ci, en dessous d'un seuil critique, perdra sa capacité à inactiver le NAPQI. L'ingestion chronique de doses thérapeutiques de paracétamol doit être envisagée dans le diagnostic différentiel d'une élévation persistante des transaminases, alors même que la concentration sérique du paracétamol est jugée thérapeutique (Lee, 2004).

### **2.7.3 Prise de préparations combinées**

Parmi les cas de toxicité liés à des surdosages non intentionnels, 35% sont liés à la prise concomitante de deux ou plusieurs préparations à base de paracétamol. En effet, ont émergé ces dernières années pour le traitement des douleurs modérées à sévères, de nombreuses préparations

combinées associant paracétamol et opiacés. La principale explication à ces surdosages vient simplement du manque d'information et de reconnaissance par le patient de la présence de paracétamol dans les médicaments prescrits (Kostrubsky et coll., 2005).

#### **2.7.4 Interactions avec les médicaments**

Le paracétamol est normalement gluco-conjugué en un métabolite hydrosoluble non toxique. Cette conjugaison est saturable et peut être inhibée par les substances qui inhibent l'enzyme UDP glucuronyltransférase (UGT1A1), comme le phénobarbital et la phénytoïne (Kostrubsky et coll., 2005). Ces substances peuvent ainsi majorer la toxicité du paracétamol à dose thérapeutique.

#### **2.7.5 Variabilités interindividuelles et interethniques**

Des variabilités importantes interindividuelles et interethniques du métabolisme du paracétamol ont été décrites, qui portent sur le pool hépatique de glutathion, l'activité du CYP-2E1, et enfin les phénotypes de glucuronidation du paracétamol (Court et coll., 2001). Ceci suggère qu'indépendamment des facteurs de risque décrits plus hauts, certains sous-groupes de la population seraient plus vulnérables au paracétamol. Les résultats d'études pharmacogénomiques sont attendus pour élucider les mécanismes, probablement plurifactoriels, de cette susceptibilité.

## 2.8 Toxicité du paracétamol

### 2.8.1 Effets sur l'homme

La dose toxique du paracétamol est hautement variable selon les individus. En une prise unique, elle est de l'ordre de 10 g ou 125 mg/kg chez l'adulte et de 100 à 150 mg/kg chez l'enfant.

Le paracétamol peut être toxique pour le foie, même à des doses thérapeutiques, soit 4 g/24 h, chez des patients présentant un alcoolisme chronique qui provoque une induction enzymatique et une diminution des réserves de glutathion. Par contre seuls quelques rapports font état d'une toxicité du paracétamol lors de situations diminuant les réserves de glutathion, comme une infection par le VIH, une hépatite chronique C ou une cirrhose hépatique par exemple. Ainsi, des décès ont eu lieu après une ingestion de doses thérapeutiques de paracétamol chez des patients présentant préalablement un foie malade. Depuis que le paracétamol est mélangé avec d'autres médicaments, il est important de bien prendre en compte cet apport supplémentaire de paracétamol dans le calcul de la dose toxique. Les prises de paracétamol doivent toujours être espacées de 4 heures au minimum. Pour éviter le surdosage, il est utile de discuter avec un pharmacien pour connaître les médicaments contenant du paracétamol ou bien de regarder la composition des médicaments pour détecter la présence de paracétamol.

### 2.8.2 Effets sur les animaux

Dans le cas d'une ingestion supposée pour les chats ou d'une surdose pour les chiens, il est important de consulter un vétérinaire immédiatement pour une désintoxication.

Le paracétamol est une substance extrêmement toxique pour les chats qui ne doivent en absorber dans aucun cas. Les chats ne possédant pas l'enzyme glucuronyl transferase, de petites quantités peuvent leur être fatales. La toxicité apparaît pour des doses journalières aussi faibles que 10 mg/kg. Les symptômes initiaux sont le vomissement, la salivation et la

décoloration de la langue et des gencives. Au bout de deux jours, les dommages corporels sont évidents et apparaît une jaunisse. Contrairement à ce qui se passe chez l'homme, ce ne sont pas les dommages hépatiques qui causent la mort mais c'est la production de méthémoglobine et de corps de Heinz dans les globules rouges qui empêche le transport de l'oxygène dans le sang, provoquant une mort par asphyxie. Des traitements efficaces sont possibles pour les faibles doses mais ils doivent être administrés très rapidement. Chez le rat une utilisation du paracétamol à raison de 800 mg/kg pendant plusieurs mois a induit une nécrose des hépatocytes (Settaf et coll., 2000).

Pour les chiens, le paracétamol est un antalgique utile avec un bon résultat en matière d'efficacité, qui cause moins d'ulcères gastriques que les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Mais il ne doit être administré que sur les conseils d'un vétérinaire. En effet, le surdosage, potentiellement mortel, est rapidement atteint même avec des faibles doses. L'hépatotoxicité peut survenir à partir de 100 mg/kg et une méthémoglobinémie à partir de 200 mg/kg (Settaf et coll., 2000).

## **2.9 Traitement d'une intoxication liée au paracétamol**

Le traitement, nécessairement en milieu spécialisé, comporte deux volets:

- l'évacuation rapide et aussi complète que possible du contenu gastrique
- l'administration la plus précoce possible de l'antidote : la N-acétylcystéine (Fluimucil®), donneur de groupements -SH qui, au contraire de glutathion, traverse les membranes cellulaires. Ce traitement est très efficace dans les 8 premières heures après l'intoxication. Son efficacité diminue à partir de la 10<sup>ème</sup> heure pour devenir quasiment inefficace après la 15<sup>ème</sup> (Kostrubsky et coll., 2005).

## 2.10 Effets sur l'environnement

Le paracétamol pourrait se transformer en produit toxique, lorsque les usines de traitement des eaux usées utilisent le procédé de javellisation. Le paracétamol se transformerait, sous l'action de l'ion hypochlorite  $\text{ClO}^-$ , en N-acétyl-p-benzoquinone imine et en 1,4-benzoquinone. La première molécule est toxique pour le foie tandis que la seconde est suspectée d'être génotoxique et mutagène (Lee, 2004).

En conclusion, les médicaments peuvent reproduire pratiquement l'ensemble des maladies aiguës ou chroniques hépatiques. Le diagnostic est souvent difficile et repose surtout sur des critères d'exclusion. Des manifestations d'hypersensibilité sont souvent présentes, ce qui facilite le diagnostic et suggère le rôle d'un mécanisme immunoallergique. Le traitement repose essentiellement sur l'interruption de l'administration du médicament responsable.



### Chapitre 3: Ananas, *Ananas comosus* (L.) Merr. (Bromeliaceae)

L'ananas est une plante épiphyte originaire de l'Amérique Centrale. Il a vraisemblablement été importé à Hawaï au 19ème siècle. Il fut ensuite cultivé dans toutes les régions tropicales du monde. Sa culture à Hawaï a périclité dans les dernières années, suite à l'augmentation des coûts salariaux et est désormais concentrée en Amérique du Sud et dans les Philippines.

L'ananas (*Ananas comosus*) fait partie de la famille des broméliacées. Cette plante est reconnaissable à son fruit particulier qui résulte de l'agrégat des baies de l'inflorescence et de bractées devenues charnues. Elle atteint une taille comprise entre 60 et 120 cm. L'ananas ne produit pas de graines mais est cultivé par transplantation de la couronne de feuilles terminales. Son utilisation dans le cadre des régimes amaigrissants est sans doute liée à la présence de son enzyme totale qui est la bromélasé (Schulz et coll., 2001).

L'ananas est une plante herbacée vivace. On ne récolte les fruits que pendant deux ou trois ans. La plante mesure environ 1m de haut ; les fleurs pourpres, au nombre d'une centaine, s'épanouissent alternativement de bas en haut dans un motif en spirale. Elles se fusionnent sans être fécondées et forment un seul fruit. Ce fruit est prêt à être cueilli de 18 à 22 mois après la plantation. L'ananas produit en fait un amalgame de fruits individuels, des « yeux » soudés entre eux. Il est dépourvu de graines. Son épaisse écorce à motif d'écailles prend des teintes de jaune, de vert, de brun verdâtre ou de brun rougeâtre. Sa chair jaunâtre et fibreuse est juteuse et sucrée ; elle est savoureuse, plus tendre, plus sucrée et plus colorée à la base du fruit. Le fruit de l'ananas pèse généralement entre 2 et 4 kg. A côté des usages culinaires bien connus (fruits de tables, jus, sirop et confiseries), l'ananas a été utilisé par la médecine traditionnelle des indiens pour le traitement de troubles aussi divers que la constipation ou la jaunisse (Kelly, 1996).



### 3.1 Différentes variétés d'ananas

Le genre ananas comprend plusieurs espèces : *Ananas bracteatus*, *Ananas ananassoïdes*, *Ananas erectifolius*, *Ananas comosus*. C'est de l'*Ananas comosus* que sont issues toutes les variétés ou cultivars actuellement utilisés. Ils sont classés en trois groupes à savoir : Le *Cayenne* (smooth Cayenne ou Cayenne lisse), un ananas de grosse taille à la chair jaune. Cette dernière, ferme et fibreuse, est juteuse, acide et très sucrée. *Queen* originaire d'Afrique du Sud est une variété très aromatique qu'il est préférable de consommer à l'état frais. C'est un ananas de petite taille ; sa chair est jaune et plus ferme que celle de la variété Cayenne. *L'Abacaxi* ou Pain de sucre est très cultivé au Brésil. C'est une variété de taille moyenne avec une écorce pourpre et une chair pâle. Cette chair acidulée et légèrement fibreuse est très parfumée. C'est une variété à chair jaunâtre ou blanchâtre. Cette chair tendre et sucrée est modérément acide. L'ananas comme fruit est cultivé pour la consommation de sa chair et son jus qui présentent d'intéressantes propriétés très indiquées pour la santé.

#### ➤ Composition de l'ananas

Le fruit contient beaucoup de sucres solubles (mono et disaccharides), d'acides organiques tels l'acide citrique (jusqu'à 8 %) et l'acide malique. La teneur en vitamine C est cependant basse et dépend du "cultivar". Le résidu après extraction du jus est riche en caroténoïdes et en un complexe enzymatique : la bromélaïne découverte la première fois par Heinicke en 1957. L'extraction peut également s'effectuer à partir de la tige et des feuilles. La bromélaïne est une protéase comportant des groupements Thiols; elle est activée par les réducteurs comme la Vitamine C et inhibée par les oxydants et les métaux. L'activité de l'enzyme est déterminée avec différents substrats tels que la caséine, la gélatine (Kamenicek et coll., 2001). La température favorable à l'activité de la bromélaïne se situe entre 40-60°C et un pH de 4-8 ; cette enzyme se désactive à une température supérieure à 65°C (Heinrich et coll., 2004).

Les solutions de bromélaïne se détériorent rapidement par autodigestion. L'addition de sérum contenant des macroglobulines bloque cette autodigestion.

L'utilisation de différentes méthodes d'analyse et de séparation combinées a permis d'isoler différentes protéases de l'extrait brut. Ces dernières ont des comportements chimiques variés, (la bromélaïne du fruit est acide alors que celle des tiges est basique), avec des activités protéasiques variées, allant de l'hydrolyse d'oligopeptides à celle de substrats de haut poids moléculaire comme l'albumine, la caséine ou l'angiotensine.

### 3.1.1 Etude de la bromélaïne

#### ➤ Description

La bromélaïne provient de la tige ou de la chair d'ananas. La bromélaïne est principalement composée des protéases de cystéine, avec un peu de phosphatase, de peroxydase, d'amylase et de cellulase acides. La bromélaïne contient au moins quatre protéases distinctes de cystéine. La protéase principale de la tige s'appelle la bromélaïne de la tige ou la protéase de bromélaïne de la tige. Deux protéases additionnelles trouvées dans la tige s'appellent ananain et le comosain. La bromélaïne de fruit est le nom donné à la protéase principale trouvée dans le fruit. La protéase de tige est une glycoprotéine de base avec un poids moléculaire de 28.000 daltons (Kamenicek et coll., 2001).

L'ananas a été employé comme médecine folklorique par les indigènes des tropiques pendant des siècles. Il a été employé comme aide digestive, comme agent de nettoyage pour améliorer la texture de la peau, et pour guérir les blessures. Il est employé commercialement en certains produits de beauté et comme attendrisseur de viande et supplément diététique. La bromélaïne a aussi des activités qui favorisent la digestion des aliments; elle a aussi des vertus, anti-inflammatoire, antidiarrhéique et anticarcinogénique (Kamenicek et coll., 2001).

### ➤ **Mécanisme d'action**

L'activité digestante de la bromélaïne est basée sur sa capacité d'hydrolyser des protéines en oligo-peptides et en acides aminés. Les enzymes protéolytiques de la bromélaïne sont des protéases de cystéine.

Le mécanisme de l'activité anti-inflammatoire n'est pas explicité. Il peut être expliqué, en partie, par l'activation de production de plasmine à partir de plasminogène et d'une réduction de la quinine, par l'intermédiaire de l'inhibition de la conversion du quinogène en quinine. D'autres possibilités, incluent la dégradation protéolytique de circuler les complexes immuns et l'inhibition de la signalisation par la quinase. On spécule l'effet protecteur possible de la bromélaïne dans l'encéphalomyélite allergique expérimentale.

### ➤ **Indications et utilisation**

Il y a de l'évidence que la bromélaïne peut être utile en expédiant la période curative de quelques dommages et blessures chirurgicales. Elle facilite la digestion des aliments et empêche l'agrégation de plaquettes. La bromélaïne est utilisée pour le traitement de certaines affections comme les thromboses et l'angine. Elle a aussi des effets positifs sur quelques maladies de la région respiratoire. La bromélaïne a récemment montré une capacité à diminuer les métastases de poumon des cellules de cancer de poumon de Lewis chez les souris. Dans une autre étude récente, la bromélaïne orale a été administrée à 16 patients atteints de cancer du sein pendant dix jours. Les résultats de cette étude ont suggéré que la bromélaïne stimule la cytotoxicité déficiente de monocytes chez les patients atteints de tumeurs mammaires (Kamenicek et coll., 2001).

### ➤ **Réactions défavorables**

Des symptômes gastro-intestinaux tels que la nausée, les vomissements et la diarrhée ont été rapportés après l'utilisation de la bromélaïne. Il y a des rapports occasionnels de métrorragie et de ménorragie ont été également rapportés.

## ➤ Interactions

### Drogues

Antibiotiques (amoxicilline, tétracycline) : On a rapporté que l'utilisation concomitante de la bromélaïne et l'amoxicilline ou la tétracycline augmente les concentrations de ces antibiotiques dans le sérum.

Anticoagulants: La bromélaïne peut augmenter l'activité anticoagulante de quelques drogues comme la warfarine.

Agents antithrombotiques: La bromélaïne peut augmenter l'activité antithrombotique de quelques drogues comme l'aspirine.

## ➤ Surdosage

Il n'y a aucun rapport sur les effets du surdosage de la bromélaïne dans la littérature.

## ➤ Dosage et administration

La bromélaïne est disponible comme produit simple d'ingrédient ou en combinaison avec d'autres enzymes supplémentaires. Le dosage s'étend de 500-2.000 GDUs (unités de digestion de gélatine) par jour en trois prises.

## ➤ Toxicité aiguë

Des doses orales jusqu'à 10 g/Kg de poids vif chez l'homme n'ont pas permis de déterminer une DL 50. Par voie intrapéritonéale, la DL 50 est de 37 mg/Kg chez la souris et de 85 mg/Kg chez le rat.

## ➤ Toxicité chronique

La bromélaïne administrée à la dose de 500 mg/Kg par voie orale ne provoque aucune altération dans la prise de nourriture, la croissance, l'histologie cardiaque, rénale ou de la rate.

➤ **Sécurité d'emploi :**

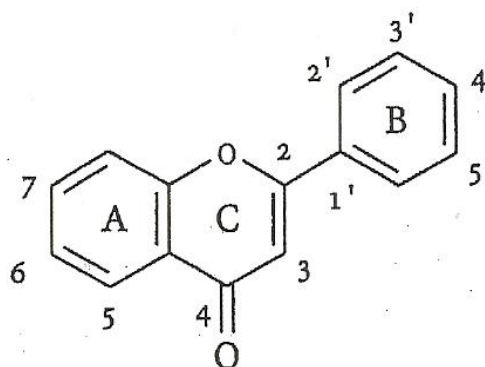
La bromélaïne est considérée comme une substance non toxique et sans effets secondaires à l'exception de réactions allergiques très rares. Elle peut être utilisée à des doses journalières allant de 300 à 5000 mg par individu pendant de longues périodes.

Les effets thérapeutiques commencent à 160 mg/jour par personne adulte mais les résultats les meilleurs sont obtenus avec une dose minimale de 750 mg/jour/ personne adulte à prendre une heure avant les repas.

### **3.1.2 Autres composants chimiques de *Ananas comosus***

#### **3.1.2.1 Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1% des fruits) et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde. Les travaux relatifs aux flavonoïdes se sont multipliés depuis la découverte du « French paradox », correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez des populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées. Selon Di Carlo et coll., (1999), les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo-y-pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- $\delta$ -pyrone (figure 15).



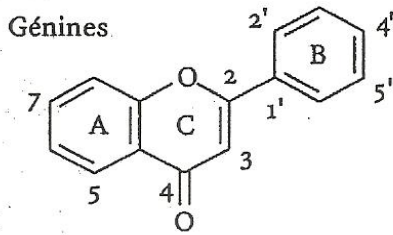
**Figure 15 : Structure de l'enchaînement benzo-p-pyrone (Di carlo et coll., 1999)**

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2.

Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme isoflavonoïdes (Erlund, 2004). Selon la nature de l'hétérocycle ( $\gamma$ -pyrone ou son dihydro-dérivé), on distingue:

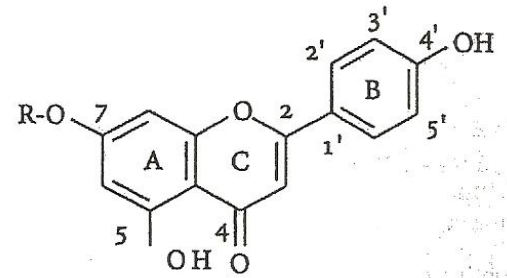
- les flavones et les flavonols,
- les flavanones, les flavanols et les dihydroflavanols.

Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques). Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine. Les flavanones (naringénine) et les flavanols (catéchine) ainsi que les dihydroflavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte (Havsteen, 2002). La formule des flavonoïdes est exprimée dans la figure 16.

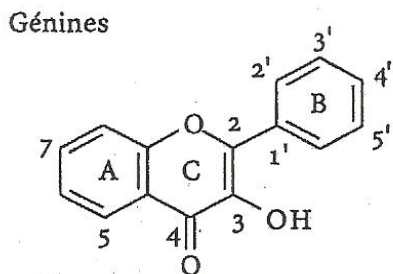
**Flavones**

5      6      7      4'

Apigénine	OH	-	OH	OH
Lutéoline	OH	-	OH	-

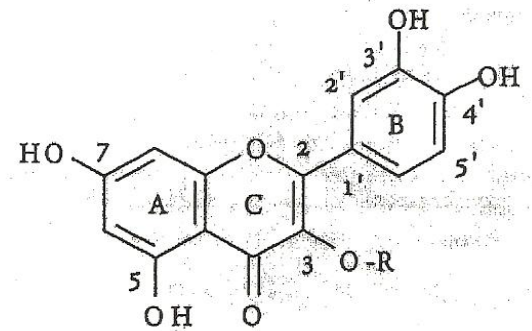
**Hétérosides**

R = néohespéridoside (Glc-Rha) :  
Apigénine-7-néohespéridoside

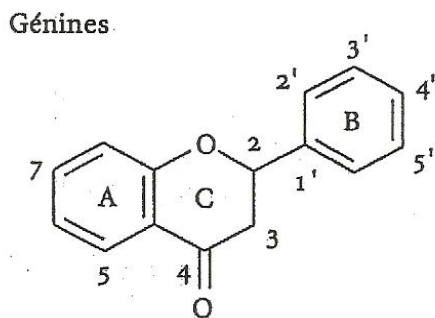
**Flavonols**

5      7      3'      4'      5'

Quercétine	OH	OH	OH	OH	-
Kaempférol	OH	OH	-	OH	-
Myricétine	OH	OH	OH	OH	OH

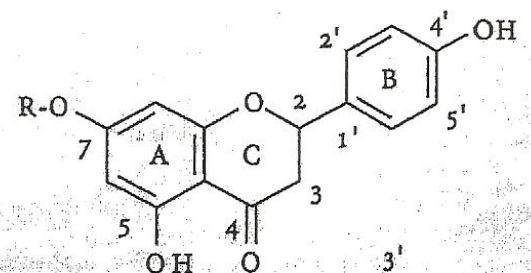
**Hétérosides**

R = rhamnose : Quercitroside

**Flavanones**

5      7      4'

Naringénine	OH	OH	OH
-------------	----	----	----

**Hétérosides**

R = néohespéridoside : Naringine



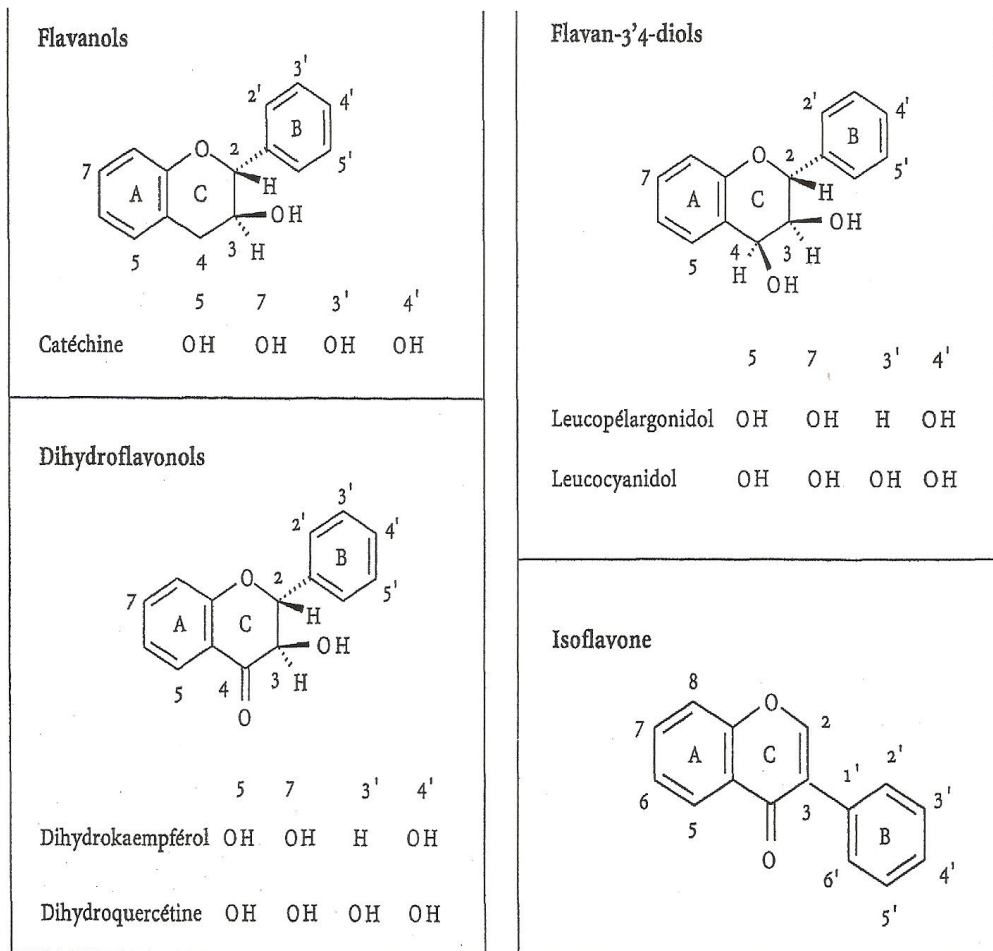


Figure 16 : Différents types structuraux de flavonoïdes (Havsteen., 2002)

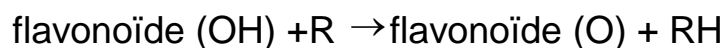


## ❖ Pharmacocinétique

Seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être réabsorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes réabsorbés (Walle, 2004). La muqueuse intestinale et le rein interviennent accessoirement dans ce métabolisme. Une fois réabsorbés, les flavonoïdes vont influencer plusieurs fonctions biologiques dont la synthèse protéique, la différenciation de la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, apportant des effets bénéfiques dans différentes pathologies chez l'Homme (Scalbert et coll., 2002).

## ❖ Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent des propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres (Montoro et coll., 2005). La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres: radicaux hydroxyles (OH), anions superoxydes ( $O_2^-$ ) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante:



Les radicaux libres apparaissent dans plusieurs situations, telles que:

- l'anoxie: qui engendre la production de l'anion superoxyde ( $O_2^-$ )
- l'inflammation: qui correspond à la production d'anions superoxydes ( $O_2^-$ ) par la NADPH-oxydase membranaire des leucocytes activés, et, par dismutation, à celle du très réactif radical hydroxyle (OH.) (Rhee-Evans, 2005), et l'auto-oxydation des lipides: c'est au cours du stress oxydant que les espèces radicalaires, libres de tout contrôle, vont attaquer des cibles bioactives telles que les protéines, altérant ainsi les récepteurs cellulaires et les enzymes, les acides nucléiques (favorisant la survenue des mutations délétères à l'origine de divers cancers) et les lipides, notamment les particules de LDL de l'intima vasculaire, une phase qui constitue le *primum movens* dans la cascade athérogène.

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles (OH) (Riee-Evans, 2005).

En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogénèse. Ils inhibent en plus l'angiogénèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales.

- **Propriétés inhibitrices d'enzymes**

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation; la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase (Varma et Kinoshita, 1976).

- **Effets protecteurs vasculaires**

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique. Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale (Youdim et coll., 2002). Ils sont, de ce fait, utilisés dans certains états pathologiques caractérisés par un défaut affectant la perméabilité vasculaire (Vitol et coll., 2004). Les effets de l'O- $\beta$ -hydroxyéthyl rutoside (HR) ont été étudiés chez des patients présentant une insuffisance veineuse chronique: un traitement à base de HR a permis de restaurer les paramètres hémorhéologiques altérés. D'autres flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoïdes sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine (Ursini et coll., 1999).

- ❖ **Propriétés anti-hépatotoxiques**

Des flavonoïdes issus de *Silybum marianum* (chardon marie) ont été utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle dans le traitement des affections hépatiques. Les principes actifs de l'extrait sont constitués d'un mélange complexe (constitué de composés de type flavolignane et flavanone) appelé silymarine. Testée sur un modèle expérimental animal, la

silymarine a montré qu'elle exerce un effet positif sur les hépatocytes intacts et sur les cellules hépatiques endommagées irréversiblement, agissant sur la membrane cellulaire, prévenant l'entrée des substances toxiques, et qu'elle stimule la capacité régénérative des cellules hépatiques après hépatectomie partielle. L'activité hépatoprotectrice de la silybine, principale flavolignane rencontrée dans la silymarine, a été évaluée chez des souris intoxiquées par des doses non thérapeutiques d'acétaminophène. Ce flavonoïde s'est révélé hépatoprotecteur, mais le mécanisme d'action de cette protection n'est pas encore bien élucidé. La quercétine, issue d'*Artemisia scoparia* a été décrite comme possédant une activité protectrice vis-à-vis de l'hépatotoxicité du paracétamol chez le rat et la souris (Yamamura et coll., 1998).

#### ❖ Propriétés anti-allergiques

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets anti-allergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (Yamamura et coll., 1998).

#### • Activité anti-inflammatoire

*In vitro*, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées, A faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. Certains travaux suggèrent qu'ils posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène. L'hespéridine, administrée par voie sous-cutanée (car inactive *per os*), présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'œdème a été induit aussi bien par la carragénine que par le dextran (Varma et Kinoshita, 1976).

#### • Activité anti-ulcérogène

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. L'hypolaetine-8-glucose, flavonoïde

présent dans diverses espèces du genre *Sideritis*, présente une activité anti-ulcérogène significative.

La naringine et la quercétine exercent également une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol. Il a été suggéré que la quercétine exerce ses effets cytoprotecteurs grâce à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leucotriènes *via* la production de mucus et ses propriétés antioxydantes. Par ailleurs, il a été établi que la quercétine inhibe la croissance d'*Helicobacter pylori* ainsi que la formation d'acide par les cellules pariétales en réponse à une stimulation par l'histamine et l'AMPc dibutyrique (Varma et Kinoshita, 1976).

- **Flavonoïdes et radicaux libres**

L'activité des flavonoïdes comme piègeurs de radicaux libres étant bien établie, des études récentes suggèrent qu'ils seraient également de puissants piègeurs du radical libre NO. Celui-ci étant élaboré par plusieurs types de cellules, notamment les cellules endothéliales et les macrophages; aussi, la libération de NO due à l'activité NO synthase est importante dans le maintien de la dilatation des vaisseaux sanguins.

Certains flavonoïdes ayant la propriété d'inhiber la cyclooxygénase, cela pourrait expliquer l'effet de la quercétine dans le blocage de la vasodilatation due à la relaxation exercée par NO sur les cellules musculaires lisses de l'endothélium vasculaire (NO/EDRF, facteur relaxant dérivant de l'endothélium) (van Acker et coll., 1995).

- **Autres effets biologiques**

Les flavonoïdes préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin. En effet, la myricétine présente des effets hypoglycémiants et hypotriglycéridémiants chez les animaux diabétiques.

L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal élucidé. Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire. A doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires, mais, à concentrations plus

faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés. L'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes dépend, d'une part, de leur capacité à inhiber la formation des eicosanoïdes et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libres d'autre part.

Des propriétés antibactériennes et antivirales des flavonoïdes ont également été mises en évidence. Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (Gonçalves et coll., 2001).

#### ❖ Alimentation riche en flavonoïdes et prophylaxie des maladies cardio-vasculaires et des cancers

L'ingestion de flavonoïdes d'origine alimentaire a été associée à une réduction considérable de la mortalité liée aux maladies cardio-vasculaires. En effet, une étude menée aux Pays-Bas (Zulphen Elderly Study) auprès de 805 sujets de sexe masculin a mis en évidence une corrélation inverse entre la prise de flavonoïdes d'origine alimentaire (thé, oignons, pommes) et les maladies cardio-vasculaires. D'autres études se sont focalisées sur l'impact de la consommation du thé, boisson riche en flavonoïdes, notamment en quercétine. Ce dernier composé exerce des effets antioxydants, antiagrégants et vasodilatateurs pouvant expliquer ses effets cardioprophylactiques. En outre, il a été démontré que la consommation de quercétine dans les oignons (0,3 mg/g de masse fraîche) et les pommes (1 mg/g de masse fraîche de la peau de pommes) est inversement corrélée au risque de cancer du poumon (Knekt, 1997).

#### ❖ Toxicité

Les résultats d'études portant sur les effets indésirables des flavonoïdes proviennent de travaux effectués *in vitro* (Starvic, 1984).

D'autres travaux portant sur des études au long cours ont montré l'absence de carcinogénicité. Contrairement aux propriétés mutagènes potentielles des flavonoïdes rapportées dans des travaux antérieurs, plusieurs études récentes montrent que les flavonoïdes, y compris la quercé-

tine, semblent être antimutagènes *in vivo*.

Une étude clinique menée portant sur 9 959 patients des deux sexes, suivis pendant vingt-quatre ans, a montré l'existence d'une corrélation inverse entre la prise de flavonoïdes (quercétine) et le développement de cancer du poumon. Une des explications de ces données contradictoires réside dans le fait que les flavonoïdes sont toxiques vis-à-vis des cellules cancéreuses mais ne sont pas toxiques ou moins toxiques à l'encontre des cellules normales (Knekt et coll., 1997)

### 3.1.2.2 Les anthocyanes

#### ▪ Présentation et structure

Les anthocyanes, molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'oeil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. Si la coloration des fleurs et des fruits est leur rôle le plus connu, on trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle. Les précurseurs de la biosynthèse des anthocyanes sont les flavan-3,4-*cis*-diol ou leucoanthocyanidines. Cependant les mécanismes et enzymes impliqués dans cette biosynthèse ne sont à ce jour pas totalement connus. Le terme ultime est généralement une glycosylation en position 3 par des enzymes (flavonoïde (anthocyanidine/flavonol)-3-O-glucosyltransférase: FGT) permettant une remarquable stabilisation de la molécule. L'aglycone de l'anthocyane, qui est aussi le chromophore, est appelé anthocyanidine. Les anthocyanes ont une structure de base commune, le cation flavylum ou 2-phényl-1-benzopyrilium (Haslem, 1989).

Les anthocyanes sont glycosylées le plus souvent en position 3 et 5,

les sucres les plus fréquents étant des monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose et arabinose), des di- et trisaccharides formés par combinaison des monosaccharides précédents. Dans la nature, les anthocyanes hydroxylées en position 3 sont en règle générale toujours glycosylées (permettant une meilleure solubilité et stabilité de l'anthocyane) mis à part quelques 3-déoxyanthocyanes telles que l'apigéninidine (3-déoxypélargonidine), la lutéolinidine (3-déoxycyanidine) et la tricétinidine (3-déoxydelphinidine). A leur tour, les sucres peuvent être acylés par l'acide cinnamique, para-coumarique, caféique, ferulique, sinapique ou encore l'acide malonique. La ternatine A3 demeure jusqu'à présent l'une des anthocyanes les plus complexes connues à ce jour. Dans la nature, tous les groupes hydroxyles d'une anthocyane ne sont pas glycosylés, un groupe hydroxyle libre étant nécessaire pour générer toutes les gammes de couleurs responsables (Porter, 1989).

L'ananas contient en outre de l'acide citrique et de l'acide malique qui sont responsables de son goût acide. Ils renforcent l'action de la vitamine C.

# DEUXIEME PARTIE : EXPERIMENTATIONS



Dans la partie expérimentale, trois essais ont été menés. D'une façon générale, les lésions provoquées par le paracétamol sur le foie et les reins des animaux intoxiqués puis les possibles réparations dues à l'utilisation de *Ananas comosus* ont été prises en compte. A l'étape actuelle, différents tests biochimiques ont été réalisés avec des animaux *in vivo* pour rendre compte de l'état de fonctionnement de ces deux organes. Des études ultérieures pourront prendre en compte l'éventuelle implication de la bromélaïne pure, principale enzyme de l'ananas dans les réparations des lésions du foie et des reins des animaux intoxiqués par le paracétamol, son mécanisme d'action et sa toxicité.

Le premier essai, intitulé « Effets de *Ananas comosus*, variété « Pain de sucre » sur les lésions hépatiques dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar » a consisté à une évaluation morphologique, macroscopique et microscopique du foie de ces animaux.

Dans cette optique, un total de vingt-sept (27) rats albinos Wistar mâles ont été sacrifiés suite à l'intoxication au paracétamol et au traitement à l'ananas; leur foie conservé dans du formol à 10% a été utilisé ultérieurement pour la technique de coloration à l'Hématéïne-Eosine.

Les lésions hépatiques ont été irréversibles chez les rats intoxiqués et non traités alors que le parenchyme hépatique était à différents degrés de régénérescence chez ceux qui ont été intoxiqués au paracétamol et traités avec de l'ananas frais. Un article a été tiré de cette étude et a fait objet de publication dans la revue « Journal de la Société de Biologie Clinique ».

Le deuxième travail intitulé « Efficacité de détoxification hépatique de *Ananas comosus* chez des rats Wistar intoxiqués au paracétamol : quelques aspects biochimiques » a exploré les effets hépato-protecteurs de *Ananas comosus* sur vingt huit (28) autres rats albinos Wistar intoxiqués au paracétamol.

Le pédoncule d'ananas variété « Pain de sucre » a été utilisé pour la détoxification hépatique des animaux intoxiqués avec du paracétamol.

Des marqueurs biochimiques du dysfonctionnement hépatique, la phosphatase alcaline (PAL), l'aspartate aminotransférase (ASAT) ou

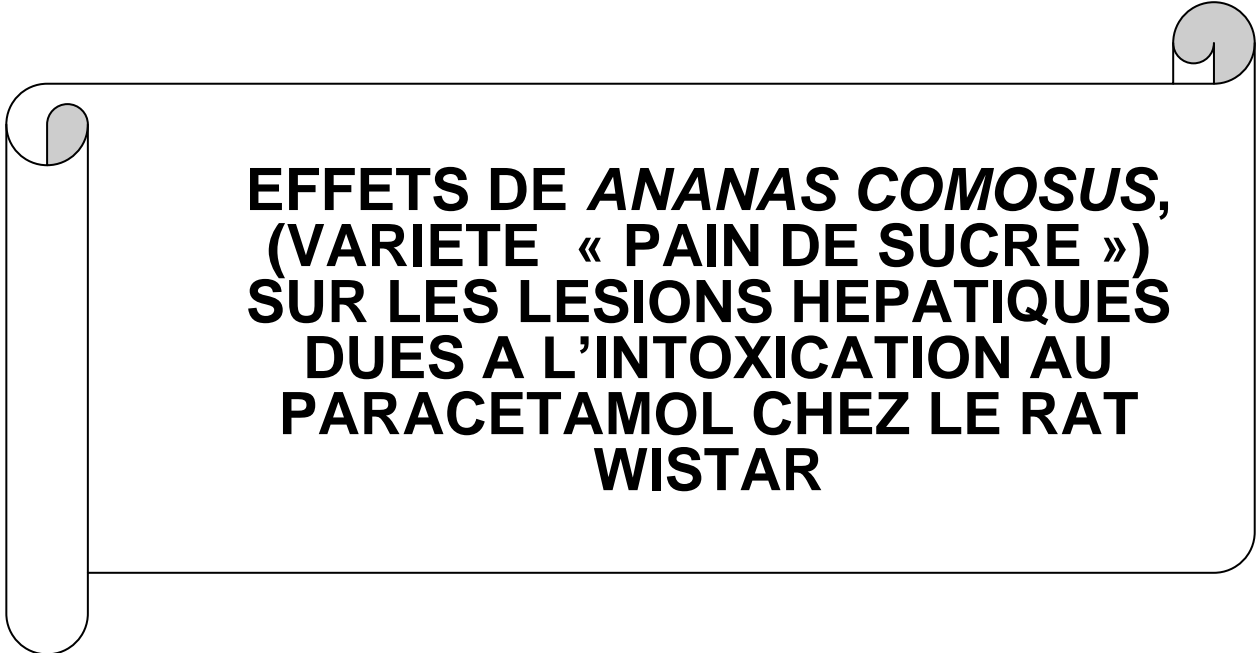
transaminase glutamique-oxaloacétique, l'alanine aminotransférase (ALAT) ou transaminase glutamique pyruvique ont été dosés. Les concentrations plasmatiques de ces marqueurs biochimiques ont sensiblement diminué chez les rats intoxiqués au paracétamol et traités avec *Ananas comosus*. Cette deuxième étude a fait également objet d'une publication dans la revue « Journal of Cell and Animal Biology ».

Le troisième essai intitulé « Effets de l'extrait aqueux du pédoncule d'ananas, variété « Pain de sucre » sur le foie et les reins de rats Wistar intoxiqués au paracétamol a exploré des paramètres biochimiques ainsi que des lésions hépatiques et rénales chez ces animaux. Dans cette optique, cent-vingt (120) autres rats albinos Wistar ont été utilisés.

La technique de coloration à l'Hématéine-Eosine a permis d'évaluer l'ampleur et la réparation des lésions, hépatique et rénale chez les rats albinos Wistar expérimentaux. De même, la technique de coloration à l'Acide Périodique de Schiff a servi à l'évaluation de la réserve de glycogène hépatique.

Les concentrations plasmatiques des paramètres biochimiques comme le glucose, les triglycérides, le cholestérol, l'urée, la créatinine, la bilirubine totale, la gamma-glutamyl-transférase, la lactate déshydrogénase ont été recherchées. Le taux du glutathion a été également évalué.

Les lésions hépatiques ont été réversibles avec l'utilisation de l'extrait d'*Ananas comosus* chez les rats intoxiqués au paracétamol. Par contre, l'extrait de ce fruit n'a pas été efficace sur les lésions rénales. Cette étude a fait l'objet de trois publications dont une dans la revue « Journal of Nutrition Education and Behaviour » et deux dans la revue « International Journal of Biology and Chemical Sciences ». Cette étude a fait également l'objet d'une communication.



**EFFETS DE *ANANAS COMOSUS*,  
(VARIETE « PAIN DE SUCRE »)  
SUR LES LESIONS HEPATIQUES  
DUES A L'INTOXICATION AU  
PARACETAMOL CHEZ LE RAT  
WISTAR**

Cette première partie de la série expérimentale a consisté en l'évaluation des lésions provoquées par le paracétamol sur le foie du rat Wistar intoxiqué pendant deux semaines et des réparations liées à l'utilisation de l'ananas frais, variété « Pain de sucre » pendant quatre semaines.

## Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

### Lieu d'étude

Les études se sont déroulées dans l'Animalerie du Laboratoire de Pathologies du Lapin du Centre Cunicole de Recherches et d'Informations (CE.CU.R.I) sis dans l'enceinte du Campus Universitaire d'Abomey-calavi, au Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée (LARBA) et à l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA) plus précisément dans le Laboratoire d'Histologie et le Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles (LaPHE).

### 1.1 Matériel

#### 1.1.1 Matériel animal

Le matériel animal est constitué de 27 rats mâles albinos de souche Wistar (Institut für Zuchthygiene, Zurich, Suisse) âgés de 5 mois et ayant un poids moyen de  $150 \pm 17$ g; ils ont été répartis en trois lots de 9 animaux dans des cages métalliques dans une salle dont la température est de 25-30°C et où l'humidité relative est autour de 60%. Les rats étaient soumis à un régime alimentaire composé de 53% de maïs écrasé, 19% de farine de poisson, 20% de son de blé, 5% de tourteaux de palmiste, 1,5% de complexe vitaminé et de 1,5% de chlorure de sodium. Le régime alimentaire des animaux était composé de 16,1% de protéines, de 12,9% de fibres et de 2,6% d'acides gras (AOAC, 1995). Les animaux avaient libre accès à l'aliment et à l'eau dans une animalerie qui a servi de milieu d'élevage pour tous les rats Wistar qui ont été utilisés pour nos travaux (figure 17).



**Figure 17 : Animalerie ayant servi de site expérimental.**



### 1.1.2 Produit d'intoxication hépatique

Le Doliprane<sup>®</sup> utilisé en vue de l'intoxication hépatique dans toute la partie expérimentale, contient 20% de paracétamol et provient de la firme Rhône-Poulenc Rohrer (France). Ce produit enregistré sous numéro 3232018, a été acheté à la Pharmacie Togoudo, Département de l'Atlantique au Bénin ; la date de péremption est prévue pour le 02/02/2011.

### 1.1.3 Matériel végétal

L'ananas, variété "Pain de sucre" est acheté sur l'exploitation agricole du Lycée Agricole Médji de Sékou (LAMS), situé dans le Département de l'Atlantique au Bénin. L'échantillon d'ananas a été identifié, certifié et conservé à l'Herbier National du Bénin (N° AA 6336/HNB). Ce matériel végétal est celui utilisé pour tous les essais réalisés (figure 18).



**Figure 18 : Ananas, variété « Pain de sucre » utilisé pour les essais**

## 1.2. Méthodes

### 1.2.1 Etape préliminaire ou préparation et obtention de la dose toxique du paracétamol

La DL50 a été recherchée selon la méthode de Lorke (1983). Il s'agit de la quantité de Doliprane<sup>®</sup> administrée en une seule fois aux rats et qui a causé la mort de la moitié soit 5 (50% de l'effectif des animaux) sur les 10 rats à qui nous avons administré le produit par gavage. La DL50 s'exprime en milligrammes par 100 grammes de poids corporel pour les petits animaux comme le rat. Les comprimés de Doliprane<sup>®</sup> sont réduits en poudre. En effet, en considérant 2500 mg de Doliprane<sup>®</sup> pour 1kg de pV de rat, nous avons constaté la mort de 5 rats sur 10 choisis pour l'expérience. Dans notre étude, la DL50 du paracétamol pour le rat Wistar est égale à 250 mg par 100 g. La dose de Doliprane<sup>®</sup> a été alors réduite jusqu'à 200 mg pour 100 g de pV (dose toxique de paracétamol) retenue pour tous nos essais.

### 1.2.2 Préparation de l'ingéré frais d'ananas

L'ananas acheté est lavé avec de l'eau distillée. Après écoulement de l'eau, la partie superficielle du fruit et la chair sont enlevées. Le pédoncule est pesé et distribué frais aux rats en fonction de leur poids. La matière sèche (MS) d'ananas frais distribué est aussi calculée. Le pourcentage (%) de matière sèche est calculé de la façon suivante :

$$\frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

Avec

$M_0$  : poids vide du récipient

$M_1$  : récipient + ananas frais

$M_2$  : récipient + ananas ayant séjourné 24h à une température de 100°C dans une étuve.

100 g d'ananas variété «Pain de sucre» frais correspondent à 13,51 g de MS

### 1.2.3 Préparation des rats et essais

Les rats ont été constitués en 3 lots. Cette constitution s'est faite au hasard.

Le lot n°1 : « témoin » de 9 rats Wistar : n'a reçu ni du paracétamol, ni de l'ananas frais.

Le lot n°2 : « intoxiqué et traité » de 9 rats Wistar : est constitué de rats ayant reçu du paracétamol à la dose de 2 g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines puis traités avec de l'ananas frais à raison de 26 mg/kg de poids corporel par jour pendant 4 semaines.

Le lot n°3 : « intoxiqué et non traité » de 9 rats : renferme les rats Wistar qui ont reçu du paracétamol à raison de 2g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines et n'ont reçu aucun traitement avec l'ananas frais.

Les différents traitements au paracétamol sont effectués par gavage dans un volume final de 2 ml d'eau distillée.

### 1.2.4 Examen clinique des animaux

Pendant la période expérimentale, les animaux ont été soumis à un examen clinique de façon quotidienne. Certains signes comme la perte d'appétit, le refus de s'abreuver, la coloration de la muqueuse oculaire, les caractéristiques des déjections (diarrhéiques ou non) étaient pris en compte. Le comportement des animaux était aussi observé pour apprécier d'éventuels problèmes d'origine digestive ou nerveuse. Le taux de mortalité était aussi évalué.

### 1.2.5 Autopsie des rats et prélèvement d'organes

A l'issue des deux semaines d'intoxication des animaux avec le paracétamol et des quatre semaines de traitement avec l'ananas frais, 50% de l'effectif de chaque lot ont été sacrifiés. Les rats sont anesthésiés par injection intrapéritonéale de 30 mg de thiopental sodique (Penthotal ; Abbott, Ottignies-Louvain-La-Neuve, Belgique) dilués dans 0,3 ml de sérum physiologique. L'animal étant fixé sur une planche, la tête en extension, on



incise la peau préalablement badigeonnée à l'alcool. Il est procédé à une incision médiane allant de la pointe du sternum à la région pubienne. Les muscles abdominaux sont réclinés révélant les viscères abdominaux pour un examen macroscopique du foie qui sera prélevé par la suite.

### 1.2.6 Examen histopathologique du foie

Les foies des animaux ont été examinés, prélevés, pesés, puis fixés au formol tamponné à 10%. Les foies de rats ainsi fixés, ont servi à la confection de coupes histologiques de 5 µm d'épaisseur, colorées à l'hématéine-éosine. A cet effet, des coupes de foie de rats qui ont subi une coloration nucléaire par une laque progressive d'hématoxyline peuvent être traitées, en guise de coloration de fond, par une solution d'un colorant acide (éosine). L'acidification par 1 à 3 gouttes d'acide acétique pour 100 ml de colorant est indiquée dans la plupart des cas ; un lavage rapide à l'eau distillée, suivi de déshydratation par le méthanol 70° (30 s), d'éclaircissement au xylène (30 s) et de montage au baume met l'observateur en présence de lames montrant à l'évidence que les affinités tinctoriales des noyaux sont différentes de celles des cytoplasmes (Gabe, 1968).

Les coupes sont observées sur microscope photonique de marque Olympus BX 41 muni d'une caméra (JVC, ½ pouces). Les observations sont faites au grossissement X20. Les images sont enregistrées au format JPEG sur un ordinateur.

Les méthodes adoptées pour l'obtention de la dose toxique de paracétamol, de l'ananas à ingérer par les rats, de l'examen clinique des animaux, de l'autopsie des rats et du prélèvement des organes, de l'examen histopathologique du foie sont identiques pour tous les essais.

## Chapitre 2 : Résultats et Discussion

### 2.1 Résultats

#### 2.1.1 Plan de présentation selon les paramètres analysés

##### 2.1.1.1 Examen clinique

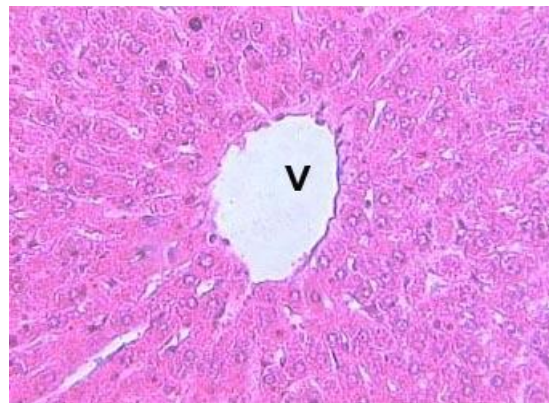
Aucun signe clinique d'intoxication ni de mortalité n'a été observé chez les animaux ; pas de vomissement, de salivation, d'ictère, de décoloration de la langue et des gencives, de dommages corporels ou de manifestations nerveuses chez les rats intoxiqués. Cependant, certains animaux ont montré des signes d'asphyxie et de légère coloration oculaire.

Les résultats de l'examen clinique suite à l'intoxication des rats au paracétamol sont identiques pour tous les essais.

##### 2.1.1.2 Autopsie des rats et prélèvement d'organes

Au plan macroscopique, le foie des rats intoxiqués au paracétamol et non traités avec de l'ananas a une coloration jaunâtre, comparé à celle du foie normal rouge sombre chez le rat non intoxiqué. Par contre, chez le rat intoxiqué, le foie est friable et son poids moyen en g est passé de  $3\pm 0,1$  à  $2,1\pm 0,1$ . Chez les rats intoxiqués au paracétamol et traités avec de l'ananas frais, le foie a été de consistance plus ferme et la coloration moins ictérique. En microscopie photonique, les figures 19, 20 et 21 montrent respectivement les photos de foie normal de rats Wistar ; de foie de rats intoxiqués au paracétamol et non traités puis de foie de rats intoxiqués au paracétamol et traités avec de l'ananas frais.

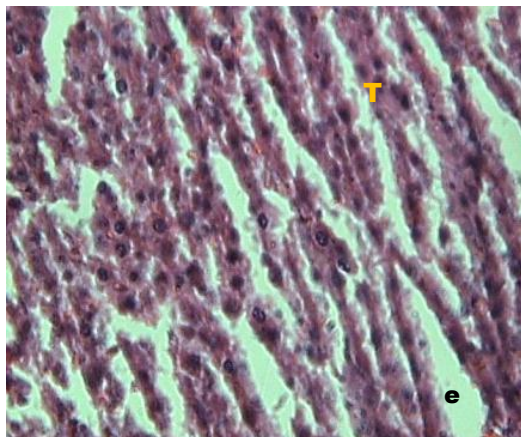
Chez les rats témoins, l'architecture du parenchyme hépatique est normal, marqué par des travées hépatocytaires disposées de façon radiaire autour de la veine centrolobulaire. Les hépatocytes présentent un cytoplasme basophile et volumineux ; un ou deux noyaux bien visibles et pâles (figure 19).



**Figure 19 : Aspects morphologiques du foie normal de rat Wistar (HE, grossissement X 20) V= veine centrolobulaire**

Les hépatocytes sont disposés en travées radiaires autour d'une veine centrolobulaire (V).

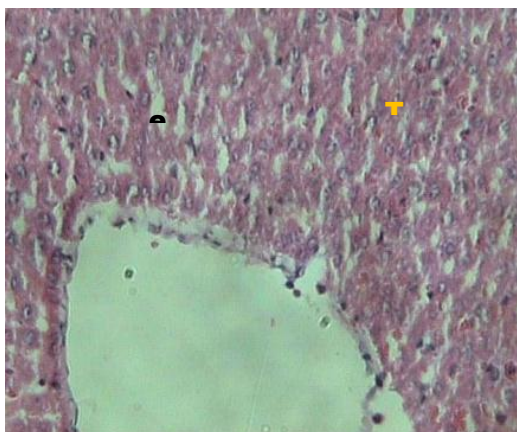
Chez les rats intoxiqués avec du paracétamol et non traités avec de l'ananas frais, le parenchyme hépatique est désorganisé avec élargissement des espaces entre les travées hépatiques. Les noyaux des hépatocytes sont pycnotiques, le cytoplasme est moins dense et acidophile. Les sinusoides hépatiques sont presque absents (figure 20).



**Figure 20 : Foie de rat intoxiqué au paracétamol (HE, grossissement X 20)**

Le parenchyme hépatique est désorganisé : les espaces (e) entre les travées hépatiques (T) sont larges, les noyaux d'hépatocytes sont pycnotiques voire absents ; leur cytoplasme est moins dense et légèrement acidophile ; les sinusoides hépatiques sont presque absents.

Quant au foie des rats intoxiqués avec du paracétamol et traités avec de l'ananas frais (26mg/kg de pV), le parenchyme hépatique est à différents stades de régénération ; les noyaux sont moins sombres, les espaces entre les travées moins larges ; le cytoplasme des cellules hépatiques est basophile (figure 21).



**Figure 21 : Foie de rat intoxiqué au paracétamol et traité à l'ananas (HE, grossissement X 20)**

Le parenchyme reprend progressivement son organisation fonctionnelle avec des noyaux moins sombres, des espaces (e) entre travées hépatiques (T) moins larges.

## 2.2 Discussion

La présente étude a porté sur l'effet de protection hépatique de *Ananas comosus* chez des rats Wistar intoxiqués au paracétamol. La coloration à l'Hématéine -Eosine a permis d'apprécier les lésions provoquées par le paracétamol sur le foie et les réparations obtenues à travers l'utilisation de l'ananas. Cette technique a été utilisée par Gabe (1968) pour colorer les structures du foie.

En ce qui concerne les lésions hépatiques, des résultats similaires à ceux observés chez les animaux qui ont été intoxiqués avec du paracétamol et qui n'ont reçu aucun traitement à base d'ananas ont été notés chez l'homme par Knight et coll., (2005) dans des cas d'intoxication avec le paracétamol. Ce produit en cas de surdosage provoque une dégénérescence hépatique grave. Le paracétamol est largement métabolisé par le

foie en dérivés glucuro ou sulfoconjugués. En temps normal, une faible fraction de ces dérivés est transformée en un métabolite très réactif, le N-acétyl-*p*-benzoquinoneimine qui réagit rapidement avec le glutathion dont il diminue les concentrations. En cas de surdosage, cette réaction devient importante et induit une déplétion plus rapide en glutathion, à l'origine d'un stress oxydatif pouvant entraîner une nécrose hépatique surtout centrolobulaire. La toxicité hépatique impliquerait également une production de peroxy-nitrites à l'origine d'un stress nitrosant (Danel, 2004).

Le paracétamol est un toxique qui agit avec retard sur l'organe cible principal, le foie. Toutefois, une intoxication aiguë, souvent accidentelle chez l'enfant, volontaire chez l'adulte, peut provoquer une insuffisance hépatocellulaire aiguë par nécrose hépatique centrolobulaire (Beuth et Braun, 2005). La toxicité du paracétamol est souvent majorée chez les sujets présentant une induction enzymatique (barbituriques, alcool) ou une déplétion chronique en glutathion (dénutrition, alcoolisme chronique). La dose toxique chez l'homme adulte se situe autour de 10 à 15 grammes de paracétamol en prise unique (Prescott, 2003). Chez les patients qui présentent un déficit en glutathion (dénutris, alcooliques chroniques, femme enceinte) et chez les patients traités par inducteurs enzymatiques (rifampicine, phénobarbital, carbamazépine, phénytoïne), la dose toxique est abaissée à 5 grammes. La dose de Doliprane<sup>®</sup> utilisée au cours de nos travaux pour induire une atteinte hépatique chez le rat est de 2000 mg/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines.

L'action cytolytique du paracétamol sur le foie serait également liée à une inhibition de la cyclooxygénase ce qui provoque une ischémie ayant pour conséquence la nécrose hépatocytaire (Maurer, 2001). L'intoxication de rats Wistar par le paracétamol à raison de 800 mg/kg de poids vif au cours d'une étude réalisée par Watkins et Seef (2006) a provoqué également une nécrose hépatocellulaire.

L'ananas frais utilisé a réduit la gravité de l'intoxication hépatique due au paracétamol chez le rat Wistar. Cet effet favorable de l'ananas serait en rapport avec la présence dans ce fruit de plusieurs composants dont la

bromélaïne, enzyme appelée encore broméline (Brien et coll., 2006). La bromélaïne, enzyme protéolytique agit sur les prostaglandines et inhibe la bradykinine, une substance qui accroît la perméabilité vasculaire et qui stimule la douleur (Beuth et Braun, 2005). De même, cette enzyme favorise la production de cytokines, éléments catalyseurs du système immunitaire et du stress (Hou et coll., 2006). La bromélaïne réduit la transaminase glutamate-oxaloacetate (TGO), enzyme plasmatique dont le taux augmente dans les atteintes hépatiques comme les lésions liées à l'intoxication au paracétamol.

Les différents effets biologiques de cette enzyme pourraient expliquer le rétablissement progressif des structures hépatiques préalablement désorganisées suite au surdosage au paracétamol. Il est aussi important de signaler que la bromélaïne est la principale enzyme que renferme l'ananas (Hale et coll., 2006).

Cette enzyme a des propriétés, anti-oedémateuse, anti-inflammatoire, anti-thrombotique et anti-fibrinolytique qui pourraient être favorables au processus de réparation suite à la nécrose hépatocytaire. Toutefois ce rôle de réparation de la bromélaïne déjà souligné par Orsini (2006) serait renforcé par d'autres constituants de l'ananas. En effet, le screening phytochimique de l'ananas a révélé la présence de flavonoïdes qui jouent un rôle d'anti-oxydant, contribuant ainsi à la réparation des lésions hépatiques provoquées par le paracétamol. De la même manière, les autres composés comme les tanins, les leucoanthocyanes, les mucilages, les coumarines et les composés réducteurs que renferme l'ananas pourraient renforcer le rôle anti-oxydant des flavonoïdes et de la bromélaïne.

### **Conclusion partielle**

De l'analyse de la présente étude, il ressort que :

*i)* Le paracétamol utilisé à raison de 2g/kg de poids vif s'est avéré hépatotoxique chez le rat Wistar

*ii)* *Ananas comosus* frais (variété « Pain de sucre » à raison de 26



mg/kg de pV a eu un effet réparateur des lésions hépatiques chez les rats Wistar intoxiqués au paracétamol.

Certes, d'autres travaux s'avèrent nécessaires pour extraire la bromélaïne, l'utiliser directement chez les rats Wistar intoxiqués au paracétamol et cerner ses mécanismes d'action dans le processus de réparation hépatocytaire.



## **EFFICACITE DE DETOXICATION HEPATIQUE DE *ANANAS COMOSUS* CHEZ DES RATS WISTAR INTOXIQUES AU PARACÉTAMOL : QUELQUES ASPECTS BIOCHIMIQUES**

Cette partie expérimentale mesure les lésions hépatocytaires en utilisant les tests biochimiques de cytolyse et de cholestase chez 28 rats albinos Wistar intoxiqués au paracétamol pendant deux semaines et traités avec différentes quantités (13 mg et 26 mg par kg de poids vif) d'ananas frais pendant quatre semaines. Ainsi les transaminases, alanine aminotransférase (ALAT) ou transaminase glutamique pyruvique (TGP) et aspartate aminotransférase (ASAT) ou transaminase glutamique oxaloacétique (TGO) ainsi que la phosphatase alcaline (PAL) ont été dosées à J0, J14 et J42.

## Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

### 1.1 Matériel

#### 1.1.1 Matériel animal

Le matériel animal est constitué de 28 rats mâles albinos de souche Wistar de provenance, de sexe, d'alimentation et d'âge identiques à ceux qui ont été utilisés pour le premier essai.

#### 1.1.2 Produit d'intoxication hépatique

Le Doliprane<sup>®</sup> utilisé est celui qui a servi pour l'intoxication des rats pendant la précédente étude.

#### 1.1.3 Matériel de laboratoire

Le dosage des enzymes a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre de marque « Thermo Electron » ; les Kit PAL, ALAT et ASAT proviennent de l'Etablissement Français du Sang Alpes-Méditerranée 149, Bd Baille 13392 Marseille Cedex 5.

#### 1.1.4 Matériel végétal

Il s'agit de l'ananas « Pain de sucre » retenu pour le traitement des rats intoxiqués pendant le premier essai.

### 1.2 Méthodes

#### 1.2.1 Préparation de l'ingéré frais d'ananas

La technique de préparation de l'ingéré frais d'ananas est la même que celle adoptée au cours de l'essai précédent.

## 1.2.2 Préparation des rats et essais

Les rats ont été constitués en 4 lots de 7. Cette constitution s'est faite au hasard.

Le lot n° 1 : lot « témoin » n'a reçu ni du paracétamol, ni d'ananas frais.

Le lot n° 2 : lot « intoxiqué et traité » est constitué de rats ayant reçu du paracétamol à la dose de 2 g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines puis traités avec de l'ananas frais à raison de 13 mg/kg de poids corporel par jour pendant 4 semaines.

Le lot n° 3 : lot « intoxiqué et traité » renferme les rats Wistar qui ont reçu du paracétamol à raison de 2g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines et ont reçu un traitement avec l'ananas frais à raison de 26 mg/kg de poids corporel par jour pendant 4 semaines.

Le lot n°4 : lot « intoxiqué et non traité » renferme les rats Wistar qui ont reçu du paracétamol à raison de 2g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines et n'ont pas reçu de traitement avec l'ananas.

Les différents traitements au paracétamol sont effectués par gavage dans un volume final de 2 ml d'eau.

## 1.2.3 Analyses biochimiques

### 1.2.3.1 Prélèvement de sang pour le dosage de la phosphatase alcaline et des transaminases

A partir de la veine caudale, 2 ml de sang sont prélevés dans un tube sérum plastique Gosselin 59522 Hazebrouck France. Les prélèvements ont été effectués à J0, J14 et J42 dans les lots n° 1, 2, 3 et 4. Le sérum obtenu après 5 minutes de centrifugation a servi au dosage des enzymes. Un effectif de 20% de chaque lot est pris en compte pour le prélèvement sanguin.

### **1.2.3.2 Dosage de la phosphatase alcaline (Test de cholestase) et des transaminases (Test de cytolysé hépatique).**

#### **-Dosage de phosphatase alcaline**

Après centrifugation, l'échantillon à analyser est ajouté au substrat ; le mélange est soumis à une cinétique enzymatique au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 405 nm à 37°C et un trajet optique de 1 cm. Le niveau zéro de l'appareil s'obtient avec de l'eau distillée. La quantité de réactif de travail est de 1 mL et celle de l'échantillon est de 20µl. Avant tout dosage, nous laissons l'appareil en marche pendant au moins 15 mn. Les réactifs sont conservés à une température de 2 à 8°C et laissés pendant environ 15 mn à la température du laboratoire avant leur utilisation. La linéarité de la phosphatase alcaline peut aller jusqu'à 700UI/L et la limite de détection est de 7,5 UI/L.

#### **-Dosage des transaminases**

Le réactif permet la détermination cinétique de l'activité de l'ASAT ou de l'ALAT avec couplage à une réaction indicatrice à NAD réduit, en tampon Tris-Hcl 100 mM pH 7,50, sans phosphate de pyridoxal, dans le plasma. On mesure la vitesse de disparition de NADH à 340 nm qui est proportionnelle à l'activité catalytique des enzymes. La méthode est manuelle avec un spectrophotomètre en marche 15 mn au moins avant le dosage. Le réactif aliquoté est sorti du réfrigérateur. On l'incube au bain marie (37°C) jusqu'au moment du dosage. La température est entre 30-37°C. Le zéro de l'appareil est établi avec de l'eau distillée. On mélange soigneusement l'échantillon au réactif et on réalise aussitôt la lecture. La linéarité est 250 UI/L ; la limite de détection est 3 UI /L ; la sensibilité est de 15 UI/L.

### 1.2.4 Méthodes statistiques utilisées

Après le traitement, les données recueillies ont été soumises à l'analyse de variance sous le Logiciel Statistica 6.0 (1998). En cas de différence significative, le Test de Student Newman-Keuls a été utilisé avec un risque d'erreur  $p$  tel que :

$p > 0,05$  = la différence n'est pas significative

$0,05 > p > 0,01$  = la différence est significative

$0,05 > p > 0,0001$  = la différence est hautement significative

$p < 0,0001$  = la différence est très hautement significative

## Chapitre 2 : Résultats et Discussion

### 2.1 Résultats

#### 2.1.1 Etude clinique

Les résultats de l'étude clinique correspondent à ceux obtenus au cours de l'étude précédente.

Aucun signe clinique d'intoxication ni de mortalité n'a été observé chez les animaux ; pas de vomissement, de salivation, d'ictère, de décoloration de la langue et des gencives, de dommages corporels ou de manifestations nerveuses chez les rats intoxiqués. Cependant, certains animaux ont montré des signes d'asphyxie une légère coloration oculaire.

#### 2.1.2 Concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline (PAL)

A J0, il n'y a pas de différence significative au seuil de 5% entre les quatre lots. A J14, ces valeurs ont subi une nette augmentation chez les animaux intoxiqués avec la valeur la plus élevée de  $437,30 \pm 1,85$  UI/L chez les rats intoxiqués et qui n'ont pas été traités avec de l'ananas.

A J42, les concentrations de cette enzyme ont diminué presque de moitié chez les animaux qui ont été traités avec de l'ananas ( $223,67 \pm 3,28$  UI/L pour le traitement de 13 mg/kg et  $222,67 \pm 3,71$  UI/L pour le traitement de 26 mg/kg de poids vif). Par contre, les niveaux de la phosphatase alcaline ont été croissants chez les animaux intoxiqués et non traités avec de l'ananas ( $450 \pm 1,92$  UI/L) avec une différence très hautement significative au seuil de probabilité de 0,1% entre J14 et J42 (Tableau I).

**Tableau I : Evolution des concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline (PAL) en UI/L**

Lots	Phosphatase alcaline en UI/L		
	J0	J14	J42
Lot n°1	134,33±2,96 a	138±2,37 a	140,67±3,10 a
Lot n°2	137,33±3,93 a	406,67±7,17 b	223,67±3,28 b
Lot n°3	139,33±2,18 a	408,33±2,03 b	222,67±3,71 b
Lot n°4	140±2,52 a	437,30±1,85 c	450±1,92 c
<b>Probabilité</b>	<b>0,75 ns</b>	<b>0,0009***</b>	<b>&lt;0,0001***</b>

\*\*\* = différence très hautement significative au seuil de 0,1% ; ns = différence non significative au seuil de 5%. Les valeurs moyennes suivies par la même lettre sont non significativement différentes au seuil de probabilité 5%. Celles suivies par des lettres différentes sont significativement différentes.

Lot n°1 : témoin; sans paracétamol ni ananas frais.

Lot n°2 : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 13mg/kg de pV par jour pendant 4 semaines.

Lot n°3 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 26mg/kg de pV pendant 4 semaines.

Lot n°4 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines et sans aucun traitement à l'ananas frais.



### 2.1.3 Concentrations plasmatiques de l'alanine aminotransférase (ALAT)

A J0, il n'y a pas de différence significative au seuil de 5% entre les différents lots. Après l'induction de la toxicité hépatique avec le paracétamol, il y a une différence significative au seuil de 0,1% entre les animaux du lot témoin et les animaux traités à J14. A J42, les valeurs de  $61,67 \pm 10,41$  UI/L et de  $295 \pm 2,64$  UI/L ont été obtenues respectivement au niveau du lot témoin et des animaux intoxiqués et non traités. La différence est hautement significative entre ces lots au seuil de 0,1%. Il en est de même entre les valeurs de  $106 \pm 2,31$  UI/L pour 13 mg/kg et  $118,33 \pm 11,67$  UI/L pour 26 mg/kg de pV, comparées à celle obtenue avec les animaux intoxiqués et non traités. A J42, les valeurs de cette enzyme chez les animaux intoxiqués et traités avec de l'ananas ont significativement diminué par rapport aux concentrations obtenues à J14, mais sans atteindre celle du lot témoin (tableau II).

**Tableau II : Evolution des concentrations plasmatiques de l'alanine aminotransférase (ALAT) en UI/L**

Lots	Alanine aminotransférase (ALAT) en UI/L		
	J0	J14	J42
Lot n°1	69,33±0,88 a	70,33±0,88 a	61,67±10,41 a
Lot n°2	70,33±1,67 a	242,67±31,67 b	106±2,31 c
Lot n°3	70,67±4,25 a	248,67±35,89 b	118,33±11,67 c
Lot n°4	73±1,53 a	286,33±3,18 c	295±2,64 b
<b>Probabilité</b>	<b>0,75 ns</b>	<b>0,0009***</b>	<b>&lt;0,0001***</b>

\*\*\* = différence très hautement significative au seuil de 0,1% ; ns = différence non significative au seuil de 5%. Les valeurs moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité 5%. Celles suivies par des lettres différentes sont significativement différentes.

Lot n°1 : témoin; sans paracétamol ni ananas frais.

Lot n°2 : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 13mg/kg de pV par jour pendant 4 semaines.

Lot n°3 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 26mg/kg de pV pendant 4 semaines.

Lot n°4 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines et sans aucun traitement à l'ananas frais.

### 2.1.4 Concentrations plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

A J0, il n'existe pas de différence significative au seuil de 5% entre tous les lots. Après l'intoxication avec le paracétamol, une différence significative au seuil de 0,1% a été constatée entre les concentrations obtenues avec les rats du lot témoin et celles des autres animaux à J14. A J42, les valeurs obtenues ( $117,33 \pm 2,73$  UI/L pour 13 mg/kg et  $114,67 \pm 4,83$  UI/L pour 26 mg/kg de pV) ont significativement diminué par rapport à J14 mais sans atteindre le niveau du lot témoin ; la concentration ( $178 \pm 1,53$  UI/L) de ce marqueur biochimique étant plus élevée chez les rats intoxiqués et non traités avec de l'ananas (tableau III).

**Tableau III : Evolution des concentrations plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT) en UI/L**

Lots	Aspartate aminotransférase (ASAT) en UI/L		
	J0	J14	J42
Lot n°1	41±3,05 a	45,67±2,33 a	47,33±6,84 a
Lot n°2	47,33±4,37 a	184,67±3,75 b	117,33±2,73 c
Lot n°3	47,68±3,38 a	181±5,51 b	114,67±4,83 c
Lot n°4	43,33±2,40 a	171±3,78 c	178±1,53 b
<b>Probabilité</b>	<b>0,75 ns</b>	<b>0,0009***</b>	<b>&lt;0,0001***</b>

\*\*\* = différence très hautement significative au seuil de 0,1% ; ns = différence non significative au seuil de 5%. Les valeurs moyennes suivies par la même lettre sont non significativement différentes au seuil de probabilité 5%. Celles suivies par des lettres différentes sont significativement différentes.

Lot n°1 : témoin; sans paracétamol ni ananas frais.

Lot n°2 : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 13mg/kg de pV par jour pendant 4 semaines.

Lot n°3 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 26mg/kg de pV pendant 4 semaines.

Lot n°4 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines et sans aucun traitement à l'ananas frais.

## 2.2 Discussion

### 2.2.1 Evolution des concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline

Les concentrations plasmatiques en UI/L de la phosphatase alcaline chez les rats du lot témoin durant toute l'expérimentation et les autres rats à J0 sont considérées comme des valeurs physiologiques pour le rat sain. Ces valeurs ne sont pas en concordance avec celles mesurées par Kaneko (1989). En effet cet auteur a établi la valeur plasmatique normale de la PAL à  $419 \pm 15$  UI/L, mais chez des rates. Cette différence s'explique par le fait que l'âge et le sexe peuvent influencer la concentration plasmatique de la phosphatase alcaline (Rousseau, 1978).

La concentration de la phosphatase alcaline a globalement augmenté chez tous les rats après l'intoxication avec le paracétamol. L'augmentation du niveau de cette enzyme a déjà été notifiée par Rousseau (1978) lors des altérations hépatiques, surtout quand il y a des troubles mécaniques du foie à l'origine d'une stase biliaire. L'enzyme ne pouvant plus être éliminée normalement par la bile, se trouve réabsorbée et passe dans le sang. Ainsi, dans les cas d'ictère par rétention biliaire, une augmentation du taux de cette enzyme est constatée dans le sérum. Celle-ci, serait proportionnelle au degré d'obstruction des canaux biliaires.

Suite au traitement à l'ananas, les concentrations plasmatiques de la phosphatase alcaline ont respectivement chuté de  $406,67 \pm 7,17$  UI/L à  $223,67 \pm 3,28$  UI/L pour le traitement de 13 mg/kg de pV et de  $408,33 \pm 2,03$  UI/L à  $222,67 \pm 3,71$  UI/L pour les 26mg/kg de pV. Cette diminution significative pourrait s'expliquer par l'action favorable induite par l'ananas frais sur le foie des rats préalablement intoxiqués par le paracétamol. En effet, l'ananas frais renferme selon Schulz et coll., (2001) un mélange d'enzymes digestives dont la principale est la broméline ou bromélaïne. Cette enzyme est absorbée par l'organisme et passe dans le sang pour exercer une activité systémique. Ainsi, elle inhibe la production de

prostaglandines à l'origine des inflammations (Stone et coll., 2002). La diminution des phénomènes inflammatoires a pour conséquence la régression des altérations hépatiques, d'où la baisse de la concentration de la PAL chez les rats Wistar intoxiqués puis traités.

### 2.2.2 Evolution des concentrations plasmatiques de l'alanine aminotransférase (ALAT)

Les valeurs normales de l'ALAT sont en concordance avec celles définies par Kamdem et coll., (1981) c'est-à-dire  $74,7 \pm 3,8$  UI/L mais diffèrent significativement de celles établies par Vaissaire (1989). En effet, cet auteur a proposé 130 UI/L comme valeur moyenne de l'ALAT chez des rats âgés de trois mois alors que les rats utilisés dans la présente expérimentation sont âgés de cinq mois. Certes, l'augmentation des transaminases n'est pas spécifique de la lésion d'un organe. Mais généralement, les ALAT augmentent plus que les ASAT dans les hépatopathies. En effet, la valeur de l'ALAT s'est accrue chez tous les rats intoxiqués avec le taux le plus élevé ( $295 \pm 2,64$  UI/L) à J42 chez les rats intoxiqués par le paracétamol et non traités par de l'ananas. Selon Lecoanet (1981), une augmentation du taux de l'ALAT signifierait un dysfonctionnement hépatique. Les ALAT se trouvent beaucoup plus en abondance dans le cytoplasme des hépatocytes. Le dommage occasionné par le paracétamol aurait provoqué une libération de cette enzyme retrouvée beaucoup plus en abondance dans le sang. Les concentrations de cette enzyme ont sensiblement diminué chez les rats intoxiqués par le paracétamol et traités par l'ananas sans avoir atteint la concentration obtenue au niveau des animaux témoins. La diminution du taux d'ALAT serait liée à l'effet bénéfique de *Ananas comosus* au niveau du foie lésé. Ce fruit contient des substances comme les polyphénols et la bromélaïne qui auraient contribué à cette régénération hépatique.

### 2.2.3 Evolution des concentrations plasmatiques de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

Les valeurs normales de l'ASAT obtenues diffèrent de celles proposées par Kamdem (1981) et Vaissaire (1989) à savoir respectivement  $178 \pm 20,99$  UI/L et  $200 \pm 26$  UI/L. Ces résultats sont par contre en harmonie avec le taux de  $42,9 \pm 10,1$  UI/L établi par Kaneko (1989). Le facteur d'âge est également incriminé dans ces cas. L'intoxication avec le paracétamol a fait augmenter le taux de l'ASAT chez les animaux intoxiqués mais dans une moindre mesure par rapport aux résultats obtenus avec l'ALAT. En effet, la concentration de l'ASAT a été de  $178 \pm 1,53$  UI/L contre  $295 \pm 2,64$  UI/L pour l'ALAT chez les animaux intoxiqués et non traités par l'ananas pendant la même période. Ce résultat est en harmonie avec l'approche de Shünck et Alain, (1997). En effet, selon ces auteurs, les ALAT augmentent plus que les ASAT dans les hépatopathies et les ASAT plus que les ALAT dans les nécroses musculaires, entre autres, l'infarctus du myocarde. La concentration de l'ASAT étant plus faible que celle de l'ALAT pendant la même période expérimentale, l'atteinte hépatique se confirme effectivement comme l'ont notifié Banting et coll., (1975) et Rousseau (1978). Lecoanet (1981) indique également que chez les bovins et les ovins, les valeurs plasmatiques de l'ALAT subissent une importante augmentation lors des affections hépatiques aiguës alors que celles de l'ASAT sont moins marquées. Toutefois, les lésions chroniques du foie telles que la sclérose diffuse, les abcès hépatiques n'entraînent souvent pas de modification significative de l'activité de l'ALAT moins encore celle de l'ASAT; l'exploration de ces deux enzymes étant souvent effectuée de manière couplée. Lorsque l'ASAT est élevée et l'ALAT normale, on suspecte une atteinte musculaire ; si l'ASAT et l'ALAT augmentent simultanément avec la valeur de l'ASAT moins élevée que celle de l'ALAT, on suspecte une atteinte hépatique (Lecoanet, 1981).

## Conclusion partielle

Les résultats obtenus au cours de l'essai permettent de parvenir aux conclusions suivantes:

- le paracétamol utilisé à raison de 2000 mg/kg de poids vif a affecté le fonctionnement hépatique des rats Wistar.

- l'ananas frais, variété « Pain de sucre » distribué à raison de 0,013mg/g de poids vif et de 0,026 mg/g de poids vif a eu un effet favorable sur le métabolisme du foie des rats Wistar intoxiqués avec du paracétamol.

Toutefois, il serait souhaitable d'évaluer d'autres paramètres biologiques du foie autres que la phosphatase alcaline et les transaminases et vérifier aussi la toxicité de l'ananas, variété « Pain de sucre ».



**« EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DU  
PEDONCULE D'ANANAS, VARIETE  
« PAIN DE SUCRE » SUR LE FOIE ET  
LES REINS DE RATS WISTAR  
INTOXIQUES AU PARACETAMOL »**

Cette partie expérimentale mesure les lésions hépatocytaires en utilisant les tests biochimiques de lésions hépatiques chez 120 rats albinos Wistar intoxiqués au paracétamol pendant deux semaines et traités avec différentes quantités (0,06 ml et 0,12ml par kg de poids vif) d'extrait du pédoncule d'ananas, variété « Pain de sucre » pendant quatre semaines. Ainsi, le glucose, les triglycérides, le cholestérol, l'urée, la créatinine, la bilirubine totale, la gamma-glutamyl-transferase, le glutathion, la lactate déshydrogenase (LDH) ont été dosés à J7, J14, J21, J28, J35 et J42.

Cette étude a consisté également en l'évaluation des lésions histologiques provoquées par le paracétamol sur le foie du rat Wistar intoxiqué pendant deux semaines et des réparations liées à l'utilisation de l'extrait d'ananas, variété « Pain de sucre » pendant quatre semaines. Eu égard à l'important rôle joué par les reins dans la détoxication, nous avons jugé opportun d'analyser également les lésions au niveau rénal.

## Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

### 1.1 Matériel

#### 1.1.1 Matériel animal

Le matériel animal est constitué de 120 rats mâles albinos de souche Wistar (Institut für Zuchthygiene, Zurich, Suisse) âgés de 5 mois et ayant un poids moyen de 150 g; ils ont été répartis en 4 lots de 30 animaux. Ils ont été élevés sur le même site et soumis à des conditions alimentaires et environnementales identiques à celles des rats des expérimentations précédentes.

#### 1.1.2 Produit d'intoxication hépatique

Les rats ont été intoxiqués par le même produit Doliprane® utilisé au cours des essais précédents.

#### 1.1.3 Extrait d'*Ananas comosus*

L'extrait d'ananas dont l'effet protecteur du foie et des reins des rats Wistar intoxiqués au paracétamol a été recherché dans la présente étude provient de l'ananas, variété « Pain de sucre ». Ce fruit provient aussi du Lycée Agricole Médji de Sékou (LAMS), situé dans le Département de l'Atlantique au Bénin. L'échantillon d'ananas a été identifié, certifié et conservé à l'Herbier National du Bénin (N° AA 6336/HNB).

#### 1.1.4 Matériel de laboratoire

Le matériel de Laboratoire comprend des Kits pour le dosage des paramètres biochimiques : glucose, triglycérides, cholestérol, bilirubine totale, urée, créatinine, gamma-glutamyl-transpeptidase et lactate déshydrogénase qui proviennent de Biomérieux, France.

Le glutathion provient de la firme Sigma-Aldrich NV/SA. K. Cardijnplein8, 2880 Bornem, f0800-14745 Belgique.

## 1.2 Méthodes

### 1.2.1 Etape préliminaire ou préparation et obtention de la dose toxique du paracétamol

La dose toxique de paracétamol utilisée au cours de cet essai a été la même que celle retenue pour intoxiquer les rats au cours des essais précédents.

### 1.2.2 Préparation de l'ananas frais

L'ananas acheté est lavé avec de l'eau distillée. Après écoulement de l'eau, la peau et la chair sont enlevées.

100 g d'ananas variété «pain de sucre» frais correspondent à 13,51 g de MS

Pour déterminer la quantité de l'extrait d'ananas à administrer, 13 mg et 26 mg d'ananas frais ont été écrasés pour être transformés en extrait. Sachant que 300 mg d'ananas frais ont donné une quantité de 1,2 ml d'extrait, on a : 0,06 ml pour 13 mg et 0,12 ml pour 26 mg d'ananas frais. Pour l'obtention de l'extrait d'ananas, cent grammes de l'axe central (pédoncule) de l'ananas frais bien lavé sont découpés puis broyés avec 100 ml d'eau distillée. Au broyat est ajouté, du chlorure de sodium à raison de 20% de la masse de l'axe central frais découpé. Le chlorure de sodium permet la solubilisation des enzymes dans l'eau. Le mélange est laissé au repos pendant au moins 30 mn pour parachever la solubilisation des enzymes dans la solution aqueuse. Le mélange est ensuite filtré et laissé au repos pour une bonne décantation pendant 48 h à 4°C. Après la décantation, le surnageant est recueilli pour être centrifugé ( $G = 9810$  tr/min). Le surnageant recueilli est alors porté à évaporation dans l'évaporateur sous vide à 40-50°C afin d'avoir un condensat liquide concentré en enzyme. Dans le souci de préserver le condensat, un agent de conservation, le benzoate de sodium à 1% (m/v) a été ajouté (Dossou et Ossey, 2006).

### 1.2.3 Préparation des rats et essais

Les groupes d'animaux se sont constitués au hasard. Quatre lots de 30 rats ont été formés :

Lot 1 (30 rats): animaux témoins recevant ni du paracétamol, ni l'extrait d'*Ananas comosus*.

Lot 2 (30 rats): les rats ont reçu par voie orale 2 g de paracétamol par kg de poids vif et un traitement de 0,06 ml de l'extrait d'*Ananas comosus* par kg par jour pendant 42 jours.

Lot 3 (30 rats): les rats ont reçu par voie orale 2 g de paracétamol par kg de poids vif et un traitement de 0,12 ml de l'extrait de *Ananas comosus* par kg par jour pendant 42 jours.

Lot 4 (30 rats): les rats ont reçu par voie orale 2 g de paracétamol par kg de poids vif par jour pendant 42 jours et n'ont pas reçu de traitement à base de l'extrait de *Ananas comosus*.

### 1.2.4 Analyse physicochimique de l'ananas

Les différents groupes chimiques de l'ananas ont été recherchés grâce à la réaction à la cyanidine dite de SHINODA (Annexe 1).

### 1.2.5 Examen clinique des animaux

Pendant la période expérimentale, les animaux ont été soumis à un examen clinique de façon similaire aux essais précédents.

### 1.2.6 Analyses biochimiques

Les analyses biochimiques comprennent le dosage, des enzymes sériques comme la LDH et la gamma-glutamyl-transpeptidase, de la bilirubine, de l'urée, de la créatinine, du cholestérol, les tests biochimiques spécifiques comme le glucose et les triglycérides, le glutathion hépatique (Annexe 2).

- **Dosage du glutathion hépatique**

Le glutathion hépatique a été dosé par spectrophotométrie selon la méthode de Parks et coll., (2001). Un gramme de foie frais est homogénéisé dans trois volumes de TCA 5% à l'aide d'un broyeur de Dounce puis homogénéisé et centrifugé à 2000 tours/minute. Ensuite, 50µl de surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon phosphate 0,1 M, pH =8. A 3 ml du mélange de dilution, on a additionné 20µl de DTNB (0,01 M). La lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5%. Les concentrations sont exprimées en millimoles de glutathion par gramme de foie.

### **1.2.7 Autopsie des rats et prélèvement d'organes**

A l'issue des deux semaines d'intoxication des animaux avec le paracétamol et des quatre semaines de traitement avec l'ananas frais, 50% de l'effectif de chaque lot ont été sacrifiés. L'autopsie des rats s'est réalisée en respectant le même protocole que le premier essai.

### **1.2.8 Examen histopathologique du foie et des reins**

Le foie et les reins des animaux ont été examinés, prélevés et pesés. La pesée de ces organes était réalisée avant leur fixation dans du formol tamponné à 10% à l'aide d'une balance électronique de marque (Kern 770, Max = 60/210g ; Min = 0,001 g ; d : 0,01/0,1, Paris-France) qui permettait une lecture automatique des résultats sur l'écran.

Le foie et les reins ainsi fixés, ont servi à la confection de coupes histologiques de 5 µm d'épaisseur, colorées à l'Hématéine-Eosine. En ce qui concerne la coloration à l'Acide Périodique de Schiff (PAS), la fuchsine basique a été dissoute dans de l'eau distillée ce qu'on a laissé bouillir pendant 5 minutes. Ensuite, on a procédé à un refroidissement à 50°C et procédé à la filtration de la solution. Après ajout d'une goutte d'HCL et de charbon activé, la solution après un brassage pendant une minute a été filtrée et conservée au réfrigérateur. Des coupes à la paraffine ont été

réalisées avec le foie des rats. Ensuite, on a procédé au déparaffinage des coupes qui ont été recouvertes à la sortie de l'hydrocarbure benzénique, d'une goutte d'huile de vaseline saturée d'iode métalloïde bisublimé. Après 24 heures, la lamelle qui couvrait la préparation a été retirée, l'excès d'huile de vaseline autour des coupes a été essuyé et on a fait agir pendant 5 mn le mélange préparé (9 vol de xylène ; 1vol d'iodure de mercure à 2% dans l'alcool absolu). La dissolution de l'iodure mercurique a nécessité l'addition d'une trace d'iodure de potassium. La lame autour des coupes a été essuyée puis une goutte d'huile de vaseline saturée d'iode a été déposée. La lamelle a été remplacée, le bord essuyé et ensuite on a luté. Le glycogène prend, dans ces conditions, la teinte brune acajou.

Les coupes histologiques étaient observées sur microscope photonique de marque Olympus BX 41 muni d'une caméra (JVC, ½ pouces). Les observations étaient faites au grossissement X20 et les images enregistrées au format JPEG sur un ordinateur.

### 1.2.9 Méthodes statistiques utilisées

Après le traitement, les données ont été soumises à l'analyse de variance sous le Logiciel Statistica 6.0 (1998). En cas de différence significative, le Test t de Student Newman-Keuls a été utilisé avec un risque d'erreur p tel que :

$p > 0,05$  = la différence n'est pas significative

$0,05 > p > 0,01$  = la différence est significative

$0,05 > p > 0,0001$  = la différence est hautement significative

$p < 0,0001$  = la différence est très hautement significative

---

## Chapitre 2: Résultats et Discussion

### 2.1 Résultats

#### 2.1.1 Composition phytochimique de *Ananas comosus*

L'analyse par chromatographie sur couche mince a permis de révéler la présence de flavones et de flavonoles dans l'*Ananas comosus* (tableau IV).

**Tableau IV : Résultat de l'analyse phytochimique de l'ananas**

Familles	Ananas séché	Ananas non séché	Ananas (synthèse)
Alcaloïdes	—	—	—
Tanins	—	+	+
Flavonoïdes	—	+	+
Anthocyanes	—	—	—
Leucoanthocyanes	+	+	+
Dérivés Quinoniques	—	+	+
Saponosides	+	—	+
Triterpénoïdes	—	—	—
Stéroïdes	+	+	+
Cardénolides	—	—	—
Dérivés cyanogéniques	—	—	—
Mucilages	+	++	++
Composés reducteurs	+++	+++	+++
Coumarines	+	+	+
Dérivés anthracéniques	—	—	—

+ = présence du composant chimique.

- = absence du composant chimique.



### 2.1.2 Mortalité des animaux d'expérience

Aucune mortalité n'a été enregistrée dans les lots d'animaux au cours de la période expérimentée.

### 2.1.3 Evolution du poids corporel, du foie et des reins des rats:

L'intoxication au paracétamol ne semble pas perturber significativement le poids général des rats Wistar. Aucune différence de l'évolution pondérale n'a été remarquée entre les différents lots. Cependant, une diminution de volume, de changement de couleur et de consistance ont été observés surtout au niveau du foie et des reins des animaux intoxiqués avec du paracétamol et non traités avec l'extrait d'ananas. En ce qui concerne le foie et les reins des rats Wistar, on observe une différence très hautement significative entre le poids du foie et celui des reins au niveau des différents traitements ( $p < 0,0001$ ). Chez les rats intoxiqués et non traités, le poids du foie et des reins a été respectivement de  $7,74 \pm 0,06$  g et  $3,86 \pm 0,009$  g contre  $6,41 \pm 0,005$  g et  $3,59 \pm 0,006$  g pour les animaux témoins.

La variation du poids du foie et des reins rapportée à 100 g de poids corporel chez les rats, a montré une augmentation significative du rapport hépato-corporel ( $p < 0,0001$ ). Chez les rats intoxiqués et non traités, le rapport hépato-somatique et réno-corporel a été respectivement de 4,80 % et de 2,39% contre 4% et 2,24% pour ceux du lot témoin (tableau V).

**Tableau V : Evolution du poids corporel, du foie et des reins**

<b>Lots</b>	<b>Poids vif (g)</b>	<b>Poids du foie (g)</b>	<b>Poids des deux reins (g)</b>
Lot n° 1	160,33±1,37	6,41±0,05 (4±0%)	3,59±0,006 (2,24±0,002%)
Lot n° 2	160,83±1,44	7,40±0,06 (4,60±0%)	3,72±0,007 (2,32±0,02%)
Lot n° 3	161,17±1,39	7,09±0,06 (4,40±0%)	3,65±0,009 (2,26±0,02%)
Lot n° 4	161,33±1,22	7,74±0,06 (4,80±0%)	3,86±0,009 (2,39±0,02%)
Probabilité	0,95 ns	<0,0001***	<0,0001***
cv%	4,63	4,62	1,20

\*\*\* = différence très hautement significative au seuil de 0,1% ; ns = différence non significative au seuil de 5%. Les valeurs moyennes suivies par la même lettre sont non significativement différentes au seuil de probabilité 5%. Celles suivies par des lettres différentes sont significativement différentes.

Lot n°1 : témoin; sans paracétamol ni ananas frais.

Lot n°2 : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 13mg/kg de pV par jour pendant 4 semaines.

Lot n°3 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines puis ananas frais à raison de 26mg/kg de pV pendant 4 semaines.

Lot n°4 : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 2 semaines et sans aucun traitement à l'ananas frais.

### 2.1.4 Observations histologiques

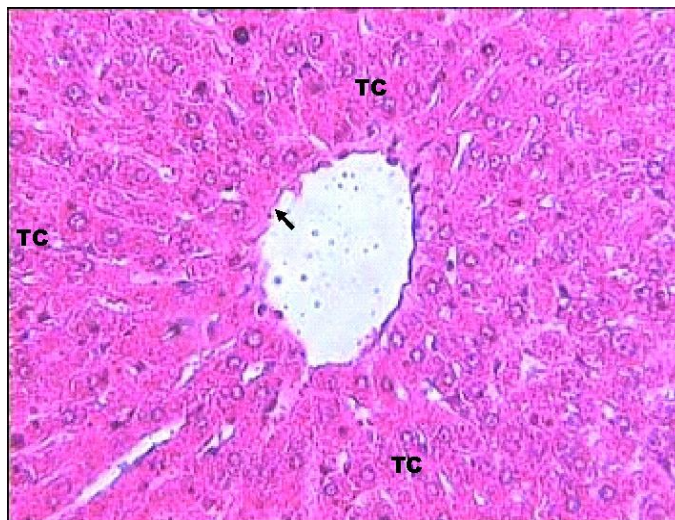
**Observations macroscopiques et microscopiques du foie et du rein : figures 23, 24, 25 et 26. Les figures 22a et 22b montrent le schéma d'un foie normal.**

Aucun signe clinique d'intoxication, ni de mortalité n'a été observé chez les animaux. Au plan macroscopique, le foie des rats intoxiqués au paracétamol et non traités avec de l'extrait d'*Ananas comosus* a eu une coloration jaunâtre, comparé au foie normal de coloration rouge sombre, caractéristique. La consistance du foie du rat intoxiqué était friable. Le foie des rats qui ont reçu du paracétamol avec de l'extrait de *Ananas comosus* n'a présenté aucune différence sur le plan morphologique par rapport à celui des rats du lot témoin. Quant au rein, aucune caractéristique morphologique particulière n'a été observée au niveau des rats des différents lots à la seule différence qu'au niveau des animaux intoxiqués et non traités, l'organe a été plus friable.

En microscopie phototonique, la structure hépatique chez le rat témoin montre des cellules polyédriques (hépatocytes) avec un noyau rond et un nucléole bien visibles. Les hépatocytes forment des travées bien agencées autour de la veine centrobulaire. Les hépatocytes stockent des quantités notables de glycogène coloré en rose. La coloration rose caractéristique du cytoplasme (éosinophilie) est due à la présence de mitochondries, avec de très fines granulations basophiles liées à de nombreux ribosomes libres et au réticulum endoplasmique granulaire. Le noyau des hépatocytes à structure basophile est coloré en bleu violacé. L'effet du paracétamol entraîne des modifications histologiques caractérisées par l'apparition de nécrose cellulaire et de congestion centrolobulaire, une congestion périportale (autour des vaisseaux de l'espace porte entourant le lobule hépatique) ; l'apparition de foyers nécrotiques, de vacuoles cytoplasmiques, la dislocation des cellules hépatiques avec perte des jonctions cellulaires. Ainsi, les hépatocytes sont de plus grande taille et l'agencement des cellules en travées autour de la veine centrolobulaire n'est plus visible. Toute cette

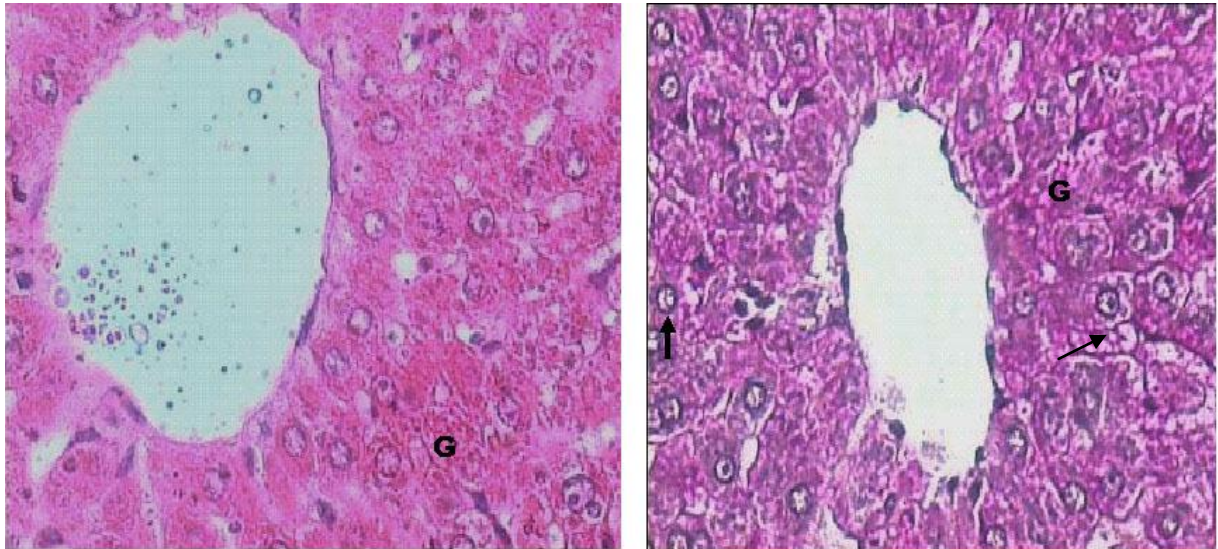
désorganisation se trouve améliorée chez le foie des rats Wistar des animaux intoxiqués et traités (figures 23, 24 et 25).

Quant à la structure rénale, on observe chez les animaux témoins, un cortex rénal normal avec la présence d'un glomérule, flocule capillaire, chambre glomérulaire, pôle vasculaire et canaux excréteurs normaux (figure 26). Chez les rats intoxiqués, toutes ces structures sont désorganisées ; on ne note qu'un épaissement de l'interstitium comprimant le flocule capillaire et une disparition de la chambre glomérulaire « en pâte à cacheter » (figure 27). Ces perturbations structurales au niveau rénal n'ont pas été réversibles avec l'utilisation de l'extrait d'*Ananas comosus* chez les rats intoxiqués et traités (figures 28 et 29).



**Figure 22a : Foie normal (HE, grossissement X20)**

Lobule hépatique montrant une veine centrolobulaire (flèche) autour de laquelle les cellules hépatiques sont organisées en travées cellulaires (TC) disposées de façon radiaire.



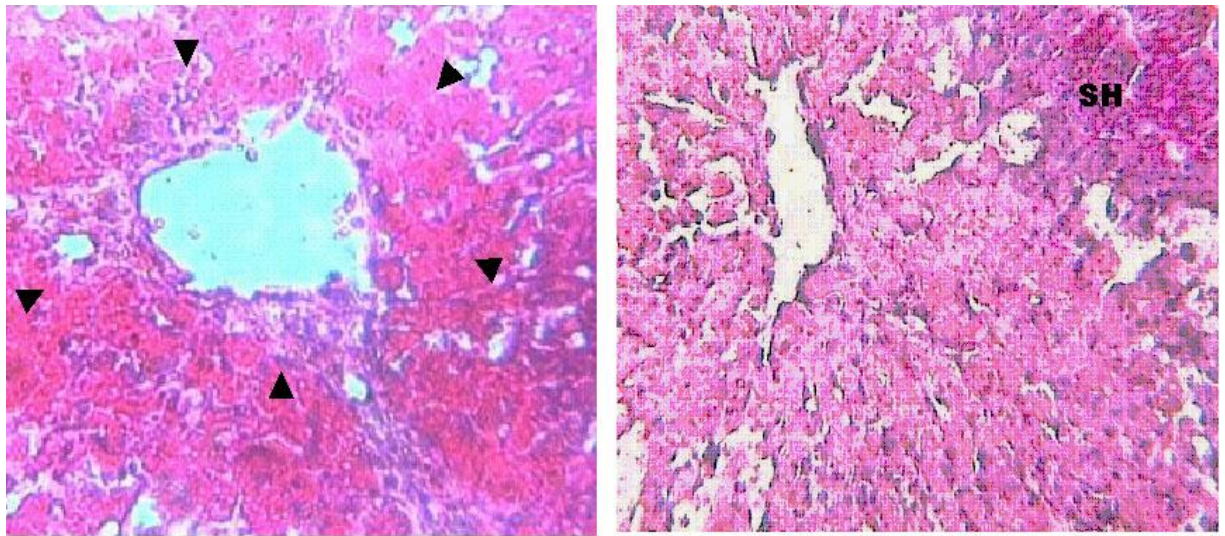
A : HE

B : PAS

### Figure 22b : Foie normal (grossissement X40)

Dans le cytoplasme, des amas réfringent à l'HE (A) et colorés en rouge pourpre au PAS (B) correspondent au glycogène (G). Les noyaux sont bien visibles et clairs (Flèche) avec un nucléole bien dessiné.



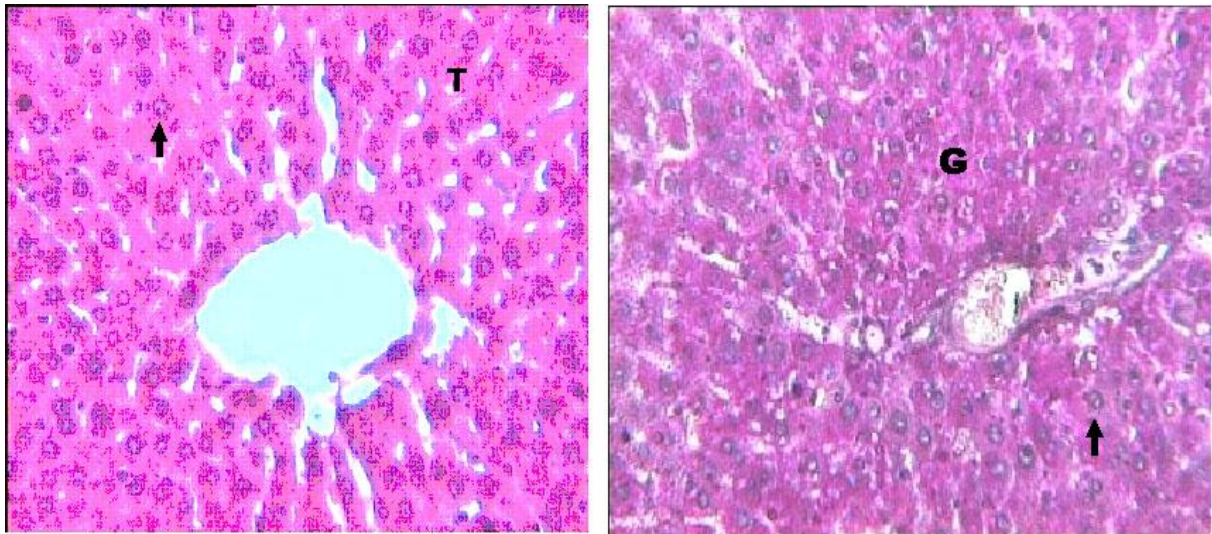


A : HE

B : PAS

**Figure 23 : Foie d'animaux intoxiqués au paracétamol mais non traités  
(grossissement X20)**

Nécrose hépatocytaire prédominant dans la région centrolobulaire (Flèche) marquée par une homogénéisation de la structure du cytoplasme qui devient très éosinophile, une disparition des noyaux et des limites cellulaires (têtes de flèche). A distance de la veine centrolobulaire, la structure des hépatocytes reste encore relativement conservée (SH).

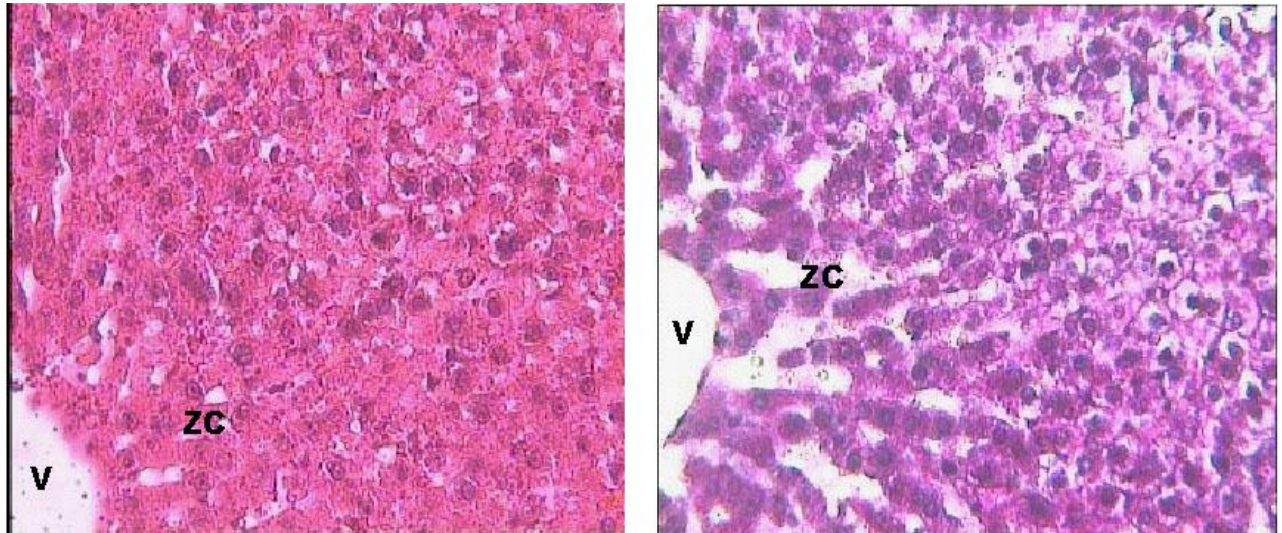


A : HE

B : PAS

**Figure 24 : Foie d'animaux intoxiqués au paracétamol et traités avec 0, 12 ml d'extrait d'*Ananas comosus* (grossissement X20)**

L'architecture hépatique est quasi normale; les hépatocytes organisés en travées (T) montrent un cytoplasme contenant du glycogène et un noyau bien visible (Flèche).



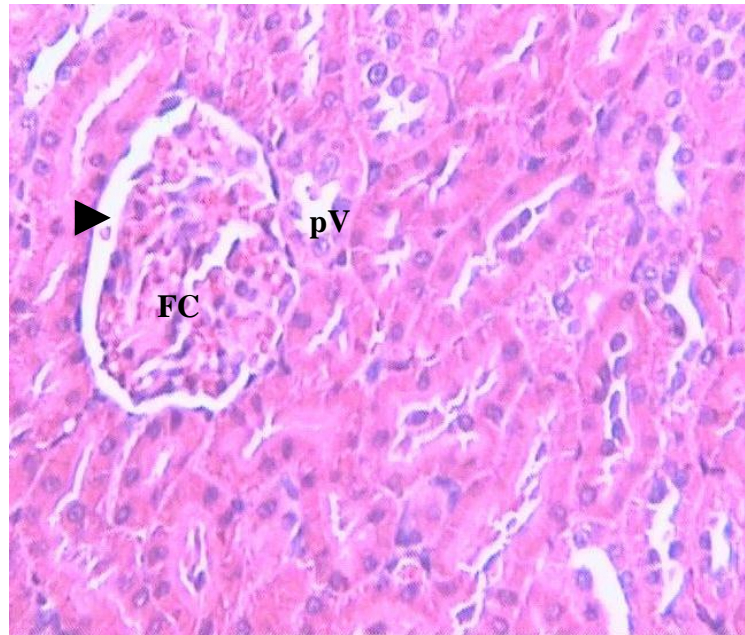
A : HE

B : PAS

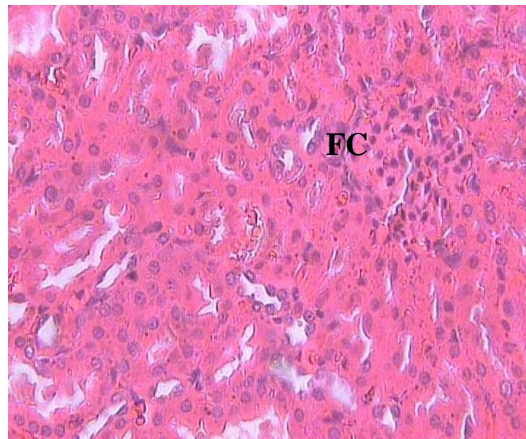
**Figure 25 : Foie d'animaux intoxiqués au paracétamol et traités avec 0,06 ml d'extrait d'*Ananas comosus* (grossissement X20)**

On note un début de réparation prédominant dans la région centrolobulaire (ZC). Les hépatocytes restent petits mais leur organisation trabéculaire est déjà visible (V= veine centrolobulaire).

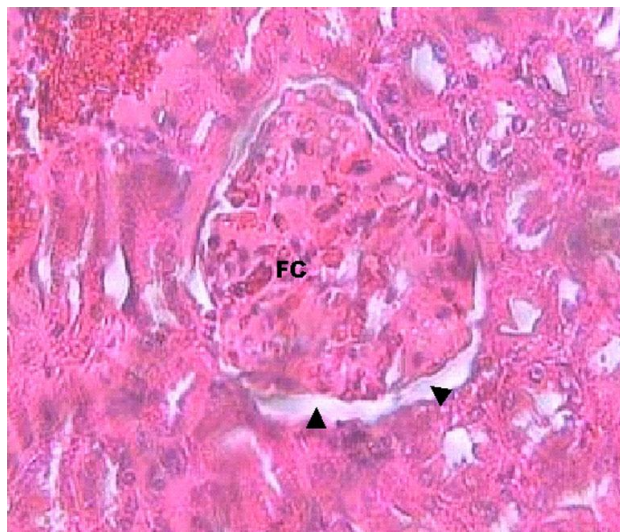




**Figure 26 : Cortex rénal normal (HE, grossissement X20)** : montrant un glomérule rénal avec le flocule capillaire (FC), la chambre glomérulaire (tête de flèche) et le pôle vasculaire (pV) ainsi que les canaux excréteurs.

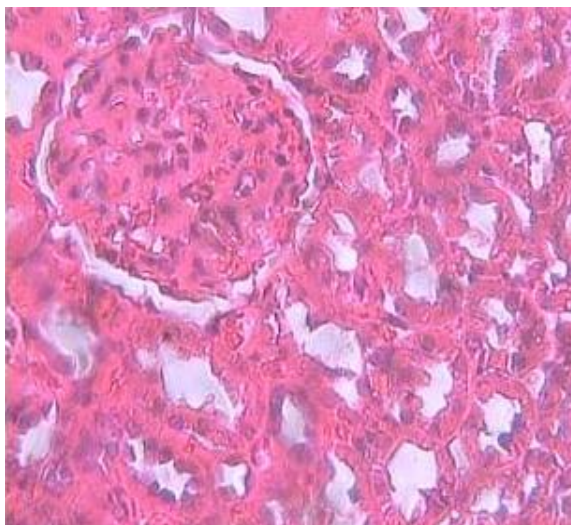


**Figure 27 : Cortex rénal de rat intoxiqué au paracétamol (HE, grossissement X20) :** montrant un épaississement de l'interstitium comprimant le flocule capillaire et une disparition de la chambre glomérulaire (FC)



**Figure 28 : Cortex rénal de rat intoxiqué au paracétamol et traité avec 0,06 ml d'extrait d'*Ananas comosus* (HE, grossissement X20) :**

l'épaississement de l'interstitium (Flèche) avec compression du flocule capillaire (FC) ; Chambre urinaire visible mais étroite (Têtes de Flèches).



**Figure 29 : Cortex rénal de rat intoxiqué au paracétamol et traité avec 0, 12 ml d'extrait d'*Ananas comosus* (HE, grossissement X20) : situation**  
quasiment identique à la figure 28

### 2.1.5 Paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques ont abordé le taux de glucose, des triglycérides, du cholestérol, de la bilirubine, de l'urée, de la créatinine, de la gamma-glutamyl-transpeptidase, du glutathion et de la lactate déshydrogénase.

#### ❖ Concentration du glucose

Le taux de glucose ( $1,28 \pm 0,13$  g/L) chez les rats intoxiqués et non traités avec l'ananas au 42<sup>ème</sup> jour, diffère de ceux des rats intoxiqués et traités avec 0,06 ml/kg et 0,12 ml/kg d'extrait d'ananas ( $p < 0,0001$ ) au cours de la même période. Cependant, aucune différence significative n'a été observée au niveau des rats traités avec l'extrait de ce fruit. Au cours de cette période le taux de glucose n'a pas varié chez les rats du lot témoin (tableau VI).

**Tableau VI : Evolution des concentrations de glucose (g/L)**

Lots	Glucose (g/L)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	0,99±0,10a	0,96±0,2a	0,98±0,1a	0,99±0,1a	0,99±0,2a	0,98±0,1a	0,99±0,2a
Lot n°2	0,99±0,00a	1,01±0,10a	1,01±0,2a	1,02±0,1a	1,03±0,1a	1,03±0,1a	1,03±0,1a
Lot n°3	0,99±0,00a	1,02±0,10a	1,01±0,1a	1,03±0,1a	1,02±0,1a	1,01±0,1a	1,02±0,2a
Lot n°4	0,99±0,1a	1,05±0,2a	1,15±0,1b	1,20±0,2b	1,20±0,3b	1,23±0,3b	1,28±0,13b
<b>Probabilité</b>	<b>0,230 ns</b>	<b>0,143 ns</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5%

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Doliprane® à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV d'extrait d'ananas pendant 42j.

**Lot n°3** : Doliprane® à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement

### ❖ Concentration des triglycérides

Le taux de triglycérides chez les rats intoxiqués et non traités a augmenté pour atteindre la valeur de  $0,71 \pm 0,1$  g/L le 42<sup>ème</sup> jour. Cette valeur diffère de celles des autres lots au cours de la même période ( $p < 0,0001$ ). Les valeurs de triglycérides chez les animaux du lot témoin et celles des animaux intoxiqués et traités ne diffèrent pas statistiquement l'une de l'autre du J0 au J42 ( $p > 0,05$ ) (tableau VII).

**Tableau VII : Evolution des concentrations de triglycérides (g/L)**

Lots	Triglycérides (g/L)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	0,50±0,1a	0,51±0,1a	0,50±0,2a	0,52±0,1a	0,51±0,1a	0,50±0,1a	0,51±0,1a
Lot n°2	0,51±0,2a	0,55±0,1ac	0,54±0,1a	0,55±0,1a	0,56±0,2a	0,55±0,1a	0,55±0,1a
Lot n°3	0,50±0,01a	0,54±0,1a	0,53±0,2a	0,54±0,1a	0,55±0,1a	0,54±0,1a	0,55±0,1a
Lot n°4	0,51±0,03a	0,61±0,1bc	0,66±0,1b	0,68±0,2b	0,70±0,1b	0,71±0,1b	0,71±0,1b
<b>Probabilité</b>	<b>0,327 ns</b>	<b>0,005**</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5% ;

\*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

### ❖ Concentration du cholestérol

Au sujet du cholestérol, le taux a été significativement plus élevé ( $0,63 \pm 0,1 \text{g/L}$ ) chez les rats intoxiqués avec du paracétamol et non traités avec de l'ananas quand on le compare à celui des animaux témoins ou à celui de ceux qui ont été intoxiqués mais traités, 42 jours après le début de l'expérience ( $p < 0,0001$ ). Les valeurs de ce paramètre biochimique ont augmenté de façon progressive du J0 au J42 au niveau des animaux intoxiqués et non traités alors qu'elles n'ont pas varié au niveau des autres animaux (tableau VIII).



**Tableau VIII : Evolution des concentrations du cholestérol (g/L)**

Lots	Cholestérol (g/L)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	0,30±0,1a	0,33±0,1a	0,32±0,1a	0,32±0,1a	0,30±0,1a	0,32±0,2a	0,33±0,1a
Lot n°2	0,31±0,1a	0,35±0,1a	0,35±0,2a	0,36±0,1a	0,35±0,1a	0,34±0,1a	0,34±0,1a
Lot n°3	0,32±0,2a	0,34±0,1a	0,35±0,2a	0,34±0,1a	0,33±0,1a	0,33±0,1a	0,33±0,2a
Lot n°4	0,32±0,2a	0,38±0,1a	0,40±0,2a	0,48±0,1b	0,55±0,2b	0,60±0,1b	0,63±0,1b
<b>Probabilité</b>	<b>0,392 ns</b>	<b>0,374 ns</b>	<b>0,597 ns</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5% ; \*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ; \*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

### ❖ Concentration de la bilirubine totale

Au niveau des animaux intoxiqués et non traités, le taux de bilirubine totale a augmenté de façon progressive pour atteindre la valeur  $1,52 \pm 0,1$  mg% au 42<sup>ème</sup> j. Ce taux diffère des résultats obtenus chez les autres rats ( $p < 0,0001$ ). La valeur la plus faible ( $0,98 \pm 0,06$  mg%) à cette période a été obtenue au niveau des rats témoins. Mais ce résultat ne diffère pas des valeurs obtenues au niveau des rats intoxiqués avec du paracétamol et traités avec l'extrait d'ananas ( $p > 0,5$ ) (tableau IX).

**Tableau IX : Evolution des concentrations de la bilirubine totale (mg/%)**

Lots	Bilirubine totale (mg%)							ns : différence non significativ e au seuil de 5% ;  ** :
	J <sub>0</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	J <sub>28</sub>	J <sub>35</sub>	J <sub>42</sub>	
Lot n°1	0,98±0,07a	0,97±0,3a	0,96±0,1a	0,98±0,1a	0,98±0,1a	0,99±0,06a	0,98±0,06a	
Lot n°2	0,99±0,06a	1,01±0,1a	1,02±0,1a	1,03±0,1a	1,01±0,1a	1,02±0,2a	1,03±0,2a	
Lot n°3	0,97±0,05a	1,02±0,1a	1,01±0,1a	1,02±0,1a	1,02±0,1a	1,01±0,2a	1,02±0,1a	
Lot n°4	0,98±0,03a	1,15b	1,20±0,2b	1,25±0,1b	1,35±0,1b	1,40±0,1b	1,52±0,1b	
<b>Probabilité</b>	<b>0,341 ns</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	

différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

### ❖ Concentration de l'urée

A J0, le taux de l'urée a été de  $0,50 \pm 0,01$  g/L chez le lot témoin. Cette valeur ne diffère pas de celle obtenue avec les autres rats ( $p > 0,5$ ). Le taux de l'urée, à la différence des autres rats, a augmenté progressivement pour atteindre la valeur de  $0,70 \pm 0,1$  g/L au 42<sup>ème</sup> j chez les rats intoxiqués avec du paracétamol et non traités avec de l'ananas ( $p < 0,0001$ ) (tableau X).

**Tableau X : Evolution des concentrations de l'urée (g/l)**

Lots	Urée (g/L)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	0,50±0,01a	0,52±0,1a	0,51±0,2a	0,52±0,1a	0,50±0,1a	0,50±0,01a	0,51±0,2a
Lot n°2	0,52±0,01a	0,54±0,1a	0,54±0,2a	0,53±0,01a	0,54±0,2a	0,53±0,1a	0,52±0,1a
Lot n°3	0,51±0,01a	0,53±0,1a	0,53±0,2a	0,55±0,01a	0,54±0,01a	0,55±0,1a	0,54±0,1a
Lot n°4	0,52±0,02a	0,58±0,1a	0,63±0,4a	0,68±0,1b	0,68±0,3b	0,69±0,1b	0,70±0,1b
<b>Probabilité</b>	<b>0,247 ns</b>	<b>0,144 ns</b>	<b>0,095 ns</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns: différence non significative au seuil de 5% ;

\*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

### ❖ Concentration de la créatinine

Les taux de créatinine ont subi des variations en fonction du temps. Ainsi, à J0, les taux les plus faibles ( $0,75 \pm 0,01$  mg/dL) ont été obtenus chez les rats traités ou non avec de l'extrait d'ananas sans différence significative ( $p > 0,5$ ). Les valeurs de la créatinine ont augmenté de façon progressive pour atteindre le niveau le plus élevé ( $0,95 \pm 0,03$  mg/dL) au 42<sup>ème</sup> j chez les rats intoxiqués et non traités avec une différence très hautement significative à partir du 7<sup>ème</sup> j par rapport aux autres rats ( $p < 0,0001$ ) (tableau XI).

**Tableau XI : Evolution des concentrations de créatinine (mg/dl)**

Lots	Créatinine (mg/dL)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	0,76±0,01a	0,75±0,02a	0,76±0,01ab	0,76±0,01a	0,76±0,1a	0,74±0,1a	0,75±0,02a
Lot n°2	0,75±0,01a	0,76±0,01ac	0,76±0,02ab	0,77±0,01a	0,76±0,1a	0,76±0,1a	0,76±0,1a
Lot n°3	0,76±0,02a	0,74±0,02a	0,75±0,01a	0,76±0,2a	0,76±0,1a	0,75±0,1a	0,76±0,1a
Lot n°4	0,75±0,01a	0,78±0,1bc	0,78±0,00b	0,85±0,1b	0,90±0,02b	0,92±0,1b	0,95±0,03b
<b>Probabilité</b>	<b>0,401 ns</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5% ;

\*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml d'extrait d'ananas par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.



### ❖ Concentration de la gamma-glutamyl-transpeptidase

La valeur la plus élevée ( $30 \pm 0,00$  UI/L) obtenue au J0 a été obtenue avec les animaux traités avec 0,06 ml/kg d'extrait d'ananas mais sans différence significative avec le taux dosé chez les autres rats ( $p > 0,5$ ). Toutefois, le taux de ce paramètre biochimique a subi des variations en hausse déjà à partir du 7<sup>ème</sup> jour ; la valeur la plus élevée ( $81,83 \pm 0,9$  UI/L) étant obtenue au 42<sup>ème</sup> jour avec les rats intoxiqués au paracétamol et non traités avec l'extrait d'ananas ( $p < 0,0001$ ) (tableau XII).

**Tableau XII : Evolution des concentrations de gamma-glutamyl-transpeptidase (UI/L)**

Lots	Gamma-Glutamyl Transpeptidase (UI/L)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	29,33±1,12a	30±00 a	29,31±0,01a	29,34±0,01a	29,30±0,01a	29,04±0,01a	29,35±0,01a
Lot n°2	30±0,00a	31±0,00a	31,3±0,01a	31,3±0,02a	31,9±0,03a	31,8±0,01a	31,9±0,02a
Lot n°3	28,92±0,01a	29,30±0,1a	30,00±0,01a	31,1±0,1a	31,3±0,01a	31,8±0,1a	30,93±0,1a
Lot n°4	29,30±0,3a	35,02±0,3b	40±0,3b	52±0,2b	65±0,3b	75,3±0,6b	81,83±0,9b
<b>Probabilité</b>	<b>0,180 ns</b>	<b>0,023 **</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5% ;

\*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Paracétamol à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

### ❖ Concentration de glutathion

Les concentrations les plus élevées de glutathion ( $1,85\pm 0,03$  et  $1,88\pm 0,2$  mmol/g de foie) ont été obtenues avec les rats intoxiqués et traités. Une baisse importante du taux de glutathion a commencé dès le 7<sup>ème</sup> j pour atteindre le niveau le plus bas ( $0,39\pm 0,7$  mmol/g de foie) chez les rats intoxiqués et non traités contrairement aux valeurs de ce paramètre biochimique chez les autres rats ( $p < 0,0001$ ) (tableau XIII).

**Tableau XIII : Evolution des concentrations de Glutathion**

Lots	Glutathion (mmol/g de foie)						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	1,82±0,12a	1,83±0,01a	1,82±0,3b	1,81±0,7b	1,81±0,3b	1,83±0,1b	1,82±0,3b
Lot n°2	1,83±0,01a	1,84±0,1a	1,85±0,2b	1,85±0,1b	1,84±0,2b	1,86±0,1b	1,85±0,3b
Lot n°3	1,81±0,2a	1,83±0,2a	1,82±0,1b	1,82±0,3b	1,86±0,3b	1,87±0,3b	1,88±0,2b
Lot n°4	1,83±0,3a	1,80±0,01a	1,70±0,1a	1,61±0,1a	0,61±0,1a	0,51±0,2a	0,39±0,7a
<b>Probabilité</b>	<b>0.322 ns</b>	<b>0,088 ns</b>	<b>0,012**</b>	<b>0,002**</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5% ;

\*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Doliprane ® à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Doliprane ® à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

### ❖ Concentration de lactate déshydrogénase

La valeur de LDH la plus élevée ( $310,73 \pm 1,31$ ) a été obtenue au J0 chez les rats intoxiqués et traités avec l'ananas avec des variations très hautement significatives quand on les compare aux résultats obtenus avec les rats des autres lots ( $p < 0,0001$ ). Le taux de LDH a subi une augmentation dès le 7<sup>ème</sup> j pour atteindre contrairement aux valeurs des rats des autres lots, la valeur la plus élevée de  $480,30 \pm 0,95$  UI/L au 42<sup>ème</sup> j chez les animaux intoxiqués et non traités ( $p < 0,0001$ ) (tableau XIV).

**Tableau XIV : Evolution des concentrations de lactate déshydrogénase en UI/L**

Lots	Lactate déshydrogénase (LDH) en UI/L						
	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Lot n°1	310,73±1,31c	306,97±1,7a	308,96±0,9a	311±0,8a	310±1,2a	308±0,8a	310±0,7a
Lot n°2	308±0,8b	315±1,3c	314±1,6b	313±1,7ab	315±1,2c	320±1,7b	315±1,7b
Lot n°3	310,73±1,3c	312±1,3b	315±1,6b	315±1,6b	313±1,3bc	321±1,6b	318±1,6b
Lot n°4	307±1,8a	315±1,6c	350±1,8c	380±1,3c	395±1,3d	430±1,4c	480,30±0,95c
<b>Probabilité</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>	<b>0,0***</b>

ns : différence non significative au seuil de 5%

\*\* : différence hautement significative (au seuil de 1%) ;

\*\*\* : différence très hautement significative (au seuil de 0,1%)

**Lot n°1** : Témoin, sans paracétamol ni extrait d'ananas

**Lot n°2** : Doliprane ® à raison de 2g/kg de poids vif (pV) par jour puis 0,06ml par kg de pV pendant 42 j.

**Lot n°3** : Doliprane ® à raison de 2g/kg de pV par jour puis 0,12ml par kg de pV pendant 42j.

**Lot n°4** : Paracétamol à raison de 2g/kg de pV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

## 2.2 Discussion

Dans cette rubrique, les résultats sur l'évolution du poids corporel, du foie, des reins, les modifications histologiques de ces organes obtenus chez les rats albinos Wistar seront analysés. Les études biochimiques seront également prises en compte.

### 2.2.1 Evolution du poids corporel, du foie, des reins et modifications histologiques de ces organes

Le risque d'hépatotoxicité du paracétamol est considérable si une simple dose excède 150 mg/ kg par voie orale chez l'homme (Buckley, 1999). Bien que l'intoxication au paracétamol ne semble pas perturber significativement le poids général des rats Wistar, la variation des poids du foie et des reins rapportés à 100g de poids corporel, montre une augmentation significative du rapport hépato-corporel et réno-somatique chez les rats intoxiqués et non traités avec l'ananas. L'augmentation du rapport hépato-corporel est en accord avec les résultats de Til (1985) qui a eu un résultat similaire au cours d'une intoxication des rats au nitrite. Cette augmentation de poids pourrait être liée à l'action du paracétamol qui a désorganisé les structures hépatiques avec nécrose centrolobulaire. En effet, le foie est l'organe principal de la détoxification parce qu'il contient la plupart des enzymes du métabolisme ; par exemple les concentrations du glutathion et de la cytochrome P-450 y sont très élevées (Boukerche et coll., 2007) ce qui a été confirmé par des niveaux élevés des transaminases et de phosphatases alcalines lors d'une intoxication précédente que nous avons réalisée avec du paracétamol sur des rats. Par ailleurs, le rein joue un rôle essentiel dans l'excrétion de déchets du métabolisme et dans le maintien de l'équilibre hydroélectrolytique de l'organisme (McGeown, 2003). L'augmentation de poids réno-corporel a été cependant moins manifeste que celle hépato-corporelle. Cette augmentation du poids des reins peut être expliquée par les lésions tissulaires démontrées par les coupes histologiques de cet organe au cours de la présente étude. De tels résultats ont été obtenus par Til (1985) chez des rats intoxiqués avec des céréales contaminées avec des nitrites. Le paracétamol est un analgésique qui,

comme tout autre analgésique, pourrait induire une néphropathie analgésique. Ceci est généralement accompagné d'une insuffisance rénale largement irréversible quand il est utilisé à une dose élevée pendant une longue durée (Fontana, 2005). Les lésions dues à l'intoxication au paracétamol ne sont pas réparées au niveau rénal à l'inverse du résultat obtenu avec le foie. Le foie possède en effet un système de microsomes très actif métabolisant un grand nombre de médicaments par hydrolyse, oxydation, désamination, déalcoolisation. Le rein effectue certes quelques réactions métaboliques mais elles sont plus limitées par rapport au métabolisme hépatique (Schmitt, 1975). En outre, le nombre de récepteurs au niveau d'un organe ou l'affinité d'une substance pour ceux-ci peut être modifié au cours de certaines pathologies (Schmitt, 1975). Selon Ganry et coll., (2001), lorsque les facteurs de risque sont pris en compte, les doses quotidiennes de 3 g et 4 g de paracétamol prescrites chez l'homme en chronique en rhumatologie, ont une tolérance comparable, y compris chez les patients âgés. Mais des doses supérieures de paracétamol peuvent induire la toxicité rénale.

## 2.2.2 Paramètres biochimiques

Les taux des paramètres biochimiques suivants seront analysés : glucose, triglycérides, cholestérol, bilirubine, urée, créatinine, Gamma-Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$  GT), Glutathion et Lactate- déshydrogénase (LDH).

### ❖ Concentrations plasmatiques du glucose

Les paramètres biochimiques sont d'une nécessité primordiale pour apprécier de nombreuses pathologies. Ils permettent d'évaluer l'éventuel effet toxique d'un agent sur les fonctions physiologiques de l'organisme (Smaoui et coll., 2000). En outre, le foie est le principal organe qui intervient dans le métabolisme du glucose (Mc Geown, 2003). Les résultats de cette étude indiquent une augmentation du taux de glucose ( $1,28 \pm 0,13$  g/L) chez les rats intoxiqués et non traités au 42<sup>ème</sup> jour de l'essai. Cette valeur du glucose est supérieure à celle répertoriée par Boukerche et coll., (2007) qui ont trouvé un taux de glucose de  $0,92 \pm 0,04$  g/L chez des rats intoxiqués au



nitrate. Cette différence pourrait s'expliquer par la nature, le métabolisme et la dose de l'agent toxique. L'augmentation progressive du taux de glucose chez les rats intoxiqués et non traités pourrait objectiver une atteinte du métabolisme hépatique. Le foie intoxiqué ne sera plus en mesure de stocker le glucose. Le taux de glucose au niveau des rats intoxiqués et qui ont été traités avec l'extrait d'ananas a connu également une légère augmentation au cours du processus expérimental mais sans un niveau de signification par rapport à la valeur des rats témoins à J42. Ce rétablissement progressif du métabolisme du glucose est lié à l'action favorable au niveau hépatique de *Ananas comosus* sur des rats intoxiqués au paracétamol. En effet, ce fruit contient d'après le screening phytochimique établi lors de cette étude, des tanins. Les tanins sont des substances astringentes, cicatrisantes et anti-hémorragiques, car ils ont une forte affinité pour les protéines qu'ils font précipiter. Comme polyphénols, ils sont reconnus pour leur efficacité anti-oxydante et anti-dégénérative des cellules hépatiques, ce qui a été déjà confirmé par les travaux de Middleton et coll., (2000).

#### ❖ Concentrations plasmatiques des triglycérides

Les résultats obtenus révèlent aussi une augmentation progressive bien claire de la concentration des triglycérides avec le taux le plus élevé le 42<sup>ème</sup> jour de l'essai chez les rats intoxiqués et non traités. Ce résultat peut être expliqué par l'altération du métabolisme des lipides. En effet, dans toutes les agressions par les xénobiotiques, le métabolisme hépatique des lipides est modifié vers la production des systèmes de défense et vers la néoglucogenèse (McGeown, 2003). De telles élévations du taux de triglycérides ont été constatées par Lahouel et coll., (2004) sur des rats intoxiqués avec 200 mg par kg de pV de paracétamol. Cependant, au niveau des lots traités avec l'extrait d'ananas, l'augmentation constatée pour ce paramètre biochimique a été légère et ne diffère pas statistiquement du taux de triglycérides obtenu chez les rats Wistar qui n'ont pas été intoxiqués par du paracétamol. *Ananas comosus* a été identifié depuis les travaux de Gilani et coll., (1997) comme un produit qui possède une activité protectrice vis-à-vis de l'hépto-toxicité du paracétamol chez le rat et la souris.

## ❖ Concentrations plasmatiques du cholestérol

Le taux de cholestérol a sensiblement augmenté en atteignant des valeurs très hautement significatives à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine pour atteindre la valeur de  $0,63 \pm 0,1$  g/L le 42<sup>ème</sup> jour chez les rats intoxiqués et non traités. Ce résultat est en accord avec ceux de Lahouel et coll., (2004) qui ont rapporté que le taux de cholestérol augmente sous l'influence du paracétamol chez des rats qui ont reçu une dose de 200 mg de pV par jour pendant un délai beaucoup plus long. Toutefois le taux de cholestérol (0,45 g/L) rapporté par ces auteurs est plus faible que la valeur dosée dans la présente étude. Cette différence de taux de cholestérol serait probablement liée à la dose de paracétamol (2 g par kg de pV par jour) utilisée pour intoxiquer les rats. L'altération du métabolisme des lipides, suite à la cytolysse hépatique et la nécrose hépatocytaire constatée par l'examen histologique du foie serait à la base de la variation du taux de cholestérol. Le taux de cholestérol a par contre diminué mais sans différence significative chez les rats des lots traités avec l'extrait d'ananas. Cette chute du taux de cholestérol serait probablement liée à l'action favorable de *Ananas comosus* sur le foie même si l'effet dose de ce fruit ne semble pas influencer le taux de cholestérol chez les rats traités.

Ces variations de taux des paramètres biochimiques confirment les résultats de Vialia (1998). Ce dernier affirme que l'impact nocif des xénobiotiques varie en fonction de l'espèce, de la substance, de l'état physiologique des animaux, de la durée, de l'exposition, du mode d'exposition, de la dose administrée mais aussi de l'antidote utilisé. Si les métabolites réactifs formés à travers le métabolisme du paracétamol utilisé au cours de cette étude altèrent les concentrations du glucose, des tryglycérides et du cholestérol, les flavonoïdes et la vitamine C que renferme *Ananas comosus* sont de puissants anti-oxydants qui favorisent le métabolisme hépatique.

### ❖ Concentrations plasmatiques de la bilirubine totale

Les concentrations plasmatiques de la bilirubine totale ont connu des variations suite à l'intoxication des rats Wistar par le paracétamol surtout au niveau des rats intoxiqués et non traités. En effet, le taux de bilirubine totale a passé de 1,15 mg% le J7 à 1,52 mg% à J 42. L'augmentation progressive du taux de la bilirubine totale chez les rats qui n'ont pas reçu de traitement à base d'*Ananas comosus* serait due à l'action toxique exercée par le paracétamol sur le foie. En effet, dans des situations de dose «suprathérapeutique» du paracétamol que renferme le Doliprane®, il se produit une saturation des voies de glucuronidation et de sulfation. Ainsi, une fraction beaucoup plus importante de paracétamol est dérivée vers la voie du cytochrome P-450, donnant lieu à une production accrue de dérivé toxique NAPQI. Le NAPQI, hautement réactif, forme des liaisons covalentes avec le groupe cystéine des protéines hépatocytaires, donnant lieu à des lésions oxydatives et à une nécrose centro-lobulaire. Cette nécrose centro-lobulaire selon Lahouel et coll., (2004), entraînerait la dégradation de l'hème et une augmentation du taux de bilirubine totale chez les animaux intoxiqués, l'intégrité membranaire des globules rouges étant affectée. Il s'agit d'une élévation du taux de bilirubine portant à la fois sur la bilirubine conjuguée et non conjuguée (hyperbilirubinémie dite « mixte »). Les mécanismes qui conduisent à l'élévation du taux sanguin de bilirubine sont selon (McGeown, 2003) multiples au cours de l'insuffisance hépatocellulaire : défaut de captation et de conjugaison de la bilirubine (amenant à une élévation de la bilirubine non conjuguée), défaut d'excrétion biliaire amenant à une élévation de la bilirubine conjuguée. Il n'y a donc pas d'insuffisance hépatocellulaire « pure » dans la mesure où se surajoutent des phénomènes de cholestase. Cette augmentation de la bilirubine confirme les travaux de Boukerche et coll., (2007) chez des rats intoxiqués à l'alphamethrine.

Cette situation semble se normaliser suite au traitement avec *Ananas comosus* chez les rats traités avec l'extrait d'ananas même si les taux de bilirubine obtenus chez les rats de ces animaux n'ont pas atteint le niveau dosé chez les animaux non intoxiqués. De tels effets favorables seraient liés à l'action de *Ananas comosus*. Ce fruit contient entre autres composants de

la bromélaïne qui a des vertus anti-inflammatoires et anticarcinogéniques comme l'ont souligné Stone et coll., (2002).

### ❖ Concentrations plasmatiques de l'urée

Le taux d'urée est resté presque stationnaire chez les animaux non intoxiqués durant toute la période expérimentale. Une tendance inverse est obtenue chez les rats intoxiqués et non traités chez qui le taux d'urée a subi une augmentation à partir du J21 pour atteindre la valeur la plus élevée (0,70 g/L) au J 42. Ce taux est supérieur à celui rapporté par Simon (2000). Cet auteur a intoxiqué des rats avec du paracétamol à raison de 200 mg/kg de pV par jour. La dose toxique de paracétamol utilisé pourrait expliquer cette différence. Par ailleurs, ces résultats reconforment l'analyse de Boukerche et coll., (2007) au sujet du métabolisme protéïque du foie. En effet, dans toutes les agressions par les xénobiotiques, le métabolisme hépatique des protéïnes est modifié vers la production des systèmes de défense et vers la néoglucogénèse. La dégradation des composés protéïques hépatiques expliquerait l'augmentation de l'urée chez les rats intoxiqués. Ainsi, ces acides aminés se seraient transformés sous l'action des transaminases en composés carboxyliques tel que l'acide pyruvique comme l'ont notifié Schünck et Alain (1997). Cela explique la forte activité enzymatique des transaminases ASAT et ALAT, ce que nous avons observé au cours des études antérieures sur des rats Wistar intoxiqués au Doliprane<sup>®</sup> et traités avec *Ananas comosus*. Ceci pourrait expliquer le taux moins élevé de l'urée chez les animaux intoxiqués et traités par l'extrait d'*Ananas comosus*, efficace dans le mécanisme de détoxication du foie chez les rats intoxiqués au paracétamol.

### ❖ Concentrations plasmatiques de la créatinine

Le taux de créatinine a subi une augmentation en fonction de la durée expérimentale surtout chez les rats intoxiqués et non traités. Cette augmentation a débuté surtout à partir du J7. On pourrait déduire que l'effet toxique du paracétamol a commencé réellement à partir de cette période avec une augmentation progressive du taux de créatinine. L'augmentation simultanée de l'urée et de la créatinine pourrait objectiver une altération rénale liée au paracétamol. Cette altération rénale a été irréversible.

C'est la preuve que le paracétamol agit *a priori* sur l'organe cible, le foie, principal organe de la détoxification qui selon Boukerche et coll., (2007) contient la plupart des enzymes du métabolisme. La dégradation des composés hépatiques peut expliquer l'augmentation de la créatinine chez les rats intoxiqués chez qui les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en créatinine. Ceci explique la forte activité enzymatique de l'ASAT et de l'ALAT observée au cours d'une précédente intoxication de rats au paracétamol dans le cadre de ce travail. Cette situation est liée à l'effet hépatotoxique de ce xénobiotique comme l'ont souligné Bridger et coll., (1998).

Le taux de créatinine a certes augmenté mais dans une moindre mesure chez les rats traités avec l'extrait d'ananas. C'est la preuve que l'extrait de *Ananas comosus* joue un rôle dans les altérations d'ordre inflammatoire comme l'ont notifié Maurer et coll., (2001). Ceci est confirmé par les lésions tissulaires au niveau du foie au cours de la présente étude.

### ❖ Concentrations plasmatiques de la gamma- glutamyl-transpeptidase

Le taux de cette enzyme chez les animaux qui n'ont pas été intoxiqués n'a pas varié de façon significative. La valeur de  $29,35 \pm 0,1$  UI/L obtenue au cours de la présente étude est légèrement moins élevée que celle proposée par Kaneko (1989). Ces auteurs avaient rapporté une valeur  $32,35 \pm 0,4$  UI/L de chez des rates. Le sexe des animaux aurait influencé ce résultat. Par ailleurs, la valeur de  $81,83 \pm 0,91$  UI obtenue au cours de notre étude est largement supérieure au taux de  $70 \pm 0,08$  UI trouvé par Lahouel et coll.,

(2004) chez des rats intoxiqués avec du paracétamol à raison de 200 mg/kg de poids vif par jour. L'effet dose du paracétamol expliquerait cette différence. Les taux les plus élevés sont rencontrés chez les rats intoxiqués et non traités. La gamma-glutamyl-transpeptidase à l'instar des transaminases et des phosphatases alcalines est une enzyme hépatique. Une augmentation de cette enzyme pourrait objectiver une cholestase mais aussi une éventuelle cytolyse en l'absence de toute cholestase comme l'a notifié Farougou (1992). Les altérations du foie constatées par les analyses histologiques au cours de la présente étude confirment cette thèse.

L'augmentation modérée de cette enzyme dont le taux n'a pas subi de grandes variations chez les rats des lots traités avec l'extrait d'ananas pourrait s'expliquer par l'efficacité réparatrice de *Ananas comosus* en ce qui concerne les lésions hépatiques.

#### ❖ Taux du Glutathion

Nous constatons une diminution très hautement significative des taux de glutathion hépatique (0,39 mmol/g de foie) chez les animaux intoxiqués au paracétamol et qui n'ont pas été traités par *Ananas comosus* au J42. Une tendance similaire de diminution du taux de glutathion a été observée par Lahouel et coll., (2004). En effet, la chute de ce paramètre biochimique constatée par ces auteurs, a été plus sévère (0,30 mmol/g de foie) chez des rats intoxiqués avec 200 mg de paracétamol. Cette différence de taux de glutathion pourrait s'expliquer par le fait qu'en dehors de l'espèce, de la substance, de l'état physiologique de l'animal, de la dose administrée, l'impact nocif des xénobiotiques, varie aussi en fonction d'autres facteurs comme la durée et le mode d'exposition (Vialia, 1998). L'alimentation des rats aurait contribué aussi à cette différence du taux de Glutathion.

La baisse de ce paramètre biochimique est liée à l'effet toxique du paracétamol. En effet, c'est au cours du métabolisme de ce médicament reconnu comme xénobiotique que le système enzymatique cytochrome P450 intervient (Guengerich, 1986). C'est ainsi que le paracétamol est métabolisé par le cytochrome P450 pour donner un métabolite réactif (N-acétyl-p-benzoquinone-imine) conduisant à la nécrose hépatique par peroxydation



des lipides membranaires. Selon Lahouel et coll., (2004), cette toxicité est observée au-delà des doses supérieures à 200 mg/kg par jour. Par ailleurs, la cellule dispose pour sa protection, du glutathion. C'est le principal anti-oxydant propre de la cellule en se liant par son pôle SH aux métabolites toxiques. L'exemple le plus démonstratif étant l'intoxication au paracétamol dont la toxicité hépatique n'apparaît qu'avec la déplétion du foie en glutathion (Lahouel et coll., 2004). On admet aussi aujourd'hui que la formation de métabolites réactifs consomme du glutathion quand elle est importante et que cela aboutit à une déplétion du glutathion ce qui a pour principale conséquence : la peroxydation lipidique (Settaf et coll., 2000) et une oxydation des groupes thiols des protéines (Bridger et coll., 1998 ; Mofrej et coll., 1999).

Nous avons constaté par ailleurs que les taux de glutathion ne sont pas statistiquement différents chez les rats témoins et ceux intoxiqués et traités. Ceci pourrait s'expliquer par le rôle anti-oxydant de *Ananas comosus*. En effet, ce fruit contient grâce aux résultats du screening pharmacologique des flavonoïdes et de la vitamine C. Ces composés de *Ananas comosus* jouent le rôle d'anti-oxydant. Ils ont la capacité de capturer et de désactiver les radicaux libres. Selon Siess et coll., (2000), ils agissent par empêchement de la fixation des radicaux libres sur l'ADN, par l'activation du système de détoxification et par protection des parois capillaires comme l'ont souligné Kawabata et coll., (1990).

#### ❖ **Concentrations plasmatiques de la lactate-déshydrogénase (LDH)**

Le taux de la LDH a subi de grandes variations dès le J0. La concentration la plus élevée a été obtenue avec les animaux intoxiqués et non traités avec une différence très hautement significative par rapport au taux de LDH des rats témoins et traités avec l'extrait d'ananas au J 42. La valeur de  $310,73 \pm 1,31$  UI/L de LDH chez les rats non intoxiqués au cours de la présente étude diffère de la valeur de la LDH dosée par Boukerche et coll., (2007). En effet, ils ont trouvé une valeur de  $305,60 \pm 46,9$  UI/L chez des rats sains au cours d'une intoxication au nitrate d'ammonium. Cette

différence serait liée à l'environnement dans lequel l'élevage des rats s'est réalisé. Le taux le plus élevé de la LDH chez les rats intoxiqués et qui n'ont reçu aucun traitement à base de *Ananas comosus* serait lié à la modification des protéines du foie des rats intoxiqués par le paracétamol comme l'a notifié Schünck et Alain (1997). L'accumulation de pyruvate au niveau du foie pourrait expliquer l'augmentation de la LDH qui catalyse la réduction de ce dernier en lactate (Boukerche et coll., 2007). Dans ce cas on pourrait suggérer que la forte activité enzymatique de l'ASAT, de l'ALAT et des phosphatases alcalines est liée à l'effet hépatotoxique du paracétamol chez les rats intoxiqués et non traités; le foie étant le principal organe de détoxification des xénobiotiques et qui contient la plupart des enzymes pour réussir cette mission. Des taux de LDH plus élevés de  $904,10 \pm 58,2$  UI/L et de  $1137 \pm 71,0$  UI/L ont été rapportés par Boukerche et coll., (2007) au cours d'une intoxication de rats au nitrite à raison de 200 mg/kg et de 600 mg/kg de poids vif. Cette différence de résultats par rapport aux résultats de notre étude pourrait être liée au produit ainsi qu'à la dose utilisée pour intoxiquer les animaux.

Même si les taux de LDH obtenus avec les rats intoxiqués et traités n'ont pas franchi la valeur obtenue chez les animaux des rats témoins, on observe une baisse du taux de ce paramètre biochimique au niveau de ces rats Wistar. La littérature a souligné la présence de composants chimiques comme les flavonoïdes notamment les flavonols et les flavones dans *Ananas comosus*; ceci a été confirmé par le screening phytochimique de l'extrait utilisé dans le cadre du traitement des rats intoxiqués au paracétamol. Ces composants chimiques de *Ananas comosus* sont d'excellents antioxydants qui auraient contribué à la réparation des dommages créés au niveau des cellules hépatiques des rats intoxiqués avec pour conséquence la baisse de la LDH.



## Conclusion partielle

De l'analyse de la présente étude, il ressort que:

-le paracétamol utilisé à raison de 2g/kg de poids vif par jour pendant 42 jours a induit une toxicité rénale chez les rats albinos Wistar.

- les concentrations des paramètres biochimiques (glucose, triglycérides, cholestérol, urée, créatinine, bilirubine totale, gamma-glutamyl transpeptidase, lactate déshydrogénase et glutathion ont été corrigées par l'extrait du pédoncule d'ananas utilisé à raison de 0,06 ml/kg ou de 0,12 ml/kg de pV par jour pendant 42 jours.

-les réparations hépatiques induites par la quantité de 0,06 ml/kg de pV par jour de l'extrait d'*Ananas comosus* ne diffèrent pas de façon significative des résultats obtenus avec la quantité de 0,12 ml/kg de pV par jour pour traiter les rats pendant 42 jours alors que les lésions rénales ont été irréversibles suite à l'utilisation de ces quantités d'extrait d'*Ananas comosus*.

## Conclusion Générale

Les études menées sur les rats Wistar intoxiqués au paracétamol et traités avec *Ananas comosus* ont permis d'apprécier le pouvoir réparateur de ce fruit sur le foie et les reins des animaux affectés.

Ainsi, il ressort que le paracétamol utilisé à raison de 2g/kg de poids vif par jour pendant 14 jours ou 42 jours s'est avéré hépatotoxique chez les rats Wistar. Ce produit utilisé à la même dose induit également une toxicité rénale.

Par ailleurs, le paracétamol a induit une augmentation du taux des transaminases (ALAT et ASAT) ainsi que celui des phosphatases alcalines. Ce produit a également provoqué une augmentation du taux d'autres paramètres biochimiques tels que le glucose, les triglycérides, le cholestérol, la bilirubine totale, l'urée, la créatinine, la gamma-glutamyl transpeptidase ainsi que de la lactate déshydrogénase. Mais le taux de glutathion a connu une baisse chez les rats Wistar intoxiqués.

En ce qui concerne les vertus hépato-protectrices de l'ananas, distribué aux rats à raison de 13 mg ou de 26 mg/kg de poids vif pendant 28 jours, ce fruit a eu un effet réparateur des lésions hépatiques chez les rats intoxiqués. Cependant, les lésions rénales n'ont subi aucune amélioration suite à l'utilisation de *Ananas comosus*.

Aussi, le paracétamol utilisé pour intoxiquer les rats albinos Wistar a induit des modifications des paramètres biochimiques chez les rats intoxiqués. Les concentrations élevées de ces marqueurs ont connu une régression chez les animaux qui ont été traités avec l'extrait du pédoncule d'*Ananas comosus* (0,06 ml/kg ou 0,12ml/kg de pV par jour pendant 42 jours).

Ainsi, les taux des enzymes hépatiques (aspartate aminotransférase, alanine-aminotransférase, phosphatase alcaline, gamma-glutamyl transpeptidase) ont sensiblement baissé suite à l'utilisation de l'ananas chez les rats albinos Wistar intoxiqués.

L'extrait du pédoncule d'ananas (0,06 ml/kg ou 0,12 ml/kg de pV pendant 42 jours) a fait baisser les taux des paramètres biochimiques (glucose, triglycérides, cholestérol, urée, bilirubine totale, créatinine et lactate déshydrogénase) chez les rats intoxiqués alors que le taux de glutathion a augmenté.

Les réparations hépatiques induites par la quantité de 0,06 ml/kg de pV par jour de l'extrait d'*Ananas comosus* ne diffèrent pas de façon significative des résultats obtenus avec la quantité de 0,12 ml/kg de pV par jour pour traiter les rats pendant 42 jours.

*Ananas comosus* reste donc d'un apport considérable dans le traitement des altérations hépatiques dues au paracétamol chez les rats Wistar

Les résultats de notre étude laissent un espoir pour le rôle hépatoprotecteur que peuvent conférer les flavonoïdes et autres substances antioxydantes que renferme ce fruit.

Toutefois, il reste à explorer d'autres objectifs de recherches telles que l'identification, la quantification et la posologie de *Ananas comosus* dans le traitement des hépatites d'origine infectieuse ou parasitaire chez les animaux ou chez l'homme.

## Références bibliographiques

- 1- Anne G. 2005. Dépistage insuffisant du CHC chez les co-infectés, colloque du 07 Avril, journées nationales d'infectiologie. Nice. France
- 2- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- 3- Banting A., Bouchaud C., Lebas H., Marinez P., Rose F. 1975. Etude de l'évolution des paramètres sanguins chez le mouton et le lapin à la suite d'une infection artificielle avec *Fasciola hepatica*. *Rev. Med. Vet*, **126** (2): 249-52.
- 4- Barone R. 1976. Appareil digestif. Appareil respiratoire. Anatomie des mammifères domestiques. Splanchnologie. Tome III. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. 507-561.
- 5- Beaune P. H. 1999. Les cytochromes P450 humains: applications en toxicology. *Med Ther*, 4: 18-38.
- 6- Berkner K. L., Runge K. W. 2004. The physiology of vitamin K nutrition and vitamin K-dependent protein function in atherosclerosis. *J Thromb Haemost*, **2**: 2118-32.
- 7- Beuth J., Braun J. M. 2005. Modulation of murine tumor growth and colonization by bromelain, an extract of the pineapple plant (*Ananas comosus L.*). *In vivo*; **19** (2): 483-5.
- 8- Bishop J. J., Everse N. O., Kaplan J. 1972. Identification of Lactate Dehydrogenase Isoenzymes by Rapid Kinetics. *Proc Natl Acad Sci*, **69**(7): 1761-65.
- 9- Bohlius J., Schmidlin K., Brillant C. 2009. Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: a meta-analysis of randomized trials. *Lancet*, **60** (373): 1532-1542.
- 10- Bouchet A., Cuilleret J. 1983. Anatomie topographique, descriptive et fonctionnelle. Lyon, France: SIMEP; p 20.

- 11- Boukerche S., Aouacheri W., Saka S. 2007. Les effets toxiques des nitrates : étude biologique chez l'homme et chez l'animal. *Ann Biol Clin*, **65** (4): 38.
- 12- Bridger S., Henderson K., Glucksman E., Ellis A. J., Henry J. A., Williams R. 1998. Death from low dose paracetamol poisoning. *Eur J Pharmacol*; **316**: 1724-5.
- 13- Brien S., Lewith G., Walker A. F., Middleton R., Prescott P., Bundy R. 2006. Bromelain as an adjunctive treatment for moderate-to-severe osteoarthritis of the knee: a randomized placebo-controlled pilot study. *OJM*; **99** (12):841-50.
- 14- Buckley N. A. 1999. Oral or intravenous N-acetylcysteine : which is the treatment of choice for acetaminophen (paracetamol) poisoning ? *J Toxicol clin Toxicol*; **37** (6): 759-67.
- 15- Campbell A. K., Waud J. P., Matthews S. B. 2005. The molecular basis of lactose intolerance. *Sci Prog*; **88**:157-202.
- 16- Capron J. P. 1989. Augmentation modérée et prolongée de l'activité sérique des transaminases. *Presse médicale*; **18**: 913-916.
- 17- Causse X., Gargot D., Michenet P. 1995. Première partie : stéatoses macro-vésiculaires. *Gastroenterol Clin Biol*; **19**: 58-65.
- 18- Chapman M. J. 1980. Animal lipoproteins: chemistry, structure and comparative aspects. *J Lipid Res*; **21** (6): 789-853.
- 19- Chiurciu C., Remuzzi G., Ruggenenti P. 2005. Angiotensin-converting enzyme inhibition and renal protection in nondiabetic patients : the data of the meta-analyses. *J Am Soc Nephrol.* , **16** : 58-63.
- 20- Christensen E.I., Birn H., Rippe B. 2007. Controversies in nephrology: renal albumin handling, facts and artifacts. *Kidney Int.*, **72**: 1192-1194.
- 21- Court M. H., Duan S. X., von Moltke L. L. 2001. Interindividual variability in acetaminophen glucuronidation by human liver microsomes: Identification of relevant acetaminophen UDP-glucuro-nosyltransferase isoforms. *J Pharmacol Ther*; **299**: 998-

- 1006.
- 22- Cullen J. M. 2005. Mechanistic classification of liver injury. *Toxicol Pathol*; **33**: 6-8.
- 23- Danel V. 2004. Intoxication aigüe par le paracétamol. In: Carli P. Protocoles- Urgences, plans et schémas thérapeutiques. *Editions scientifiques*; **4**: 193-195.
- 24- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A. A. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sc* **65** (4): 337-53.
- 25- Dickinson D. A., Levonen A. L., Moellering D. R., Arnold E. K, Zhang H., Darley-Usmar V. M., Forman H. J. 2004. Human glutamate cysteine ligase gene regulation through the electrophile response element. *Free Radic Biol Med*; **37**:1152-1159.
- 26- Diehl A. M., Goodman Z., Ishak K. G. 1988. Alcohol like liver disease in non alcoholics. A clinical and histologic comparison with alcohol induced liver injury. *Gastroenterology*; **95**: 1056-62.
- 27- Dossou J., Ossey G. E. 2006. Extraction et utilisation d'enzymes dans l'agro-alimentaire : cas de la calotropaine et de la bromélaïne. Rapport de recherches FSA. 40p.
- 28- Duvelder B. 1998. Pathologies médicales. Collection (deuxième cycle d'études scientifiques, médicale et pharmaceutique). Paris. France. Encyclopédie collection Encarta® 2005. p 55.
- 29- Erlund L. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res*; **14**: 851-74
- 30- Farougou S. 1992. Contribution à l'établissement des valeurs usuelles sériques chez l'aulacode mâle adulte (*Thryonomys swinderianus*). Thèse de doctorat de médecine vétérinaire. Ecole Inter-Etats des Sciences de Médecine Vétérinaire (I.S.M.V). Dakar. Sénégal. 102 p
- 31- Fontana R.J. 2005. Acetaminophen-induced acute liver failure results

- of a US multicenter, prospective study. *Hepatology*; **42**: 1364-72.
- 32- Fouet P. 1978. Abrégé d'hépatologie. Masson. Paris, New York, Barcelone, Milan. P 20.
- 33- Gabay C. 2006. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther*, **8** (2): 34-8.
- 34- Gabe M. 1968. Techniques histologiques. Editions Masson et Cie. Paris-France. P435.
- 35- Ganry H., Pruvot F., Vesque D., Schmidely N. 2001. Comparable hepatic and renal safety of two daily dosages of paracetamol (3 g and 4 g) in patients with painful chronic rheumatoid diseases. *La Presse médicale.*, **30** (15): 724-730.
- 36- Gekle M. 2005. Renal tubule albumin transport. *Annu Rev Physiol.*, **67**: 573-594.
- 37- Gilani A. H., Janbaz K. H., Shah B. H. 1997. Quercetin exhibits hepatoprotective activity in rats. *Biochem Soc Trans*; **15** (4): 619.
- 38- Gonçalves J. L., Leitão S. G., Delle Monache F. 2001. *In vitro* antiviral effect of flavonoid-rich extracts of *Vitex polygama* (Verbenaceae) against acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1. *Phytomedicine*; **8** (6): 477-80.
- 39- Grethe S., Gemsa F., Monazahian M. 2000. Molecular epidemiology of an outbreak of HCV in a hemodialysis unit: direct sequencing of HCV-HVR1 as an appropriate tool for phylogenetic analysis. *J Med Virol*; **60**:152-58.
- 40- Griffith O.W.1999. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med*; **27**:922-935.
- 41- Gruchalla R. S. 2000. Clinical assessment of drug-induced disease. *Lancet*; **356**: 1505-11.
- 42- Guengerich E.P. 1986. Mammalian cytochromes P450. Florida : CRC press.



- 43- Gustafson A., Alaupovic P., Furman R. H. 1966. Studies of the composition and structure of serum lipoproteins. Separation and characterization of phospholipid-protein residues obtained by partial delipidization of very low density lipoproteins of human serum. *Biochemistry*; **5** (2): 632-40.
- 44- Hale L. P., Fitzhugh D. J., Staats H. F. 2006. Oral immunogenicity of the plant proteinase bromelain. *Int Immunopharmacol*; **6** (13-14): 2038-46.
- 45- Haslem E. 1989. Plant Polyphenols: Vegetables Tannins Revisited, Cambridge University Press, Cambridge, 1-13.
- 46- Havsteen B.H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap*; **96**: 67-202.
- 47- Heinrich M. A., Kinghorn D., Phillipson J. D. 2004. Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy. Churchill Livingstone. ISBN 0443071322 p 265.
- 48- Hou R. G., Chen Y. S., Huang J. R., Jeng K. C. 2006. Cross-linked bromelain inhibits lipopolysaccharide-induced cytokine production involving cellular signaling suppression in rats. *J Agric Food Chem*; **54** (6): 2193-8.
- 49- Houghton J., Raman A. 1998. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. 1ère Edition Chapman p 187.
- 50- Huang C. S., Chang L. S., Anderson M. E., Meister A. 1993. Catalytic and regulatory properties of the heavy subunit of rat kidney gamma-glutamylcysteine synthetase. *J Biol Chem*; **268**:196-198.
- 51- Itoh H. S., Yougel T., Kawagoe K. 1987. Comparison between non alcoholic steatohepatitis and alcoholic hepatitis. *Am J Gastroenterol*; **82**: 650-4.
- 52- Jiang G., Zhang B.B. 2003. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; **284**: 671-678.
- 53- Joliot E., Vanlemmens C., Kerleau M. 1996. Analyse coût-efficacité du traitement de l'hépatite chronique C. *Am J Gastroenterol* **20** (11) :



- 958-967.
- 54- Kamdem L., Magdalou J., Biest G. 1981. Effect of aflatoxin B1 on the activity of drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicology and applied pharmacology*; **60** (3): 570-578.
- 55- Kamenicek V., Holan P., Franck P. 2001. Systemic enzyme therapy in the treatment and prevention of post-traumatic and post-operative swelling. *Orthop traumatic Cech*; **68** : 45-9.
- 56- Kaneko J. J.1989. Chemical biochemistry of domestic animals. California: academic press Inc. 4th edition. p 932.
- 57- Kardong K. V. 2002. Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution. 3<sup>rd</sup> ed. Mc Graw-hill. New York. 762 pp.
- 58- Kawabata T. T., Chapman M. Y., Kim D. H., Stevens W. D., Holsapple M. P. 1990. Mechanisms of in vitro immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroxycyclophosphamide. *Biochem Pharmacol*; **40** (5): 927.
- 59- Kelly G., S. 1996. Bromelain. A literature review and discussion of it's therapeutic applications. *Alt Med Red*; **1**: 243-257.
- 60- Knekt P., Jarvinen R., Seppanen R. 1997. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol*; **146**: 223-30.
- 61- Kostrubsky S. E., Sinclair J. F., Strom S.C. 2005. Phenobarbital and phenytoin increased acetaminophen hepatotoxicity due to inhibition of UDP-glucuronosyltransferases in cultured human hepatocytes. *Toxicol Sci*; **87**:146-55.
- 62- Lahouel M., Boulkour S., Segueni N., Fillastre J. P. 2004. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *J. pat bio*; **10** : 314-322.
- 63- Larrat R., Pagot J., Vandenbussche J. 1971. Manuel vétérinaire des agents techniques de l'élevage tropical. Institut d'Élevage et de

- Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux. 5 ème Edition. Maisons-Alfort. Paris-France. 517 p.
- 64- Larson A. M., Polson J., Fontana R. J., 2003. Acetaminophen-induced acute liver failure results of a US multicenter, prospective study. *Hepatology*; **42**: 1364-72.
- 65- Lecoanet J. 1981. Application des dosages enzymatiques en pathologie du bétail et des animaux de basse-cour. *Point vet.* **12** (58): 39-45.
- 66- Lee W. M. 2004. Acetaminophen and the US acute liver failure study group: Lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*; **40**: 6-9.
- 67- Leiter L. A., Ceriello A., Davidson J.A., Hanefeld M., Monnier L., Owens D. R., 2005. Postprandial glucose regulation: new data and new implications. *Clin Ther*; **27**: 42-56.
- 68- Lips P. 2006 Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol*; **92**: 4-10.
- 69- Lorke D. 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of Toxicology* **54**: 275-287.
- 70- Martin E., Feldmann G. 1983. Les stéatoses d'origine nutritionnelle et métabolique. Histopathologie du foie et des voies biliaires. Paris: Masson, 156.
- 71- Maurer H. R. 2001. Bromelain; biochemistry, pharmacology and medical use. *Cell Mol Life sci*; **58** (9): 1234-45.
- 72- McGeown J. G. 2003. Physiologie; l'Essentiel. Editions Maloine, Paris-France page 189.
- 73- McIntyre N., Rosalki S. 1993. Investigations biochimiques des affections biliaires. IN : Benhamou J. P., Bircher J., McIntyre N., Rizzetto M., Rodes J., eds. Hépatologie Clinique. Paris: Flammarion, 293-309.
- 74- Middleton E. J., Kandaswami C., Theoharides T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer, *Pharmacol Rev*; **52**: 673-75.

- 75- Moellering D., McAndrew J., Patel R. P., Cornwell T., Lincoln T., Cao X., Messina J. L., Forman H. J., Jo H. Darley-Usmar V. M. 2003. Nitric oxide-dependent induction of glutathione synthesis through increased expression of gamma-glutamylcysteine synthetase. *Arch Biochem Biophys*; **358**:74-82.
- 76- Mofredj A., Cadranel J., F., Darchy B., Barbare J., C., Cazier A., Pras V. 1999. Toxicité hépatique du paracétamol à dose thérapeutique chez le sujet éthylique chronique. *Ann Med Int*; **150**: 507-11.
- 77- Moling O., Cairon E., Rimenti G. 2006. Severe hepatotoxicity after therapeutic doses of acetaminophen. *Clin Ther*; **28**: 755-60
- 78- Montoro P., Braea A., Pizza C. 2005. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem*; **92**: 349-55.
- 79- Newton J. F., Pasino D. A., Hook J. B. 2005. Acetaminophen nephrotoxicity in the rat: quantitation of renal metabolic activation *in vivo*. *Toxicology and applied pharmacology*. **78** (1): 139-46.
- 80- Nordlie R. C., Foster J. D., Lange A. J. 1999. Regulation of glucose production by the liver. *Annu Rev Nutr*; **19**: 379-406.
- 81- Orsini R., A. 2006. Bromelain. *Plast Reconstr Surg*; **118** (7): 1640-4.
- 82- Parks E. J., Hellerstein M. K. 2001. Thematic review series: patient-oriented research. Recent advances in liver triacylglycerol and fatty acid metabolism using stable isotope labeling techniques. *J Lipid Res*; **47**: 1651-60.
- 83- Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F. 2003. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta*; **333**: 19-39.
- 84- Pevzner L. 1983. Multiple forms of enzymes, in Handbook of Neurochemistry, A. Lajtha, Editor. Plenum Press: New York & London. 462-463.
- 85- Porter L. J. 1989. Tannins in Methods in Plant Biochemistry (plant

- phenolics), éd. P. M. Dey and J. B. Harborne. London. *Academic Press*; **1**: 389-419.
- 86- Prescott L. F. 2003. Paracetamol, alcohol and the liver. *Br J Clin Pharmacol*; **49**: 291-5.
- 87- Rappaport A. M. 1963. Acinar units and the pathophysiology of the liver  
In: Rouiller CH ed. The liver, morphology, biochemistry, physiology. New York: *Academic press*: 265-328.
- 88- Reddy J. K., Rao M. S. 2006. Lipid metabolism and liver inflammation. II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*; **290**: 852-858.
- 89- Riee-Evans C. 2005. Flavonoid antioxidants. *Curr Med Chem*; **8**: 797-807.
- 90- Rouèssé J. 1994. Oncologie, Paris Masson. (deuxième cycle d'études scientifiques, médicale et pharmaceutique). Paris. France. Encyclopédie collection Encarta® 2005. p 25.
- 91- Rousseau P. 1978. Intérêt du dosage de certains enzymes plasmatiques en pathologie hépatique bovine. Etude bibliographique et expérimentale. Thèse Med. Vet. Alfort. Paris-France. N° 89. 78 p.
- 92- Scalbert A., Morand C., Manach C. 2002. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother*; **56**: 276-80.
- 93- Schmidt L. E., Dalhoff K., Poulsen H. E. 2002. Acute versus chronic alcohol consumption in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology*; **35**: 876-82.
- 94- Schmitt H. 1975. Eléments de pharmacologie. 7ème édition. Paris-France. 27-34.
- 95- Schulz V., Hansel R., Tyler V. E. 2001. Rational phytotherapy. A physician's Guide to Herbal Medicine, fourth edition, Springer, Allemagne. 313 p
- 96- Schünck S., Alain H. 1997. La douleur : moyens et stratégies

- thérapeutiques. *La revue du praticien* ; **12** : 25-30.
- 97- Sen C. K., Packer L. 2000. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr*; **72**: 653-669.
- 98- Settaf M., Zahidy A., Elimadi R., Sapena I., Abd A., Tillement J., P. 2000. S-15176 reduces the hepatic injury in rats subjected to experimental ischemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol*; **406**: 281-92.
- 99- Sgro C., Clinard F., Ouazir K., Chanay H., Allard C., Guilleminet C., Lenoir C., Lemoine A., Hillon P. 2003. Incidence of drug- induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepato*; **36**: 451-5.
- 100- Siess M. H., Le Bon A. M., Canivenc-lavier M.C., Susch M. 2000. Mechanisms involved in the chemoprevention of flavonoids. *Biofactors*; **12** (4): 193-9.
- 101- Simon C. 2000. Juvenile goiter in a goat herd in northwest Germany. *Schweiz Arch Tierheikd*; **142**: 750-69.
- 102- Smaoui M., Yhorbel F., Boujelbene M., Makni-Ayadi F., El Féki A. 2000. Impact de l'exposition chronique au gaz d'échappement d'origine automobile sur certains biomarqueurs touchant la fonction hormonale sexuelle mâle, la fonction rénale et l'hémogramme chez le rat. *Pollution atmosphérique*; **167** (2): 439-449.
- 103- Sofowora A. 1996. Plantes et médecine traditionnelle d'Afrique. Editions Karthala. Paris. P18.
- 104- Starvic B.1984. Mutagenic food flavonoids. *Ped Proc*; **43** (9): 2454-8.
- Steensma D. P. 2007. Erythropoiesis stimulating agents may not be safe in people with cancer. *BMJ*; **40** (334): 648-649.
- 105- Stone M., B., Merrick M., A., Ingersoll C., D., Edwards J., E. 2002. Preliminary comparison of bromelain and Ibuprofen for delayed onset muscle soreness management. *Clin J sport Med*; **12** (6):

373-8.

- 106- Takeda T., Yamazaki H., Farquhar M.G. 2003. Identification of an apical sorting determinant in the cytoplasmic tail of megalin. *Am J Physiol Cell Physiol.*, **284**:1105-1113.
- 107- Tappy L., Jequier E., Schneiter P. 2000. Autoregulation of Glucose Production. *News Physiol Sci*; **15**: 198-202.
- 108- Til H.P. 1985. Short-term oral toxicity in rats with nitrite added to a cereal basal diet. *Interim Repp TNO Neth*; **85**: 288-94.
- 109- Townsend D. M., Tew K. D., Tapiero H. 2003. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*; **57**: 145-155.
- 110- Tozzi M. G., Camici M., Mascia L., Sgarrella F., Ipata P.L. 2006. Pentose phosphates in nucleoside interconversion and catabolism. *FEBSJ*; **273**: 100-101.
- 111- Trottier J., Milkiewicz P., Kaeding J., Verreault M., Barbier O. 2005. Coordinate regulation of hepatic bile acid oxidation and conjugation by nuclear receptors. *Mol Pharm*; **3**: 212-22.
- 112- Ursini F., Thbaro P., Rong J., 1999. Optimization of nutrition: polyphenols and vascular protection. *Nutr Rev*; **57** (8): 241-9.
- 113- Vaissaire J. P 1989. Lapin et rongeurs domestiques : normes physiologiques, hématologiques et biochimiques ; alimentation. Actes du congrès sur la pathologie du lapin de compagnie et des rongeurs domestiques. Paris France 21-48.
- 114- Valla D. 1995. Hépatopathies chroniques médicamenteuses. Imputabilité et aspects cliniques. *Gastroenterol Clin Biol*; **19**: B63-B66.
- 115- Van Acker S. A., Tromp M. N., Haenen G. R. 1995. Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem Biophys Res*; **214**: 755-9.
- 116- Varma D., Kinoshita J. H. 1976. Inhibition of lens aldose reductase by flavonoids- Their possible role in the prevention of diabetic cata-



- racts. *Biochem Pharmacol*; **25** (22): 505-13.
- 117- Vialia A. 1998. Eléments de toxicologie. Editions médicales internationales Paris France p 24.
- 118- Vitol F., Mota-Filipe H., Teixeira G. 2004. Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury. *J. Ethnopharmacol*; **93** (2): 363-70.
- 119- Wahren J., Felig P., Hagenfeldt L. 1986. Effect of protein ingestion on splanchnic and leg metabolism in normal man and in patients with diabetes mellitus. *J Clin Invest*; **57**: 987-999.
- 120- Walle T. 2004. Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Rad Biol Med*; **7**: 82-7.
- 121- Watkins P. B., Seeff L. B. 2006. Drug-induced liver injury: Summary of a single topic clinical research conference. *Hepatology*; **43**: 618-31.
- 122- Wong-Riley M.T. 1993. Cytochrome oxidase in the human visual cortex: Distribution in the developing and the adult brain. *Visual Neuroscience*; **10**: 41-58.
- 123- Wu G., Fang Y. Z., Yang S., Lupton J. R., Turner N. D. 2004. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *J Nutr*; **134**: 489-492.
- 124- Yamamura S., Ozawa K., Ohtani K. 1998. Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry*; **48** (1): 131-136.
- 125- Youdim K. A., McDonald J., Kalt W. 2002. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J Nutr Biochem*; **13** (5): 881-893.
- 126- Zimmerman H.J., Maddrey W. C. 1995. Acetaminophen (Paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: Analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology*; **22**: 767-73.

---

## Références sur Internet

- 1- Boivin M. 1998. Recherche sur les produits de santé naturelle.  
<http://www.medesite.com> consulté le 15 mai 2008.
  
- 2- Guérin J. M. 2005. Pathologies hépatiques. Paris. France.  
<http://www.santécanada.com> consulté le 16 Mai 08.



## Annexes

### Annexe 1 : Screening phytochimique de *Ananas comosus* (Houghton et Raman, 1998).

Le screening phytochimique est une analyse chimique qualitative basée sur des réactions de colorations ou de précipitations plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs. Nos travaux de screening phytochimique se sont déroulés au Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles (LAPHE). Cette analyse comporte :

- **Recherche des alcaloïdes**

Nous avons appliqué deux différents tests :

#### **A) Le test général en milieu acide ou test de MAYER.**

5 grammes de poudre d'ananas sont mélangés à 25 ml d'acide chlorhydrique dilué à 5% et macérés pendant 24h. On recueille 1ml du filtrat auquel on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer. En cas de présence d'alcaloïdes, le filtrat précipite ou devient trouble.

Cependant, il y a un risque de réactions faussement positives :

- protéines qui précipitent par addition d'un réactif contenant un métal lourd.
- Certains glucosides et sucres.
- Les bêtaïnes, la choline, les purines, les amines méthylées, les tanins et les sels ammoniacques.

Aussi dans le cas d'une réaction positive, faut-il confirmer la présence d'alcaloïdes après extraction par un solvant organique.

## B.) Extraction d'alcaloïdes

5 grammes de poudre d'ananas sont introduits dans un Erlenmeyer. Ajouter 5 mL d'ammoniaque (50%) puis additionner 25 mL d'éther-chloroformique. En agitant fréquemment, on laisse macérer pendant 24 h en flacon bouché. On filtre la solution organique sur du sulfate sodique anhydre, et on l'épuise dans une ampoule à décanter par deux fois avec 5 mL d'acide chlorhydrique dilué à 5%. La solution aqueuse est alors additionnée de 5 gouttes du réactif de MAYER. En cas de présence d'alcaloïdes, le filtrat précipite ou devient trouble.

### • Recherche des composés polyphénoliques

Dans un Erlenmeyer, 5 grammes de la poudre sont préparés en infusion dans 100mL d'eau distillée bouillante. Le mélange est laissé pendant 15 minutes sous agitation continue puis filtré. Ce filtrat est réparti en six portions qui serviront aux recherches ci-après :

#### ➤ Recherche des tanins

A la première portion du filtrat, nous ajoutons quelques gouttes de chlorure ferrique. L'obtention d'une coloration bleu foncée, verte ou noire indique la présence de tanins.

#### ▪ Recherche des tanins catéchiques :

A 30 ml de la seconde portion, nous ajoutons 15 ml du réactif de STIASNY puis chauffons le mélange au bain-marie à 90° pendant 15 minutes. L'apparition de précipité rose indique la présence de tanins catéchiques.

## ▪ Recherche de tanins galliques

Nous saturons la troisième portion avec de l'acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ). Après filtration, nous y ajoutons quelques gouttes de chlorure ferrique 1% ; l'apparition d'une teinte bleue ou noire indique la présence de tanins galliques.

### ➤ Recherche des flavonoïdes

Nous ajoutons à 5mL de la quatrième portion, 5 mL d'acide chlorhydrique dilué à 5% et une pincée de la poudre de magnésium. C'est la réaction à la cyanidine dite de SHINODA. L'apparition d'une coloration orangée, rouge ou violette indique la présence des flavonoïdes.

### ➤ Recherche des anthocyanes

Nous additionnons quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 5% à 1mL de la cinquième portion. Ce mélange est ensuite alcalinisé par ajout de quelques gouttes d'ammoniaque. Une coloration rouge qui s'accroît et vire au bleu violacée ou verdâtre indique la présence d'anthocyanes.

### ➤ Recherche des leucoanthocyanes

A 5 mL de la dernière portion, nous ajoutons 5mL d'alcool chlorhydrique à 5%. Le mélange est ensuite chauffé pendant 15 minutes, au bain marie à 90°C. L'observation d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence de leuco anthocyanes.

## • Recherche des dérivés quinoquines

Dans un Erlenmeyer nous mélangeons 2 mL d'acide chlorhydrique à 5 % à 2 grammes de la poudre d'ananas. A ce mélange, nous ajoutons 20 mL de chloroforme et nous laissons en agitation continue pendant 24 heures. Après cette macération, nous ajoutons 5 mL d'ammoniaque à 50% (c'est la réaction de BORN-TRAGER).

Une coloration rose à rouge violacée indique une réaction positive.

#### • Recherche des saponosides

Le décocté de 5 grammes de la poudre est préparé pendant 30 minutes dans 300 mL d'eau avec une ébullition modérée.

Le filtrat refroidi est réparti dans 10 tubes à essais (hauteur 16 cm X 16 mm) en série géométrique de raison 1/10 de concentration du décocté. Après ajustement à 10 mL avec de l'eau distillée et 30 agitations en 15 secondes, le tube est laissé au repos pendant 15 minutes. La hauteur de la mousse est mesurée. Si elle est inférieure à 1 cm, l'indice est inférieur à 100 (négligeable). Si elle est supérieure ou égale à 1 cm dans l'un des tubes, la dilution dans ce tube est l'indice de mousse recherché et indique la présence des saponosides.

#### • Recherche des triterpénoïdes

Nous avons ajouté à 1 gramme de la poudre, 10 mL d'alcool éthylique à 70%. Nous additionnons à ce mélange 10 mL d'eau distillée puis 2 mL d'acétate de plomb. Après 15 minutes de repos, nous filtrons et ajoutons au filtrat 2 mL de solution aqueuse de phosphate sodique. Au bout de 15 minutes, nous recueillons le filtrat dans une ampoule à décanter. Après avoir ajouté 5 mL de chloroforme, nous mélangeons et laissons échapper le gaz. Nous répétons 3 fois de suite la même opération ; recueillons ensuite la solution chloroformique et la séchons sur du sulfate de sodium anhydre. Après avoir réparti le dépôt en deux portions dans des tubes à hémolyses, nous le faisons évaporer.

Nous solubilisons ensuite la première portion en ajoutant quelques gouttes d'acide acétique.

Nous additionnons au mélange ainsi obtenu 3 mL d'un mélange d'anhydride acétique-acide sulfurique ; une coloration violette, bleu ou verte indique la présence de triterpénoïdes. A la deuxième portion, nous ajoutons 2 gouttes

d'une solution d'hydroxyde de sodium normal. L'apparition d'une coloration rouge pourpre ou rouge au vin indique la présence de stéroïdes.

- **Recherche des dérivés cyanogéniques**

Ici nous ajoutons 15 mL d'eau distillée à 2 grammes de la poudre d'ananas à tester dans un Erlenmeyer que nous bouchons immédiatement. Nous laissons macérer pendant une heure en agitant de temps à autre. Après macération, nous recouvrons le col de l'Erlenmeyer avec un papier imbibé d'acide picrique et nous chauffons à 90°C pendant 15 minutes. Une coloration marron indique la présence de dérivés cyanogénétiques.

- **Recherche des mucilages**

Nous avons introduit 1 mL de décocté à 10% dans un tube à essai et ajouté 5 mL d'alcool absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage après une dizaine de minutes.

- **Recherche de coumarines**

1 gramme de la poudre d'ananas est mis dans un Erlenmeyer de 500 mL, on y verse 180 mL d'éthanol et 20 ml d'eau distillée, nous mettons l'Erlenmeyer sous agitation magnétique pendant une nuit. Après filtration, la solution est concentrée à l'évaporation rotative jusqu'à siccité. L'extrait hydro-éthanolique concentré est traité, dans une capsule de porcelaine, avec une goutte de solution saturée de chlorhydrate d'hydroxylamine et une goutte de solution alcoolisée de KOH (7,5% de KOH dans l'éthanol). Ce mélange est chauffé pendant 2 minutes. Après refroidissement, on ajoute une petite quantité d'HCl 0.5 N et de Fe<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub> 1%. Un test positif consiste en une coloration violette. Le test est négatif, si nous obtenons une coloration marron.

- **Recherche des composés réducteurs**

Le décocté à 10% est obtenu par ébullition modérée pendant 3 minutes d'un mélange de 50 mL d'eau distillée et 5 grammes de poudre d'ananas. Après refroidissement, le filtrat a été ajusté à 50 mL avec de l'eau distillée. 5 mL de

filtrat sont introduits dans un tube à essai. Après le chauffage au bain-marie à 90°C pendant quelques minutes, nous ajoutons 1 mL de réactif de Fehling (liqueur de Fehling A + liqueur de Fehling B à volume égal).

Nous réchauffons le filtrat quelques minutes après.

L'observation d'un précipité rouge vif indique la présence de composés réducteurs.

### • Recherche des dérivés anthracéniques

#### - Anthracéniques libres

A 1gramme de poudre, nous ajoutons 10mL de chloroforme et nous chauffons prudemment pendant 3 minutes au bain-marie. Après filtration à chaud, le mélange est complété à 10 mL avec le chloroforme. 1 mL de l'extrait chloroformique est additionné à 1mL d'ammoniaque dilué à  $\frac{1}{2}$  puis agité. L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence d'anthracéniques libres.

#### -Anthracéniques Combinés

#### •O-hétérosides

A une partie du résidu épuisé par le chloroforme, on ajoute 10 mL d'eau distillée et 1 mL d'acide chlorhydrique concentré. Le tube à essai maintenu au bain marie bouillant pendant 15 minutes est ensuite refroidi sous un courant d'eau. L'hydrolysate est obtenu après filtration et ajustement à 10mL. On prélève 5mL de l'hydrolysate qu'on agite avec 5mL de chloroforme. La phase organique soutirée est introduite dans un tube à essai et additionnée de 1mL d'ammoniaque dilué au  $\frac{1}{2}$  puis agité (on garde la phase aqueuse). La présence d'Anthracénique est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense.

Si la réaction est négative ou faiblement positive, on recherche les O-hétérosides à génines réduites. Pour ce faire on prélève 5 mL d'hydrolysate

qu'on additionne de 3 à 4 gouttes de  $\text{Fe}_2\text{Cl}_3$  (chlorure ferrique) à 10%. Le mélange chauffé au bain marie pendant 5 minutes est ensuite refroidi sous courant d'eau puis agité avec 5 mL de chloroforme. A la phase chloroformique soutirée et introduite dans un tube à essai, on ajoute 1 mL d'ammoniaque au 1/2 puis on agite. Une coloration rouge plus ou moins intense signe la présence des O- hétérosides à génines réduites.

- **C-hétérosides**

A la phase aqueuse conservée plus haut, on ajoute 1 mL de  $\text{Fe}_2\text{Cl}_3$  à 10%. Le mélange est porté à ébullition au bain- marie bouillant pendant 30 minutes puis refroidi. Après agitation avec 5 mL de chloroforme, la phase chloroformique est soutirée et recueillie dans un tube à essai. On y ajoute 1 mL d'ammoniaque dilué à 1/2. Une coloration rouge plus ou moins intense signe la présence de génines de C-hétérosides.

## Annexe 2 : Dosage des paramètres biochimiques

### Lactate Déshydrogénase (LDH)

Après prélèvement de 2 ml de sang sans anti-coagulant chez les rats Wistar et en opérant sur le sérum très frais, non hémolysé, le dosage de LDH est réalisé par la méthode spectrophotochimique.

#### Echantillon

Sérum non hémolysé

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 405nm

T° : 37°C ; 30°C

Cuve : Trajet optique 1cm

Zéro de l'appareil : eau distillée

Réactif de W	1 ml
Echantillon	100 µL

Mélanger et lire la concentration dans l'appareil SECOMAM

NB : Les temps d'incubation et de mesure sont déjà programmés dans l'appareil.

- Linéarité : 200 cri/L
- Limite de détection : 2, 5 cri/L
- Sensibilité : 10 cri/L

Selon le protocole conseillé par la société de Biologie Clinique (30°C, pH = 7, 2), les valeurs habituelles rapportées par G. Férard sont les suivantes :



N = 140 à 240  $\mu$ L (S)

N = 2, 3 à 4, 6  $\mu$ Kat/L (S)

En pratique, chaque laboratoire précisera ses propres normes.

### Dosage de la Gamma – GT

#### Echantillon

Sérum non hémolysé

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 405nm

T° : 37°C ; 30°C

Cuve : Trajet optique 1cm

Zéro de l'appareil : eau distillée

Réactif de W	1 ml
Echantillon	100 $\mu$ L

Mélanger et lire la concentration dans l'appareil SECOMAM

NB : Les temps d'incubation et de mesure sont déjà programmés dans l'appareil.

- Linéarité : 200 cri/L
- Limite de détection : 2, 5 cri/L
- Sensibilité : 10 cri/L

## Dosage du glucose

### Echantillons

Sérum non hémolysé

Plasma sur fluorure ou héparine ou tout anti – coagulant inhibant la glycolyse.

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 500 nm (492 – 550 nm)

Température : 37°C

Cuve : Trajet optique 1 cm ou pompe du Basic

Zéro de l'appareil : blanc réactif

**NB :** utiliser un contrôle de qualité de la même manière que le sérum ou le plasma pour valider les résultats du dosage. Ce contrôle doit être quotidien.

	Blanc	Étalon	Dosage
Réactif W	1 mL	1 mL	1 mL
Eau Δ	10 µL	/	/
Étalon	/	10 µL	/
Echantillon	/	/	10 µL

Mélanger et lire la concentration après 10 mn d'incubation ou 20 mn d'incubation à la température du laboratoire.

- Linéarité : le réactif est linéaire jusqu'à 4g/L
- Limite de détection : 0, 020g/L
- Sensibilité fonctionnelle : 0, 2g/L
- Interférence : Bilirubine

## Dosage des Triglycérides

### Echantillons

Sérum

Plasma recueilli sur héparine.

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 546 nm (520 – 570 nm)

Température : 37°C

Cuve : Trajet optique 1 cm ou pompe du Basic

Zéro de l'appareil : blanc réactif

	Blanc	Etalon	Dosage	Contrôle de qualité
Réactif W	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Eau Δ	10 µL	/	/	/
Etalon	/	10 µL	/	/
Echantillon		/	10 µL	/
Sérum de contrôle	/	/		10 µL

Mélanger et lire la concentration après 5 mn d'incubation. La coloration finale est stable au moins 30 mn.

- Linéarité : le réactif est linéaire jusqu'à 10g/L en méthode manuelle (100mg/L) (11, 4mmol/L)
- Limite de détection : 0, 080g/L
- Sensibilité : 0, 025g/L

## Dosage du Cholestérol

### Echantillons

Sérum

Plasma recueilli sur héparine.

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 500 nm (492 – 550 nm)

Température : 37°C ou température du laboratoire

Cuve : Trajet optique 1 cm ou pompe du Basic

Zéro de l'appareil : blanc réactif

	Blanc	Etalon	Dosage	Contrôle de qualité
Réactif W	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Eau Δ	10 µL	/	/	/
Etalon	/	10 µL	/	/
Echantillon		/	10 µL	/
Sérum de contrôle	/	/		10 µL

Mélanger et lire la concentration après 5 mn d'incubation ou 10 mn à la température du laboratoire. La coloration finale est stable au moins 1 heure.

- Linéarité : 5g/L en méthode manuelle
- Limite de détection : 30mg/L
- Interférences : pas d'interférence majeure.

## Dosage de la Bilirubine Totale

### Echantillons

Sérum non hémolysé

Plasma recueilli sur héparine ou sur EDTA.

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 555 nm (530 – 580 nm)

Température : 37°C ; 30°C ; 25°C

Cuve : Trajet optique 1 cm

A) Bilirubine Totale

	Blanc réactif	Blanc calibrateur	Dosage calibrateur	Blanc contrôle	Dosage contrôle	Blanc échantillon	Dosage échantillon
Réactif 1	600 µL	600 µL	600 µL	600 µL	600 µL	600 µL	600 µL
Réactif 2	/	/	120 µL	/	120 µL	/	120 µL
Calibrateur	/	40 µL	40 µL	/		/	/
Sérum contrôle		/	/	40 µL	40 µL	/	/
Echantillon	/	/	/	/	/	40 µL	40 µL

Mélanger et incuber l'abri de la lumière pendant 5 mn. Lire la concentration sur le basic (spectrophotomètre).

## Dosage de l'Urée

### Echantillons

Sérum

Plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/100 avec l'eau Δ

### Préparation des réactifs de travail R1 et R2

Voir notice de chaque coffret

Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)

Longueur d'onde : 578 nm

Température : 37°C ou température du laboratoire

Cuve : Trajet optique 1 cm ou pompe du Basic

Zéro de l'appareil : blanc réactif

	Blanc	Etalon	Dosage	Contrôle de qualité
Réactif W	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Eau Δ	10 µL	/	/	/
Etalon	/	10 µL	/	/
Echantillon		/	10 µL	/
Sérum de contrôle (Lyotrol)	/	/		10 µL

Mélanger et incuber pendant 3 mn puis ajouter

Réactif W2	de	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL
---------------	----	--------	--------	--------	--------

Mélanger et lire la concentration sur le basic après 5 mn d'incubation ou 10 mn à la température du laboratoire. La coloration finale est stable au moins 30 mn.

- Linéarité : le réactif est linéaire jusqu'à 2g/L
- Limite de détection : 0,06g/L
- Interférences : Hémoglobine – Triglycéride - Cholestérol.

VN : Sang : 0,15 – 0,40 g/L

2,50 – 7,49 mmol/L

Urine : 20 – 35 g/24h

333 – 583 mmol/24h

### **Dosage de la Créatinine**

#### Echantillons

Sérum

Plasma recueilli sur héparine.

Urine diluée au 1/100 avec l'eau distillée

#### Préparation du réactif de travail

Préparation extemporanée en mélangeant à volume égal le réactif 1 et le réactif 2, 500µL de R1 + 500µL de R2.

#### Mode opératoire (Méthode manuelle pour spectrophotomètre)



Longueur d'onde : 492 nm (480 – 520)

Température : 37°C

Cuve : Trajet optique 1 cm ou pompe du Basic

Zéro de l'appareil : eau distillée

	Blanc	Etalon	Dosage	Contrôle de qualité
Réactif W	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Eau Δ	10 μL	/	/	/
Etalon	/	10 μL	/	/
Echantillon		/	10 μL	/
Sérum de contrôle (Lyotrol)	/	/		10 μL

Mélanger et lire la concentration dans le basic 10 secondes après l'addition de l'échantillon ou de l'étalon ou du sérum de contrôle.

Pour le dosage de la créatine dans les urines, tenir compte du facteur de dilution. Multiplier la concentration mesurée par 100.

- Linéarité : le réactif est linéaire jusqu'à 50mg/L
- Limite de détection : 1,68mg/L
- Interférences : Bilirubine et Cholestérol ; 10% environ au – dessus de certaines concentrations.

VN : Sérum et Plasma : 6 – 13 mg/L ou 53 – 115 μmol/L

Urines : 0,80 – 1,80g/L ou 7 – 16,4 mol/24h

## Annexe 3: Articles publiés dans des revues à comité de lecture

*Journal de la Société de Biologie Clinique*  
page 48

**MATERIEL ET METHODES****Matériel**

Le matériel animal est constitué de 27 rats mâles albinos de souche Wistar répartis en trois lots de 9 animaux.

Le Doliprane® utilisé en vue de l'induction de l'intoxication hépatique contient 20% de paracétamol.

Le matériel végétal est constitué de pédoncule d'*Ananas comosus* frais. Ce pédoncule est pesé et distribué frais aux rats élevés dans des cages individuelles à raison de 26 mg/kg de poids vif. L'ananas frais, distribué aux rats en fonction de leur poids contient 13,51% de matière sèche déterminée en faisant séjourner le pédoncule pendant 24 heures à une température de 100° C dans une étuve.

**Méthodes**

Le lot 1 ou lot « témoin » n'a reçu ni paracétamol, ni ananas frais.

Le lot 2 ou lot « intoxiqué et traité » est constitué de rats ayant reçu du Doliprane® à la dose de 2 g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines puis traités avec de l'ananas frais à raison de 26 mg/kg de poids corporel par jour pendant 4 semaines.

Le lot 3 ou lot « intoxiqué et non traité » renferme les rats Wistar qui ont reçu du Doliprane® à raison de 2g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines et n'ont reçu aucun traitement avec l'ananas frais.

Les différents traitements au paracétamol sont effectués par gavage dans un volume final de 2 ml d'eau.

Au terme de deux semaines d'intoxication au Paracétamol puis de 4 semaines de traitement

avec de l'ananas frais, 50% de l'effectif de chaque lot ont été sacrifiés, leurs foies examinés, prélevés, pesés puis fixés au formol tamponné à 10%. Les foies de rats ainsi fixés, ont servi à la confection de coupes histologiques de 5µm d'épaisseur, colorées à l'hématéine-éosine. Elles sont observées sur un microscope photonique de marque Olympus BX-41 muni d'une caméra (JVC, ½ pouces). Les observations sont faites au grossissement X20. Les images sont enregistrées au format JPEG sur un ordinateur.

**RESULTATS ET DISCUSSION**

Aucun signe clinique d'intoxication ni de mortalité n'a été observé chez les animaux. Au plan macroscopique, le foie des rats intoxiqués au Paracétamol et non traités avec de l'ananas a une coloration jaunâtre, comparé à celle du foie normal rouge sombre chez le rat non intoxiqué. La consistance du foie du rat intoxiqué est friable. Le poids moyen du foie chez le rat intoxiqué est passé de 3 g à 2,1g. Chez les rats intoxiqués au paracétamol et traités avec de l'ananas frais, le gain moyen de poids du foie a été de l'ordre de 21g avec une consistance plus dure et une coloration moins ictérique.

En microscopie photonique, les figures 1, 2 et 3 montrent respectivement les photos de foie normal de rats Wistar; de foie de rats intoxiqués au paracétamol et non traités puis de foie de rats intoxiqués au paracétamol et traités avec de l'ananas frais.

Chez les rats du lot témoin, l'architecture du parenchyme hépatique est normale marquée par des travées hépatocytaires disposées de façon radiaire autour de la veine centrolobulaire. Les hépatocytes présentent un cytoplasme, basophile et volumineux, un ou deux noyaux bien visibles et peu colorés (figure 1).

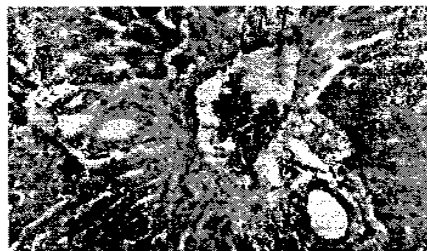
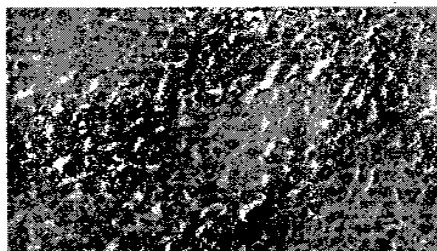


Figure 1 : Aspects morphologiques du foie normal de rat Wistar (HE grossissement X20). Le parenchyme hépatique est fait de travées d'hépatocytes disposés de façon radiaire autour d'une veine centrolobulaire: ce sont des cellules au cytoplasme important et basophile; leur noyau bien visible est légèrement pâle. Les travées hépatiques sont peu espacées

*Journal de la Société de Biologie Clinique, 2006; N° 010 ; 47-50*

*Journal de la Société de Biologie Clinique*  
page 49

Chez les rats du lot 2 c'est-à-dire intoxiqués avec du paracétamol et non traités avec de l'ananas frais, le parenchyme hépatique est désorganisé avec élargissement des espaces entre les travées hépatiques. Les noyaux des hépatocytes sont pycnotiques, le cytoplasme est moins dense et acidophile. Les sinusoides hépatiques sont presque absents (figure 2).

Quant au foie des rats intoxiqués avec du paracétamol et traités avec de l'ananas frais (lot 3), le parenchyme hépatique est à différents stades de régénérescence ; les noyaux sont moins sombres, les espaces entre les travées hépatiques moins larges ; le cytoplasme des cellules hépatiques acquiert sa basophilie (figure 3).

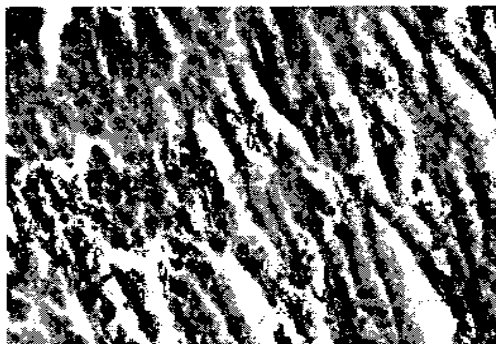


Figure 2 : Foie de rat intoxiqué au paracétamol (HE X20) Le parenchyme hépatique est désorganisé : les espaces entre les travées hépatiques sont larges, les noyaux d'hépatocytes sont pycnotiques voire absents ; leur cytoplasme est moins dense et légèrement acidophile ; les sinusoides hépatiques sont presque absents



Figure 3 : Foie de rat intoxiqué au paracétamol et traité à l'ananas (HE X20). Le parenchyme reprend progressivement son organisation fonctionnelle avec des noyaux moins sombres, des espaces entre travées hépatiques moins larges

Les lésions hépatiques similaires à celles observées chez les animaux qui ont été intoxiqués avec du paracétamol et qui n'ont reçu aucun traitement à base d'ananas ont été notées chez l'homme par Knight et coll., 2003 [4] dans des cas d'intoxication avec le paracétamol. Ce produit en cas de surdosage provoque une dégénérescence hépatique grave. Le paracétamol est largement métabolisé par le foie en dérivés glucuro ou sulfoconjugués. En temps normal, une faible fraction de ces dérivés est transformée en un métabolite très réactif, le N-acétyl-*p*-benzoquinoline qui réagit rapidement avec le glutathion dont il diminue les concentrations. En cas de surdosage, cette réaction devient importante et induit une déplétion plus rapide en glutathion, à l'origine d'un stress oxydatif pouvant entraîner une nécrose hépatique surtout centrolobulaire. La toxicité hépatique impliquerait également une production de peroxy-nitrites à l'origine d'un stress nitrosant [5].

Le paracétamol est un toxique qui agit avec retard sur son organe cible principal, le foie. Toutefois, une intoxication aiguë, souvent accidentelle chez l'enfant, volontaire chez l'adulte, peut provoquer une insuffisance hépatocellulaire aiguë par nécrose hépatique centrolobulaire [6]. La toxicité du paracétamol est

souvent majorée chez les sujets présentant une induction enzymatique (barbituriques, alcool) ou une déplétion chronique en glutathion (dénutrition, alcoolisme chronique). La dose toxique chez l'homme adulte est comprise entre 10 et 15 grammes de paracétamol en prise unique [7]. Chez les patients qui présentent un déficit en glutathion (dénutris, alcooliques chroniques, femme enceinte) et chez les patients traités par inducteurs enzymatiques (rifampicine, phénobarbital, carbamazépine, phénytoïne), le seuil de toxicité est abaissé à 5 grammes. La dose de paracétamol utilisée au cours de nos travaux pour induire une atteinte hépatique chez le rat est de 2 mg/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines. La dose de paracétamol utilisée au cours de nos travaux pour induire une atteinte hépatique est de 2 g/kg de poids corporel par jour pendant 2 semaines. L'action cytolytique du paracétamol sur le foie serait également liée à une inhibition de la cyclooxygénase ce qui provoque une ischémie ayant pour conséquence la nécrose hépatocytaire [8].

L'ananas frais utilisé a réduit la gravité de l'intoxication hépatique due au paracétamol chez le rat Wistar. Cet effet favorable de l'ananas serait en rapport avec la présence dans ce fruit d'une enzyme appelée bromélaïne [9].

*Journal de la Société de Biologie Clinique*  
page 50

La bromélaïne, enzyme protéolytique agit sur les prostaglandines et inhibe la bradykinine, une substance qui accroît la perméabilité vasculaire et qui stimule la douleur [6]. De même, cette enzyme favorise la production de cytokines, éléments catalyseurs du système immunitaire et du stress [3]. La bromélaïne réduit la glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT), enzyme plasmatique dont le taux augmente dans les atteintes hépatiques comme les lésions liées à l'intoxication au paracétamol. Les différents effets biologiques de cette enzyme pourraient expliquer le rétablissement progressif des structures hépatiques préalablement désorganisées suite au surdosage au paracétamol. Il est aussi important de signaler que la bromélaïne est la principale enzyme que renferme l'ananas [10].

Cette enzyme a des propriétés anti-oedémateuses, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques et anti-fibrinolytiques qui pourraient être favorables au processus de réparation suite à la nécrose hépatocytaire. L'administration par voie orale de la bromélaïne n'a aucun effet indésirable et l'enzyme

est un produit d'usage courant en phytothérapie. Même si des anticorps anti-bromélaïne se libèrent lors de son utilisation prolongée, ceci n'affecte pas l'activité anti-inflammatoire et renforce l'action réparatrice de l'ananas au niveau du foie [11].

#### CONCLUSION

De l'analyse de la présente étude il ressort que:

i) le paracétamol utilisé à raison de 2g/kg de poids vif s'est avéré hépatotoxique chez le rat Wistar

ii) Ananas *comosus* frais (ou variété "pain de sucre") distribué dans l'alimentation à raison de 26 mg/kg de poids vif a eu un effet réparateur des lésions hépatiques chez les rats intoxiqués au paracétamol.

Certes, d'autres travaux s'avèrent nécessaires pour extraire la bromélaïne, l'utiliser directement chez les rats Wistar intoxiqués au paracétamol et cerner ces mécanismes d'action dans le processus de réparation hépatocytaire.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Brandt K. (2003). Le paracétamol dans le traitement des douleurs arthrosiques. *Drugs*; **63**, N° spécial 2, 23-41.
2. Rosmorduc O., (2005). Essai thérapeutique randomisé de traitement adjuvant du carcinome hépatocellulaire (CHC) par l'Iressa. Ouverture du colloque sur le cancer du foie, Hôpital Saint-Antoine. Journal du SIDA. N. 181-France.
3. Hou R. G., Chen Y. S., Huang J. R. Jeng K. C. (2006). Cross-linked bromelain inhibits lipopolysaccharide-induced cytokine production involving cellular signaling suppression in rats. *J Agric Food Chem*; **54** (6): 2193-8.
4. Knight T.R., Fariss M.W., Farhood A., Jaeschke H. (2003). Role of lipid peroxidation as a 5-mechanism of liver injury after acetaminophen overdose in mice. *Toxicol Sci*; **76** (1): 229-36.
5. Danel V. (2004). Intoxication aiguë par le paracétamol. In : Carli P. Protocoles - Urgences, plans et schémas thérapeutiques. *Editions Scientifiques L* ; **4** : 193-195
6. Beuth J., Braun J. M. (2005). Modulation of murine tumor growth and colonization by bromelain, an extract of the pineapple plant (*Ananas comosum* L.). *In Vivo*; **19** (2): 483-5
7. Prescott L.F. (2000). Paracetamol, alcohol and the liver. *Br J Clin Pharmacol*, **49**, 291-301.
8. Maurer H.R. (2001). Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cell Mol Life sci*; **58** (9): 1234-45
9. Brien S., Lewith G., Walker A. F., Middleton R., Prescott P., Bundy R. (2006). Bromelain as an adjunctive treatment for moderate- to-severe osteoarthritis of the knee: a randomized placebo-controlled pilot study. *OJM*; **99** (12): 841-50.
10. Hale L. P., Fitzhugh D. J., Staats H. F. (2006). Oral immunogenicity of the plant proteinase bromelain. *Int Immunopharmacol*; **6** (13-14): 2038-46.
11. Orsini R. A. (2006). Bromelain. *Plast Reconstr Surg*; **118** (7): 1640-4.

Journal of Cell and Animal Biology Vol. 2 (2), pp.

031-035, February, 2008 Available online at

<http://www.academicjournals.org/JCAB> ISSN 1996-0867 © 2008

Academic Journals

*Full Length Research Paper*

**Biochemical effectiveness in liver detoxication of fresh pineapple (*Ananas comosus*) with the wistar rats, previously intoxicated by Paracétamol Dougnon T\*. Jacques, Kpodekon T. Marc and Adjagba Marius**

Research Laboratory of Applied Biology (LARBA), University of Abomey-Calavi (UAC), 01 Box 2009 Cotonou, Bénin. Accepted 28 January 2008

The effect of hepatic detoxication with the help of fresh pineapple (*Ananas comosus*), was evaluated on 28 wistar albinos rats previously intoxicated by PARACÉTAMOL containing 20% of paracetamol. Four batches consisting, each them of 7 animals were formed. Batch n° 1, was neither intoxicated nor treated. Batch n° 2 was intoxicated for 2 weeks at the rate of two two (2) grams of PARACÉTAMOL per kilogramme of live weight per day, then treated for 4 weeks with 13 mg of fresh pineapple per kg of live weight per day. Batch n°3 was intoxicated in the same way as batch n°2, but received 26 mg of fresh pineapple during 4 weeks. Batch n°4, was intoxicated for two weeks with the same daily amount of PARACÉTAMOL and did not receive any treatment with pineapple. The rates of Alkaline Phosphatase (ALP), Glutamate Oxaloacetic Transaminase (GOT) and Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT) enzymes were ganged. As for batch n°4, the values of those enzymes underwent a highly significant increase on the threshold of 0.1% when compared with the other three batches. ALP concentrations decreased from  $406.67 \pm 7.17$  to  $223.67 \pm 3.28$  for batch n°2 after the treatment with



the pineapple. Concerning the GPT, value significantly decreased, passing from  $242.67 \pm 31.67$  to  $106 \pm 2.31$  for batch n° 2. As for the GOT, its rate passed from  $184.67 \pm 3.75$  to  $117.33 \pm 2.73$  for batch n°2, without any significance level on the threshold of 5%, comparing batches n° 2 and n°3. It emerges from this study that overdosing of PARACÉTAMOL (2 g/kg of live weight) affected the biochemical level, the normal functioning of the liver of the wistar rats intoxicated *per os*. Fresh pineapple had a reconstructive effect on the hepatic metabolism of the intoxicated rats.

**Key words:** Liver detoxication, pineapple, paracétamol, enzymes, wistar rats.

## INTRODUCTION

The cytolyse hepatic syndrome is definite like the elevation of seric activity of the enzymes: Alkaline Phosphatase and transaminases (Capron, 1989). The liver plays an important part of synthesis, detoxication and homeostasia as well in animals as in human being. The deterioration of hepatocytes provokes an hepatocellular insufficiency which leads to liver malfunction (Shang, 1999). In human medicine, the frequency in liver deterioration has been significantly alarming these years. For instance, it has been noticed an increase in the number of liver cancers coming along on top of cirrhosis due to hepatitis C virus. Today, 50% of carcinomas hepatocellulars develop along with hepatitis C virus, both in U.S.A and Europe; this rate may reach 80% in Japan (Shiina 2005). In Western countries, 30% of the people suffering from B or C viral cirrhoses are likely to suffer from a carcinoma hepatocellular within ten years (Anne, 2005). In Africa and in Asia, aflatoxin B1 produced by *Aspergillus flavus* is a

carcinogen and it participates in a carcinogenic synergy in patients already suffering from B hepatitis.

Still in Africa, the uncontrolled use of certain pharmaceutical products brings about liver alterations which result in an ongoing appearance of hepatocellular carcinoma.

Thus, paracetamol for instance, a widely used molecule, ingested by an adult on the basis of a single dosage vary from 10 to 15 grams/day for several weeks; can provoke a serious hepatose (Shiina, 2005). At the same moment, classical chemotherapies become more and more ineffective for the treatment of complicated liver deteriorations (Anne, 2005). In the face of such a situation, medicinal plants stand for an appreciable therapeutic alternative in lots of African countries where the richness of vegetable biodiversity goes without saying. Recourse to those plants is also justified by the fact that imported drugs are not always accessible to certain strata of the society, because of their prohibitive costs (Sofowora, 1996).

This study aims at evaluating the particular virtue of pineapple, in relation to liver detoxication as far as Wistar rats previously intoxicated with DOLIPRANE<sup>®</sup> are concerned.



## MATERIAL AND METHODS

### Material

The healthy animal supply consisted of 28 albinos male rats belonging to the wistar stock five months old weighing each, on average 150 g. They were distributed in four batches of 7 animals bred in individual cage. The PARACÉTAMOL, which was used for the induction of intoxication to the liver contained 20% of paracetamol.

The vegetable supply consisted of the peduncle of fresh *Ananas comosus*. This fresh peduncle was weighed and distributed to the rats according to their weight. In addition, they received a food standard *ad libitum*. The pineapple contained 13.51% of a determined dried matter resulting from a 24 h stay of the peduncle in a drying oven, the temperature of which was 100°C.

### METHODS

The experimentation is realised in the Research Laboratory of Applied Biology located in Abomey-Calavi's University, Atlantic

Department, Republic of Benin from January to March, 2007.

### Batches constitution

Batch n°1, the negative control batch, received neither PARACÉTAMOL nor fresh pineapple.

Batch n°2 received PARACÉTAMOL at the rate of 2 g/kg of live weight (LW) per day for 2 weeks and was then treated with the help of fresh pineapple at the rate of 13 mg /kg of LW per day for 4 weeks.

Batch n°3 received PARACÉTAMOL at the rate of 2 g/kg of LW per day for 2 weeks and was then treated with fresh pineapple at the rate of 26 mg/kg of LW for 4 weeks.

Batch n°4, the positive control batch, received PARACÉTAMOL at the rate of 2 g/kg of LW per day for 2 weeks and didn't undergo any treatment with fresh pineapple till the end of the trial.

### Blood taking and dosage of alkaline phosphatase and transaminases

2 ml of blood was taken from the caudal vein into a dry serum tube (Gosselin 59522 Hazebrouck France)

The blood was taken on the basis of day 0 (J0); day 14 (J14) and day 42 (J42) from batches n°1, 2, 3 and 4. The serum got, following a 5 m centrifugation was used for the enzyme dosage. The data were analysed using techniques described by Reed and Herrera which are summarized in recent editions of Tietz's textbook.

### **Preparing of the PARACÉTAMOL for the rats' intoxication**

Following the search for DL50 (4 g/kg of LW), it was agreed on 2 g of PARACÉTAMOL per kg of LW as the amount likely to induce the intoxication of the wistar rats. This amount was dissolved in 2 ml of water and given individually *per os* to the rats.

ANOVA test was used to calculate the average serum rates of the various enzymes. STUDENT- NEWMAN and KEULS test allowed these averages in the case of significant differences.

## **RESULTS**

### **Alkaline Phosphatase (ALP) serum levels**

Following the treatment of the intoxicated rats with the help of fresh pineapple, ALP concentrations decreased from  $406.67 \pm 7.17$  to  $223.67 \pm 3.28$  for batch n°2 and from  $408.33 \pm 2.03$  to  $222.67 \pm 3.71$  for batch n°3. At the beginning of the experimentation, there is no significant difference among the four batches on the threshold among of 5%. On J14, those values underwent a neat increase among all the intoxicated batches. At the end of the treatment with the help of fresh pineapple, that enzyme concentration almost decreased by half in batches n°2 and n°3. On the other hand, the alkaline Phosphatase levels increased more and more in batch n°4 with a most highly significant difference on the threshold of probability of 0.1% between the alkaline Phosphatase plasma levels in batches n°2 and n°3 from J14 to J42 (Table 1).

### **The levels of serum glutamate pyruvate transaminase (GPT)**

Concerning the GPT, value significantly decreased, passing from  $242.67 \pm 31.67$  to  $106 \pm 2.31$  for batch n° 2 and from  $248.67 \pm 35.89$  to  $118.33 \pm 11.67$  for batch n°3.

At the beginning of the trial, there was no significant difference among the various batches on the threshold of 5%. Following the induction of the toxicity to the liver with PARACÉTAMOL, there appears a significant difference on J14 between batch n°1 and the three other batches on the threshold of 0.1%. At the end of the experimentation, the values  $61.6 \pm 10.41$  and  $295 \pm 2.64$  were respectively got on the level of batch n°1 and batch n°4.

The difference is highly significant between those batches on the threshold of 0.1%. It is all one at the end of the experimentation between the values in batches n°2 and n°3 compared with batch n°4. At the end of the experimentation, the values in batches n°2 and n°3

significantly decreased in comparison with J14, but they didn't reach the level of batch n°1 (Table 2).

### **The levels of serum glutamate oxaloacetic transaminase (GOT)**

The rate of the GOT passed from  $184.67 \pm 3.75$  to  $117.33 \pm 2.73$  for batch n°2 and from  $181 \pm 5.51$  to  $114.64 \pm 4.83$  for batch n°3, without any significance level on the threshold of 5%. At the beginning of the trial, there was no significant difference between all the batches on the threshold of 5%. Following the intoxication with PARACÉTAMOL, a significant difference was noticed between batch n°1 and the three other batches on the threshold of 0.1%, on J14. At the end of the experimentation, the values of batches n° 2 and n°3 significantly decreased in comparison with J14, but couldn't reach the level of batch n° 1 (Table 3).

**Table 1. Level of alkaline phosphatase (ALP).**

Batches	Alkaline Phosphatase in UI/L		
	JO	J14	J42
Batch n °1	134,33±2,96 a	138±2,37 a	140,67±3,10 a
Batch n °2	137,33±3,93 a	406,67±7,17 b	223,67±3,28 b
Batch n °3	139,33±2,18 a	408,33±2,03 b	222,67±3,71 b
Batch n °4	140±2,52 a	437,30±1,85 c	450±1,92 c
Probability	0,75 ns	0,0009***	<0,0001***

\*\*\* Very highly significant difference on the threshold of 0.1%

Ns: non significant difference on the threshold of 5%. Average values followed by the same letter are non-significantly different on the threshold of 5% probability. Those followed different letters are significantly different.

Batch n°1: control batch, neither PARACÉTAMOL nor fresh pineapple

Batch n°2: PARACÉTAMOL on the basis of 2 g/kg of live weight (LW) per day for 2 weeks, then fresh pineapple on the basis of 13 mg/kg of LW per day for 4 weeks

Batch n°3: PARACÉTAMOL at the rate of 2 g/kg of LW per day for 2 weeks, then fresh pineapple at the rate of 26 mg/kg of LW for 4 weeks

Batch n°4: PARACÉTAMOL on the basis of 2 g/kg of LW per day for 2 weeks and without any treatment by fresh pineapple.

**Table 2. Level of glutamate pyruvate transaminase (GPT).**

Batches	Glutamate	Pyruvate Transaminase in UI/L	
	JO	J14	J42
Batch n °1	69,33±0,88 a	70,33±0,88 a	61,67±10,41 a
Batch n °2	70,33±1,67 a	242,67±31,67 b	106±2,31 c
		248,67±35,89 b	
Batch n °3	70,67±4,25 a	286,33±3,18 c	118,33±11,67 c

\*\*\* Very highly significant difference on the threshold of 0.1%

Ns: non significant difference on the threshold of 5%. Average values followed by the same letter are non-significantly different on the threshold of 5% probability. Those followed different letters are significantly different.

Batch n°1: control batch, neither Doliprane ® nor fresh pineapple

Batch n°2: PARACÉTAMOL on the basis of 2 g/kg of live weight (LW) per day for 2 weeks, then fresh pineapple on the basis of 13 mg/kg of LW per day for 4 weeks

Batch n°3: Doliprane ® at the rate of 2 g/kg of LW per day for 2 weeks, then fresh pineapple at the rate of 26 mg/kg of LW for 4 weeks

Batch n°4: Doliprane ® on the basis of 2 g/kg of LW per day for 2 weeks and without any treatment by fresh pineapple.

**Table 3. Level of glutamate oxaloacetic transaminase (GOT).**

Batches	Glutamate oxaloacetic transaminase in UI/L		
	JO	J14	J42
Batch n°1	41 ±3,05 a	45,67±2,33 a	47,33±6,84 a
Batch n °2	47,33±4,37 a	184,67±3,75 b	117,33±2,73 c
Batch n °3	47,68±3,38 a	181 ±5,51 b	114,67±4,83 c
Batch n °4	43,33±2,40 a	171 ±3,78 c	78±1,53 b
Probability	0,75 ns	0,0009***	<0,0001***

\*\*\* Very highly significant difference on the threshold of 0.1%

Ns non significant difference on the threshold of 5%. Average values followed by the same letter are non-significantly different on the threshold of 5% probability. Those followed different letters are significantly different.

Batch n°1: control batch, neither Paracétamol nor fresh pineapple

Batch n°2: Paracétamol on the basis of 2g/kg of live weight (LW) per day for 2 weeks, then fresh pineapple on the basis of 13 mg/kg of LW per day for 4 weeks

Batch n°3: Paracétamol at the rate of 2g/kg of LW per day for 2 weeks, then fresh pineapple at the rate of 26mg/kg of LW for 4 weeks

Batch n°4: Doliprane ® on the basis of 2g/kg of LW per day for 2 weeks and without any treatment by fresh pineapple.

## Discussion

### Evolution of alkaline phosphatase (ALP)

The serum concentrations in UI/L concerning alkaline phosphatase among the rats in batch n° 1 all the experimentation long and among the rats of the other three batches on JO are regarded as physiological values for that simple of rats. Those values are not in concordance with the ones measured by (Kaneko, 1989). As a matter of fact, the ALP normal plasma value established. By that author was  $419 \pm 15$ , but this concerns female rats. The fact that age and sex can influence the serum level of the alkaline phosphatase accounts for that difference (Rousseau, 1978). The alkaline phosphatase level globally increased among all the rats following intoxication by Doliprane ®. The increase in that enzyme serum level has already been pointed out by Rousseau (1978) in relation to liver alterations, especially when there are liver mechanical disturbances which result in a stasis of the liver. As the enzyme can no longer be normally eliminated by the bile, it is therefore reabsorbed and passes through blood. Thus, in case of ictericia due to bile retention, it is noticed an increase in that enzyme rate in the serum. It is probable that this increase is proportional to the obstruction degree of the biliary tubes. Following the treatment with pineapple, the alkaline Phosphatase levels respectively dropped from  $406.67 \pm 7.17$  UI/L to  $223.67 \pm 3.71$  UI/L regarding batch n°2 and from  $408.33 \pm 2.03$  UI/L to  $222.67 \pm 3.71$  UI/L regarding batch n°3. The positive impact of fresh pineapple upon the liver of the rats previously intoxicated by paracetamol could account for that significant decrease. Indeed, fresh pineapple contains, according to Schulz et al., (2001), a mixture of digestive enzymes the most important of which is bromelaine. That enzyme is absorbed by the organism and passes through the blood to fulfil a systemic activity. Thus, it inhibits the production of prostaglandins which provoke inflammations (Stone et al., 2002). The decrease in inflammatory phenomenon results in the retrogression of liver deteriorations, hence the fall in ALP serum concentration among the wistar rats first intoxicated then treated.

## Evolution of glutamate pyruvate transaminase (GPT)

The GPT values,  $74.7 \pm 3.8$  UI/L are in concordance with those defined by Kamdem et al., (1981) but significantly differ from those established by (Vaissaire, 1989).

In fact, the latter had proposed 130 UI/L as the GPT average value among three-months old rats whereas the rats used in the present experimentation are five months old. Therefore, muscle exercise is likely to change the GPT plasma level (Lecoanet, 1981). Following the intoxication, the GPT levels considerably increased as far as batches 2, 3 and 4 were concerned. As that enzyme is located in several tissues, mainly in the liver, the heart and the skeleton muscles, the increase in its values due to the use of Doliprane® would lead to those organs malfunction. For instance, as regards severe viral or medicinal hepatitis, rates from 500 to 1500 UI/L have been noticed among men. Besides, an ischemic hepatic developing along with a severe toxic necrosis or a serious hypoxia displays values superior to 3000UI/L (Scheurer et al., 2002).

## Levels of glutamate oxaloacetic transaminase (GOT)

The obtained GOT normal values differ from those  $178 \pm 20.99$  UI/L and  $200 \pm 26$  UI/L respectively proposed by Kamdem et al., (1981) and Vaissaire (1989). On the other hand, those results are in harmony with the value  $42.9 \pm 10.1$  UI/L established by Kaneko (1989). In those cases; the age factor is also incriminated. The intoxication with PARACÉTAMOL made the GOT rate increase in batches 2, 3 and 4. That enzyme is found out in several tissues: liver, heart, kidney, muscles spleen and intestine; therefore, it is not specific to a particular organ, but its activity is more important in the liver, the heart and the muscles (Schünck and Alain, 1997). The increase in the GOT plasma rate following the intoxication by PARACÉTAMOL could have been caused by a malfunction of those organs especially at the level of the liver. In fact, it is probable that the increase in the GOT activity is constant among men suffering from a severe hepatitis (Rousseau, 1978). In addition, Banting et al. (1975) emphasize that the increase in the GOT rate is a sign of tissue necrosis, more particularly a hepatic



one. Lecoanet (1981) also stresses that, among cattle and sheep, the GOT plasma values undergo an important increase during acute liver ailments. It is less pronounced during chronic hepatitis. Thus, liver abscesses do not often significantly modify the GOT and the GPT activity, since the exploration of those two enzymes is often carried out in a coupled way. When the GOT is high and the GPT is normal, a muscle attack is suspected; if the GOT and the GPT increase simultaneously, a liver attack is suspected (Lecoanet, 1981).

In the present study, the results establish the increase in those two enzymes, which confirms a liver attack.

On the whole, the use of fresh pineapple made the ALP, GPT and GOT rates decrease among the rates in batches 2 and 3, through the normal values were not found out. Anatomopathological and histopathological tests which were carried out on the liver of the very rats confirm that effectiveness (Dougnon and Kpodékon, 2006).

## **Conclusion**

This study confirms the effectiveness of pineapple in the control of liver malfunctions among wistar rats intoxicated with paracetamol. However, it is desirable that other biological or biochemical parameters related to liver attack be explored so that the obtained results can be supported.

## References

- Anne G. (2005). Dépistage insuffisant du CHC chez les co-infectés, col 7-04, journées nationales d'infectiologie. Nice. France.
- Banting A, Bouchaud C, Lebas H, Marinez P, Rose F (1975). Etude de l'évolution des paramètres sanguins chez le mouton et le lapin à la suite d'une infection artificielle avec *Fasciola hepatica*. *Rev. Med. Vet.* 126(2): 249-70.
- Bourgelat C. 1993. Particularités anatomiques du canal alimentaire des carnivores domestiques. *Rec. Méd. Vét.* **169** (11/12) : 841-854.
- Capron JP (1989). Augmentation modérée et prolongée de l'activité sérique des transaminases. *Presse médicale.* **18** : 913-916.
- Dougnon TJ, Kpodékon TM (2006). Effets de *Ananas comosus*, variété « pain de sucre » sur les lésions hépatiques dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar. Société de Biologie Clinique. *Sous presse*.
- Kamdem L, Magdalou J, Biest G (1981). Effect of aflatoxin B1 on the activity of drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **60**(3): 570-578.
- Kaneko JJ (1989). *Chemical biochemistry of domestic animals*. California: academic press Inc. 4<sup>th</sup> edition. p. 932.
- Lecoanet J. (1981). Application des dosages enzymatiques en pathologie du bétail et des animaux de basse-cour. *Point vet.* **12** (58): 39-45.
- Rousseau P. (1978). Interêt du dosage de certains enzymes plasmatiques en pathologie hépatique bovine. Etude bibliographique et expérimentale. Thèse Med. Vet. Alfort. Paris. N° 89. p.78.
- Saunders, Philadelphia, PA. Vaissaire JP. (1989). Lapin et rongeurs domestiques : normes physiologiques, hématologiques et biochimiques ; alimentation. Actes du congrès sur la pathologie du lapin de compagnie et des rongeurs domestiques. Paris France 21-48.

- Scheurer S, Reindl J, Rihs HP (2002). IgE reactivity to profilin in pollen-sensitized subjects with adverse reactions to banana and pineapple. *Int Arch Allergy Immunol.* **128** : 105-114.
- Schulz V, Hansel R, Tyler VE (2001). Rational phytotherapy. A physician's Guide to Herbal Medicine, fourth edition, Springer, Allemagne. p. 313.
- Schünck S, Alain H (1997). La douleur : moyens et stratégies thérapeutiques. *La revue du praticien.* **47** : 555-569.
- Shang N (1999). L'étude menée à Taiwan sur la vaccination de masse contre le virus de l'hépatite B, *J. med.* **336** :1855-1859.
- Shiina A. (2005). Meilleure survie avec la radiofréquence qu'avec l'alcoolisation, *Gastroentérologie.* **129**: 122-130.
- Sofowora A. (1996). Plantes et médecine traditionnelle d'Afrique. Editions Karthala. Paris. p.18.
- Stone MB, Merrick MA Ingersoll CD, Edwards JE (2002). Preliminary comparison of bromelain and Ibuprofen for delayed onset muscle soreness management. *Clin J sport Med.* **12** (6): 373-378.
- Tietz NW. (1994). Specimen Collection and Processing ; Sources of Biological Variation. Textbook of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Edition, W.B.

# Effect of pineapple (*Ananas comosus*) on haematological and biochemical parameters in albinos rats Wistar intoxicated with paracetamol.

Dougnon T J, Kpodékon T M, Ahissou H, Loko F, Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée (LARBA), Université Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

Accepted 8 July, 2009

The aim of this study is to evaluate the liver's protection of *Ananas comosus* on the albinos rats Wistar intoxicated with Doliprane® which contained 20% of paracetamol. The animals have been divided on four batches of 30. The first batch, negative reference has not been addicted to Doliprane® and has not been treated with *Ananas comosus*. The batches n°2 and n°3 have been addicted during six weeks with Doliprane® such as 2g per kg of body weight by day during 42 days. Each rat of batch 2, has received by cramming, 0.06 ml/kg of body weight by day of the stalk against 0.12ml per kg of body weight by day for the batch n°3. The batch n°4 has been addicted to Doliprane® such as 2g / kg of body weight by day for 42 days and hasn't been treated with *Ananas comosus*. An haematological study and a determination of rate of glucose, triglycerides and cholesterol have been realised on these rats. The study has shown that, Doliprane® made the induction of an hypochromic anemia with the rats of batch 4. This anemia has been corrected with the stalk of *Ananas comosus* with the batches n°2 and n° 3.

The rate of glucose ( $1.28 \pm 0.13$  g/L) and triglycerides ( $0.71 \pm 0.00$  g/L) have been more increased with the rats of batch n°4 than others animals ( $p < 0.0001$ ). But, the rate of cholesterol ( $0.63 \pm 0.01$ g/L) has been lowed with that batch ( $p < 0.0001$ ). The stalk of *Ananas comosus* protects the liver against haematological and biochemical spoilage due to Doliprane® 's toxicity on the Wistar rats intoxicated.

**Keywords:** haematological, biochemical, parameters, *Ananas comosus*, rats Wistar, paracetamol

## Introduction

The lesions associated with drugs such as paracetamol constitute an important part and incidence probably underestimated on the liver diseases [1]. Their detection and early etiological diagnosis are in the field of clinical practice and have a daily predicts particular importance. As the epidemiological studies, approximately 10% of all cases of acute hepatitis are drug as 40% of those occurring after fifty years old [2].

Women are nearly three times more frequently affected than men and, in cases of acute hepatitis, mortality or the likelihood of the need for a transplant is close to 20%. Half of fulminant hepatitis cases are drug and according to the European transplant registry, it accounts for 6% of

indications of liver transplantation [3]. The higher proportions in Scandinavian countries (5, 4%) and England (5%) were due to self-medication. In Africa, liver

**Correspondence :** Dougnon T. Jacques. Email : [dougnonj@yahoo.fr](mailto:dougnonj@yahoo.fr)

damage drug remains a challenge as to their diagnostic approach. The liver, an organ of detoxification, is effectively important in the physiology of blood cells. This study allows to assess the blood and some biochemical parameters in albinos rats Wistar intoxicated with Doliprane® and treated with *Ananas comosus*.

## Material and Methods

### Material

#### Animals

The study was conducted on male albinos rats Wistar weighing 130 g.

#### Plants

The *Ananas comosus*, variety bread sugar is produced in the Farm of Application of agriculture College of Sekou, Department of the Atlantic.

### Methods

#### The extract of *Ananas comosus*

The stalk of fresh pineapple was transformed to obtain the extract, using the technique of [4] in the Laboratory of Pharmacognosy and Essential Oils in Cotonou.

#### Preparation of Doliprane® for the induction of liver toxicity

Following the search for LD50 (4g/kg PV), it was chosen as dose induction of liver toxicity, the dose of 2g of Doliprane® PV per kg per day. This dose was dissolved in 2ml of water and administered individually, orally to Wistar rats for 6 weeks.

#### Groups of animals

Batch 1 (30 rats): proof animals; have received neither the Doliprane® nor *Ananas comosus* extract.  
 Batch 2 (30 rats) : were given orally to Doliprane® 2g per kg body weight and treatment of 0.06 ml / kg PV day of *Ananas comosus* extract for 42 days  
 Batch 3 (30 rats) : were given orally to Doliprane® 2g per kg body weight and treatment of 0.12 ml / kg PV / day of *Ananas comosus* extract per day for 42 days.  
 Batch 4 (30 rats): were given orally to Doliprane® 2g per kg body weight per day for 42 days and have not received treatment with extract of *Ananas comosus*.

#### Determination of mortality

The mortality rate is obtained by multiplying by 100 the number of albinos rats Wistar died during the experiment; the value is divided by the total number of experimental rats

#### Study of chemical properties of *Ananas comosus*

The properties which are attributed flavonoids biological effects of the extract of *Ananas comosus* are sought and separated by thin layer chromatography, carried out by the methods of Park *et al.*, (2001).

#### Blood sample and assay haematological parameters

Starting from the tail vein, 2 ml of blood were collected in vacuum tubes with anticoagulant. The blood collected in tubes with anticoagulant (sodium citrate) was used for establishing the haemogram.

The analysis was performed haematologic with two milliliters of blood on EDTA 8.5%. The counting of leukocytes ( $\times 10^3$ /ml blood), red ( $10^6$ /ml blood), platelets ( $10^3$ /ml blood) and hematocrit (%), hemoglobin (g / dl of blood), the Average blood volume (MCV) ( $\mu\text{m}^3$ ), the average concentration in blood hemoglobin (CGMH) in (mg/100 ml of red blood cells), grade average blood hemoglobin (TGMH) in (pg / red blood cells) were made Using the S Coulter more. Counting the number of red blood leukocyte and balance were determined on the stained smears in May-Grünwald-Giemsa

#### The biochemical levels

Biochemical assays were performed using commercial kits ready for use Spinreact kits were used for determination of glucose, but Biosystems kits were used for determinations of triglycerides and cholesterol.

#### Statistical methods

After treatment, data were submitted to the analysis of Variance under the Software Statistica 6.0 (1998). If significant differences, the Student t test Newman-Keuls was used with a risk of error p such that:

$p > 0.05$  = The difference is not significant  
 $0.05 > p > 0.01$  = The difference is significant  
 $0.05 > p > 0.001$  = the difference is highly significant  
 $p < 0.0001$  = the difference is highly significant

## Results

### Haematological study

The haematologic parameters have addressed the following parameters: haematocrit, erythrocyte numbers, haemoglobin, white blood cells numeration, leukocyte formula, average blood volume (MCV), mean blood concentration haemoglobin (CGMH) content and average blood haemoglobin (TGMH). The values of haematocrit Wistar rats ranged from  $41.12 \pm 0.11$  in animals of batch 1 to  $21.90$  for those batch n°4 through intermediate values in rats of batches n°2 and n°3 ( $p < 0.0001$ ). About Wistar rats, a numeration of the erythrocyte introduced important changes and varies from  $7.66 \pm 0.04$  with animals of batch n°1 to  $4.54 \pm 0.02$  in those of batch n°4 ( $p < 0.0001$ ) The number of red blood cells was significantly higher in rats of batches n°2 and n°3 when compared to that of rats of batch n°4 ( $p < 0.0001$ ) The maximum haemoglobin concentration was observed in rats of batch 1 ( $12.62 \pm 0.01$ ), the lowest among those of batch n°4 ( $7.6 \pm 0.009$ ) ( $p < 0.0001$ ) . Intermediate values were found in rats of

batches n°2 and n°3 ( $p < 0.0001$ ). The lowest value of  $5.25 \pm 0.02$  for leukocytes was found in rats of batch n°4 against  $6 \pm 0.01$ ;  $6 \pm 0.02$  and  $6.60 \pm 0.02$  for animals of batches n°3, 2 and n°1 ( $p < 0.0001$ ). The lower values of neutrophils, lymphocytes and platelets were found in rats of batch n°4 ( $p < 0.0001$ ).

MCV values were significantly lower with rats of batch n°4 ( $48.31 \pm 0.37$ ) when compared respectively to those of rats of batches n°1, n°2 and n°3 ( $p < 0.0001$ ).

The average concentrations in blood hemoglobin (CGMH) have been fluctuating with the lowest value of  $24.55 \pm 0.19$  in rats of batch n°4 ( $p < 0.0001$ ).

The average content in blood haemoglobin varied between batches; the highest value of  $16.67 \pm 0.008$  was achieved with the batch n°4 ( $p < 0.0001$ ). The haematologic parameters are expressed in tables Ia and Ib

### Biochemical parameters

Rate of glucose, triglycerides and cholesterol on rats addicted with Doliprane® and treated with *Ananas comosus*

The rate of glucose, triglycerides and cholesterol has

Table Ia: haematological parameters with Wistar rats intoxicated with Doliprane® and treated with stem of *Ananas comosus*

Treatments	GR ( $10^6$ /mm <sup>3</sup> of blood)	GB ( $10^3$ /mm <sup>3</sup> of blood)	Hb (g/dl)	Hte (%)	VGM (%)
Batch n°1	7.66±0.04 a	6.60±0.02 a	12.62±0.01 a	41.12±0.11 a	53.75±0.38 a
Batch n°2	6.45±0.01 b	6.04±0.02 b	10.19±0.01 b	34.83±0.14 c	54.04±0.27 a
Batch n° 3	6.86±0.01 c	6±0.01 b	10.19±0.02 b	36.47±0.13 b	53.16±0.21 a
Batch n° 4	4.54±0.02 d	5.25±0.02 c	7.56±0.009 c	21.90±0.12 d	48.31±0.37 b
Probability	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***
cv%	2,23	2	0,88	2,06	3,35

\*\*\* = Highly significant difference

GR: Red ( $10^6$  / mm<sup>3</sup> of blood)

GB: white blood cells ( $10^3$  / mm<sup>3</sup> of blood)

Hte: hematocrit (%)

VGM: Volume Globularia Average (fL)

Hb: haemoglobin (g / dl)

Table Ib: haematological parameters with Wistar rats intoxicated with Doliprane® and treated with stem of *Ananas comosus*

Treatments	CGMH ( $10^3$ /mm <sup>3</sup> of blood)	TGMH (pg/ blood cell)	L (%)	N (%)	P ( $10^3$ /mm <sup>3</sup> of blood)
Batch n° 1	30.70±0.08 b	16.48±0.10 a	39.87±0.92 a	67.70±0.24 a	1071.03±0.24 a
Batch n°2	29.26±0.13 c	15.80±0.04 b	37.83±0.63 b	62.63±0.35 b	961.50±0.36 c
Batch n°3	27.95±0.14 d	14.85±0.05 c	37.63±0.08 b	59.93±0.13 c	982.0±2.50 b
Batch n° 4	34.55±0.19 a	16.67±0.08 a	25.97±0.25 c	51.90±0.27 d	850.47±0.09 d
Probability	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***
cv%	2,53	2,52	8,89	2,37	0,72

\*\*\* = Highly significant difference

L : lymphocytes (%)

N : neutrophils (%)

P : platelets ( $10^3$ /mm<sup>3</sup> de sang)

CGMH: Middle concentration globular haemoglobin (g/l)

TGMH: Middle rate globular haemoglobin (pg/ blood cell)

known some variations. So the rate of glucose has been increased on the rats of batch n°4 when compared with those of batch n°1 ( $p < 0.0001$ ). However, any significant difference has been noticed with the rats of batches n°2 and n°3.

About triglycerides, the rate has been increased with the animals of batch n°4 against those of batch n°1 ( $p < 0.0001$ ). But the difference has been very significant between the rate of triglycerides of batches n°2 and 3 ( $p < 0.0001$ ).

About the cholesterol, the rate has been more lower with the rats of batch n°4 than the rats of batch 1 ( $p < 0,0001$ )

We notice the same situation with the batches which received the treatment based on *Ananas comosus* ( $p < 0,0001$ ).

Finally, the rate of these biochemical parameters haven't varied between the rats addicted with Doliprane®. The results are as follow on table II:

## Discussion

### Haematological study

The number of red blood cells obtained in animals of

batch n°4 is very low compared to the results of [5] where these authors have found  $8.45.10^6 / \text{mm}^3$  as the number of red blood cells in healthy rats Wistar . The paracetamol influenced the number of red blood cells causing anemia in rats Wistar

intoxicated. Indeed, paracetamol induces serious liver dysfunction and abnormal formation of blood cells including red blood cells, leukocytes and platelets in rats intoxicated [6]. The numbers of red blood cells in rats not intoxicated with Doliprane® is stable and varies little from one subject to another. Even, if this stability seems characteristic of healthy Wistar rat, the number of red blood cells obtained in rats of Lot n°1 in this study is slightly higher than the value of  $7.1.10^6 / \text{mm}^3$ , proposed by [7].

In the rats intoxicated with Doliprane® and treated with *Ananas comosus*, we notice a progressive cell regeneration remarkable in rats of lot n°3. A similar result was observed by [7] in rats Wistar intoxicated with paracetamol and treated with propolis. Regarding the hemoglobin and hematocrit, a similar trend was obtained with the lowest levels in rats Lot n°4. Even if the values of these parameters haematological a relative increase related to treatment with *Ananas comosus*, everything

Table II: Concentrations of Glucose, de Triglycerides and Cholesterol on the rats Wistar

Batches	Biochemical parameters		
	Glucose (g/L)	Triglycerides (g /L)	Cholesterol (g/L)
Batch n°1 (negative)	$0.99 \pm 0.10c$	$0.50 \pm 0.01d$	$0.63 \pm 0.01a$
Batch n°2 (low treatment)	$0.99 \pm 0.00b$	$0.58 \pm 0.02c$	$0.45 \pm 0.02c$
Batch n°3 (high treatment)	$0.99 \pm 0.00b$	$0.61 \pm 0.02b$	$0.48 \pm 0.00b$
Batch n°4 (non treated)	$1.28 \pm 0.13a$	$0.71 \pm 0.00a$	$0.32 \pm 0.02d$
C V	7.82	3.05	3,74
P	***< 0,0001	***<0,0001	***<0,0001

\*\*\* = Highly significant difference



seems to confirm the conclusion of [8] which states that the factors affecting the overall status of the animal such as nutritional level, the water balance and status pathological influence hematocrit.

Regarding the white blood cells and platelets, changes have been observed particularly in rats Lot n°4 in which the number was lower. These low values are linked to the toxic action of paracetamol which can induce leukopenia and thrombocytopenia in cases of severe liver dysfunction already demonstrated by the study of [9].

The significant decrease in haemoglobin ( $7.56 \pm 0.009$ ) in rats of batch n°4, combined with a significant decrease of MCV ( $48.31 \pm 0.37$ ) and a concomitant decline of CGMH ( $24.55 \pm 0.19$ ) and TGMH ( $16.67 \pm 0.08$ ) indicate a trend towards hypochromia.

This decrease of blood cells was significantly corrected in rats lots n°2 and n°3 following the action in favor of *Ananas comosus*. Indeed, this fruit contains flavonoids compounds identified by the Screening phytochemical of pineapple in this study. As a result, the pineapple has a potential anti-oxidant and its high content of vitamin C would also contribute to a little over 30% of its antioxidant potential [10]. This property of *Ananas comosus* promotes its favorable action on the liver in regulating hematopoiesis. The decrease in hemoglobin has been proven by [7] in rats addicted to paracetamol. Paracetamol could inhibit the synthesis of heme in red blood cells and cause signs of anemia described by Bottomley [11]. These signs are offset by the beneficial effect of *Ananas comosus*. However, red blood cells remain poor heme, hence the decline in CGMH, already indicated by our results in rats Lot n°4. These erythrocytes also increase more slowly in the blood before they complete maturation which explains the drop in the MCV.

Concentration of glucose, triglycerides and cholesterol in rats intoxicated with Doliprane® and treated with the extract of the stem of *Ananas comosus*.

The biochemical parameters are of paramount need to assess many diseases. They can evaluate the possible effect of a toxic agent on the physiological functions of the organism [12]. In addition, the liver is the main organ involved in the metabolism of glucose [13]. The results of this study indicate an increased rate of glucose in rats Lot n°4. This could be explained by the nature, metabolism and dose of Doliprane®. The increase of glucose in rats Lot n°4 could objectify impairment of liver metabolism. This result, confirmed by the work of [14] because the cytotoxicity of Doliprane® create an ionic

imbalance and the need for ATP can be explained by a higher blood glucose levels.

In this study, the number of red blood cells significantly decreased in rats intoxicated at Doliprane® and untreated by *Ananas comosus*. Before the attack linked to the toxicity of paracetamol, the red blood cell develops its own defense mechanism that requires ATP provided mainly by the erythrocyte glucose. We therefore believe that achieving the integrity of red blood cells and release of glucose are linked to the toxicity of paracetamol. Then the red blood cells have lost their main source of energy, are unable to activate their defense system. However, the blood glucose level batches n°2 and n°3 had been reduced but has not reached the rats of batch n°1. The gradual restoration of glucose metabolism is related to the favorable action in the liver of *Ananas comosus* on rats addicted to Doliprane®. Indeed, this fruit contains phytochemical after screening established in this study, tannins. Tannins are astringent substances, healing and anti-bleeding because they have a strong affinity for proteins they make hasty. As polyphenols, are recognized for their effective anti-oxidant and anti-degenerative [15].

The results also reveal a clear increase in the concentration of triglycerides in rats batch n°4. This can be explained by weathering of métralolisme lipids. In all attacks by xenobiotics, the metabolism of fat liver is amended to the production of defense systems and to neoglucogenese [13]. Such facades of triglyceride levels were detected by [5] on rats poisoned paracetamol at a cost of PV 200mg/kg per day. However, in terms of lots n°2 and n°3, the decrease would always be linked to the favorable impact of *Ananas comosus*, the efficiency is obtained with a dose of 0.06 ml / kg of PV per day.

Contrary to the concentrations of biochemical parameters

previous cholesterol levels fell significantly in rats Lot n°4. The pronounced drop of cholesterol is not in accordance with the results of [5] these authors have found cholesterol whose value is much higher with a dose of paracetamol (200mg/kg PV per day) lower than the experimental dose of paracetamol in this study. The effect low dose could then be the basis of cholesterol levels relatively higher ( $0.58 \pm 0.02$ ) obtained by these authors in rats intoxicated. The alteration of lipid metabolism in the liver would have induced liver failure relayed by hypocholesteremia following the cytolysis liver and hepatocyte necrosis previously reported by [16]. This is objectified by severe lesions detected by histological analysis liver of rats Lot n°4. Cholesterol had risen against rats



who received treatment based *Ananas comosus*. If metabobites reagents formed through metabolism of paracetamol used in this study affect concentrations of glucose, cholesterol and tryglycerides, flavonoids and vitamin C that contains the *Ananas comosus* are powerful antioxidants that promote hepatic metabolism. The presence of bromelain in *Ananas comosus* and notified by [17], could also contribute to the hepatoprotection of this fruit.

## Conclusion

This study has shown an increase in blood glucose and triglycerides, while cholesterol has dropped among Wistar albinos rats addicted to Doliprane®. As for hematological parameters, there was an anemia hypochromic from these rats. These different biochemical and haematological changes have seen a marked improvement with the use of the extract of the stem *Ananas comosus* components through antioxidants contained in this fruit. The results of our study leaves a great hope for the future regarding the role of liver detoxification *Ananas comosus*.

## References

- Gruchalla R S. Clinical assessment of drug-induced disease. *Lancet* 2000., 356: 1505-11.
- Sgro C, Clinard F, Ouazir K. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology* 2003., 36: 451-5.
- Cullen J M. Mechanistic classification of liver injury. *Toxicol Pathol* 2005., 33: 6-8.
- Parks JH, Lee HH, Ju SK, Lee MK, Kim KL. Expanded bed chromatography in primary protein purification. *J Chromatogr* 200., 22 (1): 60-9.
- Boukerche S, Aouacheri W, Saka S. Les effets toxiques des nitrates : étude biologique chez l'homme et chez l'animal. *Ann Biol Clin* 2004., 65 (4) : 385-391.
- Kurtovic J, Riordan S M. Paracetamol-induced hepatotoxicity at recommended dosage. *J Intern Med* 2003., 253:240-3.
- .Lahouel M, Ouadi O, Khiari N. Effets hépatique et hématologique du paracétamol. *Saidal info* 2004., 7 : 60-6.
- Vialia A. Eléments de toxicologie. *Editions médicales internationales* 1998. Paris. 25-28.
- Moling O, Cairon E, Rimenti G. Severe hepatotoxicity after therapeutic doses of acetaminophen. *Clin Ther* 2006., 28:755-60.
- Szeto Y T, Tomlinson B, Benzie I, F. Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *J Nutr* 2002., 87: 55-59
- Bottomley S S, Muller-Eberhard V. Pathophysiology of the heme synthesis. *Pemin hematol* 1998., 25 : 282-303.
- Smaoui M, Yhorbel F, Boujelbene M, Makni-Ayadi F, El Féki A. Impact de l'exposition chronique au gaz d'échappement d'origine automobile sur certains biomarqueurs touchant la fonction hormonale sexuelle mâle, la fonction rénale et l'hémogramme chez le rat. *Pollution atmosphérique* 2000., 167 (2) : 439-449.
- McGeown J G. Physiologie. L'essentiel. *Editions Maloine* 2003., Paris. 226-229.
- Knobeloch L, Palna B, Hogan A, Postele J, Anderson H. Blue baies and nitrate contaminated well water. *Environ Heal Persp* 2000., 108 : 675-8.
- Porter L J. Tannins in Methods in Plant Biochemistry (plant phenolics), eds. P.M. Dey and J. B. Harborne. *Academic Press* 1989., London. 389-419.
- Dougnon T J, Kpodékon T, M, Lalèye A, Adjagba M, Darboux R. Effets de *Ananas comosus*, variété " pain de sucre" sur les lésions hépatiques dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar. *Société de Biologie Clinique* 2006., 10: 47-50.
- Maurer H, R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cell Mol Life sci* 2001., 58 (9): 1234-45.

Available online at <http://ajol.info/index.php/ijbcs>

Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(4): 688-693, August 2009

International Journal  
of Biological and  
Chemical Sciences

ISSN 1991-8631

Original Paper

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Effet protecteur du pédoncule d'ananas au cours de l'intoxication du rat Wistar par le paracétamol

T. J. DOUGNON<sup>\*</sup>, T. M. KPODEKON, H. AHISSOU, J. GBENOU,  
F. LOKO et A. LALEYE

Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée (LARBA), Université Abomey-Calavi (UAC),  
01 BP 2009 Cotonou, Bénin.

<sup>\*</sup>Auteur correspondant, Email : [dougnonj@yahoo.fr](mailto:dougnonj@yahoo.fr)

### RESUME

La présente étude se propose d'évaluer l'hépatotoxicité du paracétamol chez des rats Wistar traités à l'extrait du pédoncule d'*Ananas comosus*. Ils ont été répartis en : Lot 1 (30 rats): animaux témoins sans paracétamol ni extrait d'*Ananas comosus* ; Lot 2 (30 rats): 2 g de paracétamol par kg de poids vif et 0,06 mL d'extrait d'*Ananas comosus* par kg par jour pendant 42 jours ; Lot 3 (30 rats): 2 g de paracétamol par kg de poids vif et 0,12 mL d'extrait d'*Ananas comosus* par kg par jour pendant 42 jours ; Lot 4 (30 rats): 2 g de paracétamol par kg de poids vif par jour et pas d'extrait d'*Ananas comosus* pendant 42 jours. Les taux les plus élevés de Gamma- Glutamyl-Transpeptidase (81,83±0,9 UI/L), de LDH (480,30±0,95 UI/L) ont été obtenus au 42<sup>ème</sup> jour avec le taux le plus bas de Glutathion (0,39±0,7 nM/mg) chez les rats du lot n°4 (p<0,001). Les valeurs de Gamma-Glutamyl-Transpeptidase et de Lactate Deshydrogenase ont augmenté avec le paracétamol utilisé pour l'intoxication des rats alors que celle du Glutathion a sensiblement chuté. L'extrait du pédoncule d'*Ananas comosus* a influencé les valeurs de ces paramètres biochimiques.

© 2009 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots-clés :** Toxicité hépatique, paracétamol, Gamma- Glutamyl-Transpeptidase, Lactate Deshydrogenase, rat Wistar, *Ananas comosus*.

### INTRODUCTION

Le foie joue un important rôle de métabolisation, de dégradation de la majorité des substances et ce après oxydation, réduction, conjugaison ou méthylation. Il transforme les toxiques en métabolites eux-mêmes parfois très agressifs pour l'organisme. Ainsi, les pathologies hépatiques d'origine médicamenteuse sont fréquentes, polymorphes dans leur présentation et difficiles à diagnostiquer (Gruchalla, 2000). Le surdosage en Doliprane<sup>®</sup> qui contient 20% de paracétamol est fréquent car ce médicament est en vente libre et est un des produits les plus utilisés dans l'automédication. Une personne non informée sur la dose journalière prend le risque d'être confrontée dans les premières 24 heures à des

cas de nausée, de vomissement, d'anorexie, de pâleur, de douleurs abdominales et de risque de cytolysse hépatique plus ou moins importante selon la quantité absorbée. Une quantité supérieure à 10 g par jour est extrêmement dangereuse (Lee, 2004).

Plusieurs facteurs de risque, isolés ou combinés, affectent la susceptibilité individuelle au Doliprane<sup>®</sup> et le risque d'hépatotoxicité. La présente étude se propose d'évaluer l'effet protecteur du pédoncule d'ananas au cours de l'intoxication du rat Wistar par le paracétamol.

### MATERIEL ET METHODES

#### Matériel animal

L'étude a été réalisée sur des rats Wistar albinos mâles de 160 g comme poids

© 2009 International Formulae Group. All rights reserved.

T. J. DOUGNON et al. / Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(4): 688-693, 2009

moyen. Les animaux (120) ont été répartis en plusieurs groupes de 30 rats chacun. Ils avaient libre accès à l'eau et à la nourriture. La température de l'animalerie était maintenue à 22 °C, une hygrométrie de 60% et une photopériode de 12 heures/24.

#### Ananas frais

L'*Ananas comosus*, variété «pain de sucre» provenait de la Ferme d'Application du Lycée Agricole Médji de Sékou, situé dans la Commune d'Allada, Département de l'Atlantique au Bénin.

#### Extrait d'*Ananas comosus*

L'ananas frais a été transformé pour obtenir l'extrait qui a été utilisé pour traiter les rats Wistar intoxiqués au Doliprane®.

Les paramètres biochimiques, Gamma-GT, Glutathion et Lactate Déshydrogénase ont été dosés selon le protocole indiqué dans les Kits.

#### Obtention de la dose toxique de Doliprane®

Les comprimés de Doliprane® à 20% du paracétamol ont été réduits en poudre. La DL<sub>50</sub> a été recherchée pour les rats intoxiqués au Doliprane®. En considérant 2500 mg de Doliprane® pour 1 kg de poids vif (PV) de rat, il a été constaté la mort de 5 rats sur 10 choisis pour l'expérience. La dose de Doliprane® a été alors réduite jusqu'à 2000 mg pour 1 kg de PV de rat pour l'induction de la toxicité hépatique avec le Doliprane®.

Quant aux doses de l'extrait de l'ananas, les quantités de cet extrait ont été corrélées à la quantité d'ananas frais utilisé pour corriger des lésions hépatiques de rat Wistar intoxiqué avec le paracétamol au cours de précédentes études.

#### Les groupes d'animaux

Lot 1 (30 rats): animaux témoins qui n'ont ni du Doliprane®, ni d'extrait de l'*Ananas comosus*.

Lot 2 (30 rats): les rats ont reçu par voie orale 2 g de Doliprane® par kg de poids vif et un traitement de 0,06 mL de l'extrait d'*Ananas comosus* par kg par jour pendant 42 jours

Lot 3 (30 rats): les rats ont reçu par voie orale 2 g de Doliprane® par kg de poids vif et un traitement de 0,12 mL de l'extrait d'*Ananas comosus* par kg par jour pendant 42

jours

Lot 4 (30 rats): les rats ont reçu par voie orale 2 g de Doliprane® par kg de poids vif par jour pendant 42 jours et n'ont pas reçu de traitement à base d'extrait d'*Ananas comosus*.

#### Obtention de l'extrait d'*Ananas comosus*

Le procédé d'extraction de l'extrait concentré de l'*Ananas comosus* comporte plusieurs étapes telles que: le broyage, l'extraction, la filtration la décantation, la centrifugation et la concentration.

#### Screening phytochimique de l'ananas

Les différents groupes chimiques de l'ananas ont été recherchés. Les flavonoïdes auxquels on attribue les effets biologiques de l'extrait d'*Ananas comosus* ont été recherchés et séparés par chromatographie sur couche mince, réalisée selon les méthodes de Park et al. (2001). Le système solvant utilisé a été l'éthanol à 95° et l'eau distillée. Les bandes séparées ont été observées à l'UV à 254 nm et 336 nm; la chromatographie sur papier a été réalisée sur papier Watman n°3 dans l'acide acétique 15% et la délimitation des différentes bandes de produits présents dans le chromatogramme sous lumière de Wood à 360-366 nm.

Dans le méthanol neutre, les composés flavoniques absorbent dans deux régions différentes du spectre ultra-violet, entre 300 et 385 nm et entre 250 et 280 nm.

#### Les dosages biochimiques

Les dosages biochimiques de Gamma-Glutamyl-Transférase et de la Lactate Déshydrogénase (LDH) ont été réalisés en utilisant des kits de commerce prêts à l'emploi (kits Biomérieux) et les lectures d'absorbance ont été réalisées avec un spectrophotomètre (Spectronic 601). Le glutathion hépatique a été dosé par spectrophotométrie selon la méthode de Park et al. (2001).

#### Méthodes statistiques utilisées

Après le traitement, les données ont été soumises à l'Analyse de Variance sous le Logiciel Statistica 6.0 (1998).



T. J. DOUGNON et al. / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(4): 688-693, 2009

## RESULTATS

### Concentration de Gamma-Glutamyl Transpeptidase chez les rats intoxiqués au Doliprane® et traités avec *Ananas comosus* : figure 1

La valeur la plus élevée ( $30 \pm 0,00$  U/L) obtenue au J0 a été obtenue avec les animaux du lot n°2 mais sans différence significative avec le taux obtenu chez les rats des autres lots ( $p > 0,05$ ). Toutefois, les taux de ce paramètre biochimique ont subi des variations en hausse à partir du 7<sup>ème</sup> jour ; la valeur la plus élevée ( $81,83 \pm 0,9$  U/L) étant obtenue au 42<sup>ème</sup> jour avec les rats du lot n°4 ( $p < 0,001$ ).

### Concentration de Glutathion chez les rats intoxiqués au Doliprane® et traités avec *Ananas comosus* : figure 2

Les niveaux les plus élevés de Glutathion ( $1,83 \pm 0,01$  et  $1,83 \pm 0,3$  nM/mg) ont été obtenus avec les rats des lots n°2 et n°4 sans différence significative avec les valeurs obtenues au niveau des autres lots ( $p > 0,05$ ). Une chute du taux de Glutathion a commencé dès le 7<sup>ème</sup> j pour atteindre le niveau le plus bas ( $0,39 \pm 0,7$  nM/mg) chez les rats du lot n°4 contrairement aux valeurs de ce paramètre biochimique chez les rats des autres lots ( $p < 0,001$ ).

### Concentration de Lactate Déshydrogénase (LDH) chez les rats intoxiqués au Doliprane® et traités avec *Ananas comosus* : figure 3

La valeur de LDH la plus élevée ( $310,73 \pm 1,31$ ) a été obtenue au J0 chez les rats des lots n°1 et n°3 avec des variations très hautement significatives quand on les compare aux résultats obtenus avec les rats des autres lots ( $p < 0,001$ ). Le taux de LDH a subi une augmentation dès le 7<sup>ème</sup> j pour atteindre contrairement aux valeurs des rats des autres lots, la valeur la plus élevée de  $480,30 \pm 0,95$  U/L au 42<sup>ème</sup> j ( $p < 0,001$ ).

## DISCUSSION

### Taux de Gamma- Glutamy-Transpeptidase

La Gamma- Glutamy-Transpeptidase est un marqueur du fonctionnement hépatique ; son taux chez les animaux qui n'ont pas été intoxiqués n'a pas varié de façon significative. La valeur de  $29,35 \pm 0,1$  UI/L trouvée au cours de la présente étude est moins élevée que celle proposée par (Kaneko,

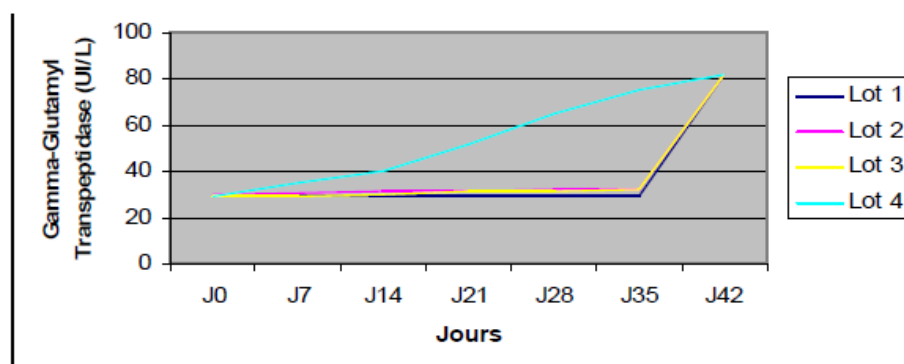
1989). Cet auteur avait rapporté une valeur  $32,35 \pm 0,4$  UI/L chez des rattes. Le sexe des animaux aurait influencé ce résultat. Par ailleurs, la valeur de  $81,83 \pm 0,91$  UI/L obtenue au cours de notre étude est largement supérieure au taux de  $70 \pm 0,08$  UI/L trouvé par Lahouel et al. (2004) chez des rats intoxiqués avec du paracétamol à raison de 200mg/kg de poids vif par jour. Les taux les plus élevés sont rencontrés chez les rats du lot n°4. Une augmentation de cette enzyme pourrait objectiver une cholestase mais aussi une éventuelle cytolyse en l'absence de toute cholestase (Farougou, 1992). Les altérations histologiques du foie constatées par Dougnon et al. (2006) au cours d'une étude antérieure confirment cette thèse. L'augmentation modérée de cette enzyme dont le taux n'a pas subi de grandes variations chez les rats des lots n°2 et n°3 pourrait s'expliquer par l'efficacité réparatrice de *Ananas comosus* dont l'extrait a été utilisé à la dose de 0,06 ml et 0,12 ml par kg de poids vif par jour pendant 42 jours.

### Taux de Glutathion

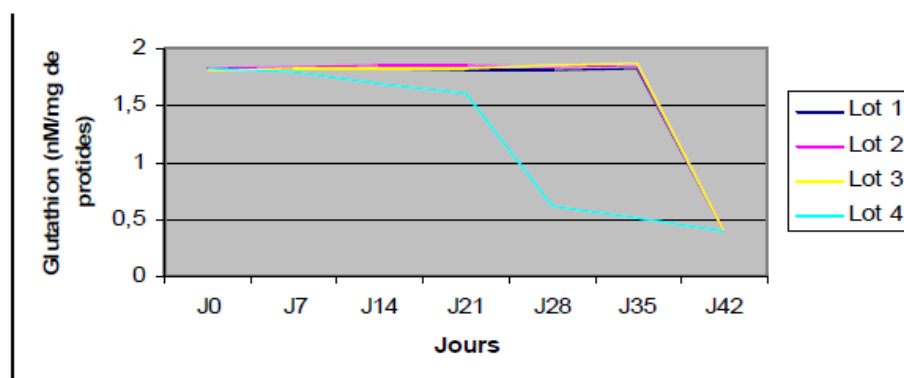
Le taux de glutathion hépatique a subi une diminution très hautement significative ( $0,39$  nM/mg de protide) chez les animaux intoxiqués au Doliprane® et qui n'ont pas été traités par *Ananas comosus* au J42. Une tendance similaire de diminution du taux de Glutathion a été observée par Lahouel et al. (2004). En effet, la chute de ce paramètre biochimique constatée par ces auteurs, a été plus sévère ( $0,30$  nM/mg de protide) chez des rats intoxiqués avec 200 mg de Paracétamol. Cette différence de taux de glutathion pourrait s'expliquer par le fait qu'en dehors de l'espèce, de la substance, de l'état physiologique de l'animal, de la dose administrée, l'impact nocif des xénobiotiques, varie aussi en fonction d'autres facteurs comme la durée et le mode d'exposition (Vialia, 1998).

La baisse de ce paramètre biochimique est liée à l'effet toxique du Paracétamol. En effet, c'est au cours du métabolisme de ce médicament reconnu comme xénobiotique que le système enzymatique cytochrome P450 intervient (Guengerich, 1986). C'est ainsi que le Paracétamol est métabolisé par le cytochrome P450 pour donner un métabolite réactif (N-acétyl-p-benzoquinone-imine)

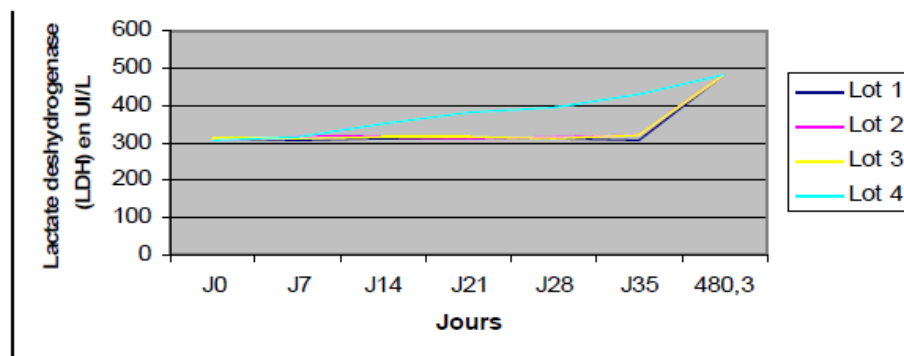
T. J. DOUGNON et al. / Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(4): 688-693, 2009



**Figure 1 :** Evolution des niveaux de Gamma-Glutamyl Transpeptidase chez les rats Wistar. Lot n°1 : Témoin, sans Doliprane® ni extrait d'ananas. Lot n°2 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de poids vif (PV) par jour puis 0,06 ml par kg de PV pendant 42 j. Lot n°3 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de PV par jour puis 0,12 ml par kg de PV pendant 42j. Lot n°4 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de PV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement avec l'extrait d'ananas.



**Figure 2 :** Evolution des niveaux de Glutathion (nM/mg de protéides) chez les rats Wistar. Lot n°1 : Témoin, sans Doliprane® ni extrait d'ananas. Lot n°2 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de poids vif (PV) par jour puis 0,06 ml par kg de PV pendant 42 j. Lot n°3 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de PV par jour puis 0,12 ml par kg de PV pendant 42j. Lot n°4 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de PV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement avec l'extrait d'ananas.



**Figure 3 :** Evolution des niveaux de Lactate Deshydrogenase chez les rats Wistar. Lot n°1 : Témoin, sans Doliprane® ni extrait d'ananas. Lot n°2 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de poids vif (PV) par jour puis 0,06 ml par kg de PV pendant 42 j. Lot n°3 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de PV par jour puis 0,12 ml par kg de PV pendant 42j. Lot n°4 : Doliprane® à raison de 2 g/kg de PV par jour pendant 42 jours sans aucun traitement à l'extrait d'ananas.

T. J. DOUGNON et al. / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(4): 688-693, 2009

conduisant à la nécrose hépatique par peroxydation des lipides membranaires. Selon Lahouel et al. (2004), cette toxicité est observée au-delà des doses supérieures à 200 mg/kg par jour. Par ailleurs, la cellule dispose pour sa protection, du glutathion. C'est le principal anti-oxydant propre de la cellule en se liant par son pôle SH aux métabolites toxiques. L'exemple le plus démonstratif étant l'intoxication au Paracétamol dont la toxicité hépatique n'apparaît qu'avec la déplétion du foie en glutathion (Lahouel et al., 2004). On admet aussi aujourd'hui que la formation de métabolites réactifs consomme du glutathion quand elle est importante et que cela aboutit à une déplétion du glutathion, ce qui a pour principale conséquence la peroxydation lipidique (Settaf et al., 2000) et une oxydation des groupes thiols des protéines (Bridger et al., 2000 ; Mofredj et al., 1999).

Il a été constaté par ailleurs que les taux de glutathion ne sont pas statistiquement différents chez les rats des lots n°2, n°3 et n°1. Ceci pourrait s'expliquer par le rôle anti-oxydant d'*Ananas comosus*. En effet, ce fruit contient, grâce aux résultats du screening pharmacologique réalisé au cours de cette étude, des flavonoïdes et de la vitamine C. Ils ont la capacité de capturer et de désactiver les radicaux libres. Selon Siess et al. (2000), ils agissent par empêchement de la fixation des radicaux libres sur l'ADN, par l'activation du système de détoxification et par protection des parois capillaires (Kawabata et al., 1990).

#### Taux de Lactate-Déshydrogénase (LDH)

Le taux de la LDH a subi de grandes variations dès le J0. La concentration la plus élevée (480,30±0,95), a été obtenue avec les animaux du lot n°4 avec une différence très hautement significative par rapport au taux de LDH des rats des lots n°1, n°2 et n°3 au J42. La valeur de 310,73±1,31 de LDH chez les rats non intoxiqués au cours de la présente étude diffère de la valeur de la LDH dosée par Boukerche et al. (2007). Le taux le plus élevé de la LDH chez les rats intoxiqués et qui n'ont reçu aucun traitement à base d'*Ananas comosus* serait lié à la modification des protéines dans le foie des rats intoxiqués par le paracétamol (Bermeyer, 1980). L'accumulation de pyruvate au niveau du foie a été proposée pour expliquer l'augmentation de la LDH qui catalyse la réduction de ce

dernier en Lactate (Boukerche et al., 2007). Dans ce cas, on pourrait suggérer que la forte activité enzymatique de la Glutamate-Oxaloacétique transaminase (GOT), de la Glutamate Pyruvate transaminase (GPT) et de la phosphatase alcaline et publiée par Dougnon et al. (2008), est liée à l'effet hépatotoxique du paracétamol chez les rats du lot n° 4; le foie étant le principal organe de détoxification des xénobiotiques. Il contient la plupart des enzymes pour réussir cette mission. L'élévation du taux de LDH au niveau des rats du lot n° 4 suppose la forte hémolyse au niveau du foie de ces rats. Même si les taux de LDH obtenus avec les rats des lots n°2 et n°3 n'ont pas dépassé celui obtenu chez les animaux du lot n° 1, on observe une baisse du taux de ce paramètre biochimique au niveau de ces rats Wistar.

#### Conclusion

De l'analyse des résultats de la présente étude, il ressort que:

Le Doliprane® utilisé à raison de 2g/kg de poids vif par jour pendant 42 jours a induit une toxicité hépatique chez les rats albinos Wistar par une variation des taux de Gamma-Glutamyl Transpeptidase, de la Lactate Deshydrogenase et du Glutathion.

Les taux des paramètres biochimiques (Gamma-Glutamyl Transpeptidase, Lactate Deshydrogenase et Glutathion) ont été corrigés par l'extrait du pédoncule d'ananas utilisé à raison de 0,06 ml/kg ou de 0,12 ml/kg de poids vif (pV) par jour pendant 42 jours.

Les résultats de notre étude révèlent une fois encore le rôle hépato-protecteur des flavonoïdes et autres substances anti-oxydantes que renferme l'*Ananas comosus* ce qui appelle à une valorisation de ce produit alimentaire.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bermeyer H. 1980. Dietary nitrate in man. *Clin. Chem. Acta.*, 105: 147-52.
- Boukerche S, Aouacheri W, Saka S. 2007. Les effets toxiques des nitrates: étude biologique chez l'homme et chez l'animal. *Ann. Biol. Clin.*, 65(4): 38.
- Bridger S, Henderson K, Glucksman E, Ellis A, Henry J. 2000. Death from low dose Paracetamol poisoning. *Eur. J. Pharmacol.*, 316: 1724-5.
- Farougou S. 1992. Contribution à



T. J. DOUGNON et al. / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(4): 688-693, 2009

- l'établissement des valeurs usuelles sériques chez l'aulacode mâle adulte *thryonomys swinderianus*. Thèse de doctorat de médecine vétérinaire. EISMV. Dakar, 102p.
- Dougnon TJ, Kpodékon TM, Lalèyè A, Adjagba M, Darboux BR. 2006. Effet de *Ananas comosus*, (variété "Pain de sucre") sur les lésions hépatiques dues à l'intoxication au paracétamol chez le rat Wistar. *Journal de la Société de Biologie Clinique*, 10: 47-50.
- Dougnon TJ, Kpodékon TM, Adjagba M. 2008. Biochemical effectiveness in liver detoxication of fresh pineapple (*Ananas comosus*) with the Wistar rats, previously intoxicated by Doliprane®. *Journal of Cell and Animal Biology*, 2(2): 31-35.
- Gruchalla RS. 2000. Clinical assessment of drug-induced disease. *Lancet*, 356: 1505-11.
- Guengerich P. 1986. *Mammalian Cytochromes P450*. CRC press: Florida.
- Kaneko JJ. 1989. *Chemical Biochemistry of Domestic Animals* (4<sup>ème</sup> édn). Academic press Inc.: California; 932.
- Kawabata TT, Chapman MY, Kim DH, Stevens WD, Holsapple MP. 1990. Mechanisms of *in vitro* immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroxycyclophosphamide. *Biochem. Pharmacol.*, 40(5): 9-27.
- Lahouel M, Boulkour S, Segueni N, Fillastre JP. 2004. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, cyclophosphamide et du Paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *J. Pat. Bio.*, 10: 314-32.
- Lee WM. 2004. Acetaminophen and the US acute liver failure study group: Lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*, 40: 6-9.
- Mofredj A, Cadranel J, Darchy B, Barbare J, Cazier A. 1999. Toxicité hépatique du Paracétamol à dose thérapeutique chez le sujet éthylique chronique. *Ann. Med. Int.*, 150: 507-511.
- Parks JH, Lee HH, Ju SK, Lee MK, Kim KL. 2001. Protein Exp. *Purif.*, 22(1): 60-69.
- Settaf M, Zahidy A, Elimadi R, Sapena I, Abd A. 2000. S-15176 reduces the hepatic injury in rats subjected to experimental ischemia and reperfusion. *Eur. J. Pharmacol.*, 406: 281-292.
- Siess M. 2000. Le Bon A, Canivenc-lavier M, Susch M. Mechanisms involved in the chemoprevention of flavonoids. *Biofactors*, 12(4): 193-199.
- Vialia A. 1998. *Eléments de Toxicologie*. Editions Médicales Internationales: Paris; 24.

Available online at <http://www.ajol.info>

Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(3): 532-537, 2009

---

 International Journal  
 of Biological and  
 Chemical Sciences
 

---

ISSN 1991-8631

Original Paper

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Protective effects of pineapple (*Ananas comosus*) on liver and kidney of Wistar rats intoxicated with Doliprane®

T. J. DOUGNON<sup>1\*</sup>, T. M. KPODEKON<sup>1</sup> and A. LALEYE<sup>2</sup><sup>1</sup> *Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée (LARBA), University of Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou, Bénin.*<sup>2</sup> *Unité de Biologie Humaine, Faculté des Sciences de la Santé, UAC, Cotonou, Bénin.*\* *Corresponding author, Email: dougnonj@yahoo.fr*


---

### ABSTRACT

Effect of pineapple (*Ananas comosus*) on liver and kidney detoxication was studied in Wistar rats. Rats were treated with paracetamol at the dose of 2 g/kg of body weight per day for 6 weeks and then by *Ananas comosus*' extract (0.06 - 0.12 ml/kg body weight). Administration of paracetamol induced hepatomegaly with a centrilobular necrosis and an increase in kidney weight. Treatment with *Ananas comosus*' extract induced a reduction of hepatic lesions but no effect on kidney. These data suggest that *Ananas comosus* extract treatment reduces hepatotoxicity of paracetamol in Wistar rats.

© 2009 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** *Ananas comosus*, Wistar rats, paracetamol, liver, kidney, detoxication.

---

### INTRODUCTION

The liver plays an important role in metabolism, degradation of most substances after oxidation, reduction, combination or methylation (McGeown, 2003). The etiology of fulminant hepatitis varies in different countries and at different times. A viral etiology (in particular hepatitis B virus) is now less frequent and paracetamol-induced fulminant hepatic failure is more common in the world (Ichai and Samuel, 2008). The occurrence of hepatotoxicity has been closely associated with the formation of chemically reactive metabolites (Antoine et al., 2008).

The annual incidence of these diseases is worrying. Their frequency is far greater than that assessed on pharmacovigilance data basis (Lenoir et al., 2003). At present, the number of effective and safe drugs for treatment of HBV and HCV is still limited (Liu, 2009). Alterations of the liver have become a real problem, especially in several regions of Africa for an endogenous therapy (Sofowora, 1996).

The aim of this study is to evaluate *Ananas comosus* protective effects on the liver and kidneys in Wistar rats, intoxicated with paracetamol.

### MATERIALS AND METHODS

#### Animals

The study was conducted on 120 three-months-old Wistar male rats of average weight of 130 g obtained from the animal house of Human Biology Unit, Medicine School, University of Abomey-Calavi, Benin. Animals were divided into four groups of 30 rats each. They were housed in standard wire mesh cages with stainless steel tray floor, in a room with temperature maintained at 22 °C, relative humidity averaging 90% and a photoperiod of 12 hours per day. Diet and drinking water were provided *ad libitum*.

#### *Ananas comosus*

*Ananas comosus*, used to obtain the extract was cropped from the Atlantic Department located in the South of Benin. Its specimen was identified, certificated and

© 2009 International Formulae Group. All rights reserved.



T. J. DOUGNON et al. / Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(3): 532-537, 2009

conserved in the National Herbarium of Benin (N° AA 6336/HNB).

#### Preparation of paracetamol (Doliprane®) for induction of liver and kidney toxicity and *Ananas comosus*' extract

The fresh pineapple was transformed to obtain the extract using the technique described by Park et al. (2001).

During the experiments, the median lethal dose (LD<sub>50</sub>) of paracetamol for Wistar rats was determined (4 g/kg body weight) using the method described by Lorke (1983). 2 g/kg body weight/day of Doliprane® has been chosen as induction dose of liver toxicity in the rats. This dose was dissolved in 2 ml water and administered individually *per os* to the Wistar rats for 6 weeks. The Doliprane® used for liver toxicity and kidney contains 20% of paracetamol.

#### The animal groups

Lot n° 1 (30 rats): animals receiving neither Doliprane®, nor extract of *Ananas comosus*.

Lot n° 2 (30 rats): rats received oral 2 g Doliprane®/kg body weight and treatment of 0.06 ml of extract of *Ananas comosus* daily for 42 days.

Lot n° 3 (30 rats): rats received oral 2 g Doliprane®/kg body weight and treatment of 0.12 ml of extract of *Ananas comosus* daily for 42 days.

Lot n° 4 (30 rats): rats received oral 2 g Doliprane®/kg body weight per day for 42 days and no treatment with *Ananas comosus* extract.

The animals were observed daily for their general behaviour and survival. Dead rats were immediately removed from each group and autopsied. On the 42<sup>nd</sup> day, the survivors were sacrificed under chloroform anaesthesia. Abdominal cavity of each animal was surgically incised for a thorough examination of viscera. Kidney and liver were removed and fixed in Bouin's fixative, processed, embedded in paraffin, sectioned to a thickness of 5 µm, and stained with haematoxylin and eosin (HE) or Periodic acid Schiff (PAS) for microscopic examination.

## RESULTS

### Macroscopic and microscopic lesions in liver and kidney of the intoxicated rats

No clinical sign of intoxication or mortality was observed in the animals. The liver of the intoxicated rats without treatment with *Ananas comosus* had a yellowish colour, compared with normal liver dark red colour characteristic. The consistency of liver in intoxicated rats was friable.

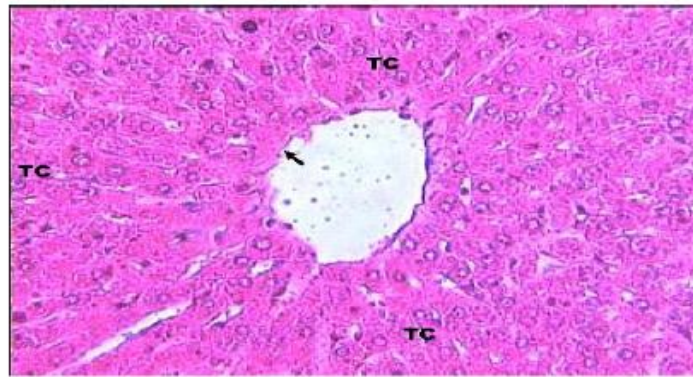
The liver of rats intoxicated with Doliprane® and treated with the extract of *Ananas comosus* showed no difference in morphological terms compared to that of rats of group n° 1. About kidney, no particular morphological characteristic was observed in rats of the different groups, but the kidney was more friable in group n° 4. In photonic microscopy, the liver structure in rats showed polyhedral cells (hepatocytes) with a nucleus round and a nucleolus clearly visible. The hepatocytes formed spans well arranged around the centrobular vein.

The hepatocytes store significant quantities of pink coloured glycogen. The cytoplasm of hepatocytes showed a basophile structure (Figures 1a and 1b). The effect of histological Doliprane® results in changes characterized by the appearance of cellular necrosis and centrolobular congestion with periportal congestion (around the space vessels surrounding the lobule liver door), necrotic outbreaks, cytoplasmic vacuoles, and the dislocation of liver cells with loss of cellular junctions.

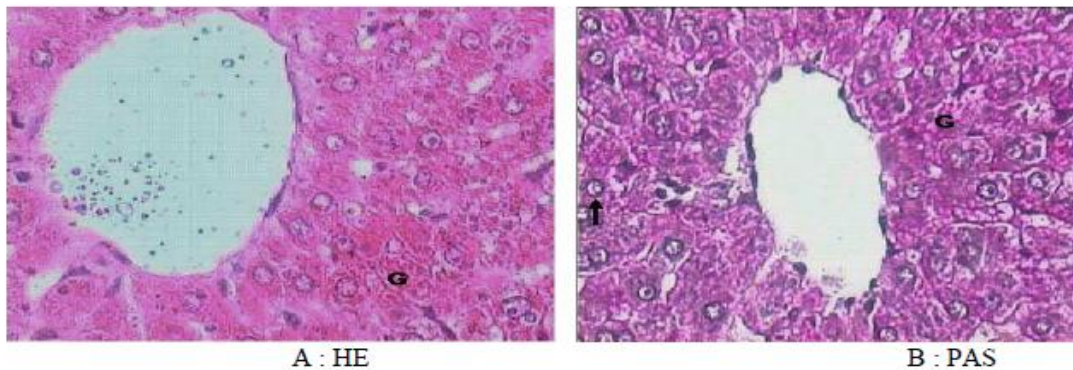
Thus, hepatocytes were bigger and the arrangement of cell spans around the centrolobular vein was more visible (Figure 2). All these disruptions were improved in the livers of Wistar rats of group n° 2 and n° 3 (Figures 3 and 4). As seen in the kidneys' structures of animals of group n° 1, the renal glomerulus with capillary flocculus, the glomerular board, the vascular pole and the excretory channels were normal. These structures were modified in the kidneys of rats of group n° 2, n° 3 and n° 4. Despite the use of the extract of the *Ananas comosus*, the destruction of kidneys' structures was not reversible in rats of groups n° 2 and n° 3 (Figures 5, 6 and 7).

## DISCUSSION

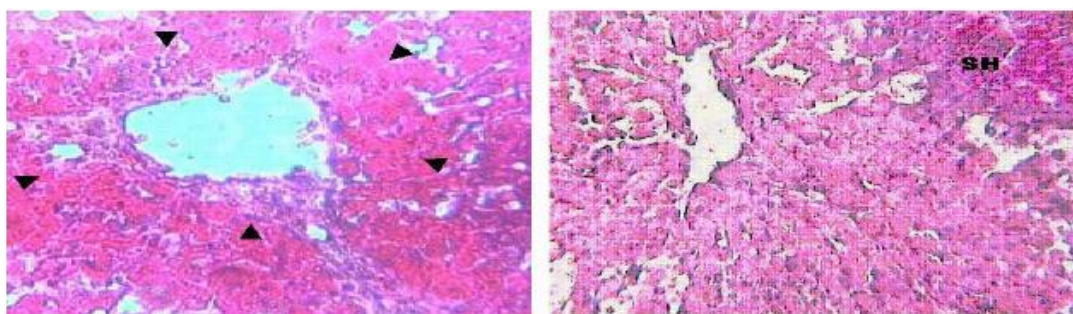
The liver is the principal organ of detoxication because it contains most of



**Figure 1a:** Normal liver lobule (HE X 20): centrolobular vein (Arrow) around which the liver cells are organized in cellular spans (TC) arranged such as radial.



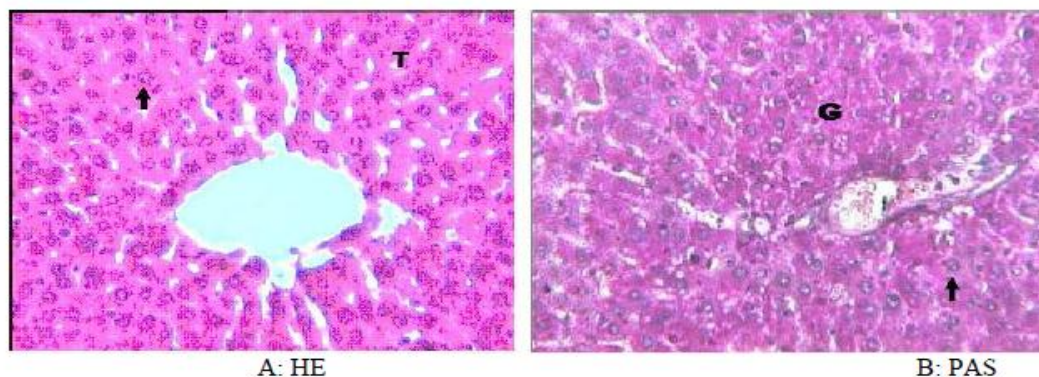
**Figure 1b:** Normal liver (magnification X 40): In the cytoplasm, refringent clusters with HE (A) and coloured red to purple with PAS (B) correspond to the glycogen (G). The kernels are clearly visible (Arrow) with a well designed nucleolus.



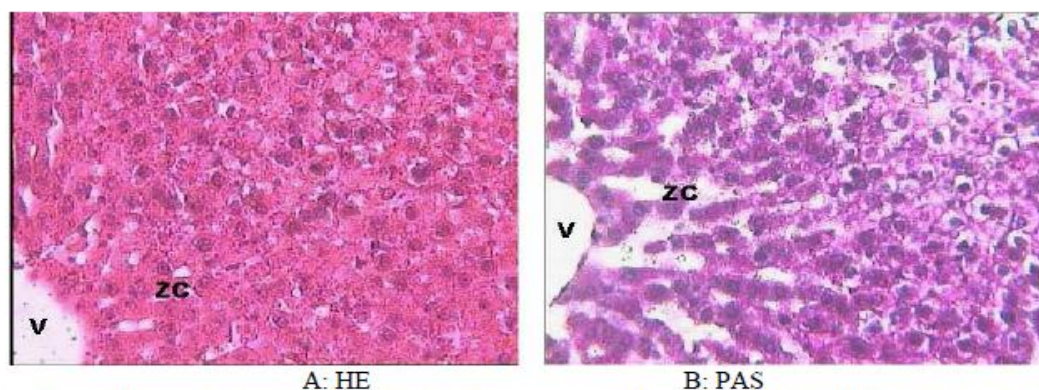
**Figure 2:** Animals' liver intoxicated with paracetamol but untreated (magnification X 20): necrosis of hepatocyte predominant in the centrolobular region marked by a homogenization of the structure of the cytoplasm that becomes very eosinophilic, disappearance of the nucleus and limits cell (Arrows). At distance of the centrolobular vein, the structure of hepatocytes still relatively preserved (SH).



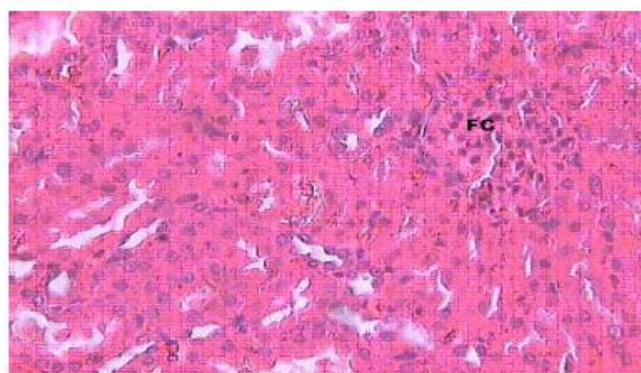
T. J. DOUGNON et al. / Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(3): 532-537, 2009



**Figure 3:** Liver of intoxicated animals with paracetamol and treated with 0.12 ml of *Ananas comosus*' extract (magnification X 20). Liver architecture is almost normal; hepatocytes organized spans (T) show cytoplasm containing glycogen (G) and a visible nucleus (Arrow).



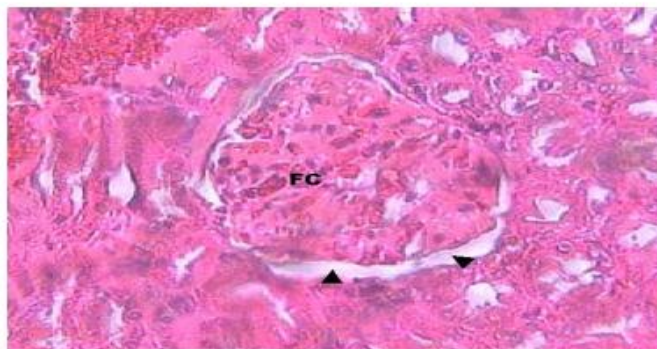
**Figure 4:** Liver of intoxicated animals with paracetamol and treated with 0.06 ml of *Ananas comosus*' extract (magnification X 20). There is a reparation beginning in the centrolobular region (ZC). The hepatocytes remain small, but their organization is already visible (V = centrolobular vein).



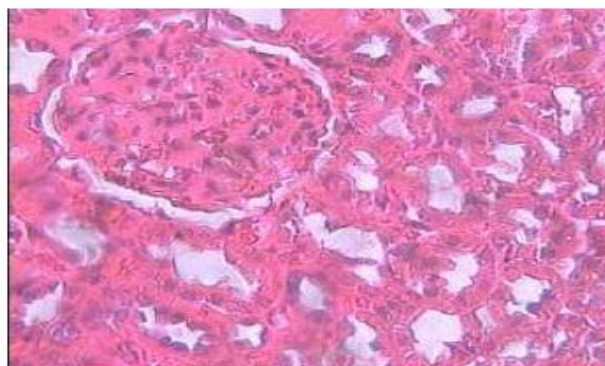
**Figure 5:** Renal cortex from rat intoxicated with paracetamol (HE X 20). Thickening of the interstitium, which compresses the flocculus capillary with disappearance of the glomerular room (FC).



T. J. DOUGNON et al. / Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(3): 532-537, 2009



**Figure 6:** Renal cortex of rat intoxicated with paracetamol and treated with 0.06 ml *Ananas comosus*' extract (HE X 20): thickening of the interstitium with compression of flocculus capillary (FC) and closed glomerular room (Arrows).



**Figure 7:** Renal cortex of rat intoxicated with paracetamol and treated with 0.12 ml of *Ananas comosus*' extract (HE X 20): identical situation as figure 6.

metabolic enzymes, for example concentrations of glutathione and the cytochrome P-450 are very increased (Boukerche et al., 2007). That has been confirmed by high levels of transaminases and alkaline phosphatases during a previous liver poisoning rats by Doliprane® (Dougnon et al., 2007). The disruption of the liver enzyme system was already indirectly underscored by the increase in liver weight of rats treated with nitrate and nitrite (Batina, 1990). A lesion in the hepatocytes induces a low level of glutathione observed in the rats of group 4 what is corrected with *Ananas comosus* in the groups 2 and 3 in this study (data not related in the present document). In addition, the kidney plays a key role in the excretion of waste metabolism and in maintaining fluid

and electrolyte balance of the body (Mc Geown, 2003).

The increase in kidney vascular body weight was more obvious than the liver. This increase in the weight of kidneys may be explained by tissue damage, as demonstrated by histological studies. Such results have been obtained by Til (1995) in rats intoxicated with grain contaminated with nitrites. Doliprane® is an analgesic which is able to induce nephropathy. This is usually accompanied by a largely irreversible kidney failure when it is used at a high dose for a long time (Cullen, 2005). The data obtained in this study showed the failure of *Ananas comosus* to reduce kidneys lesions due to paracetamol's toxicity in albinos Wistar rats.

T. J. DOUGNON et al. / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(3): 532-537, 2009

### Conclusion

In the light of the foregoing, it can be concluded that:

- Paracetamol used for liver and kidney toxicity study induced alterations in the liver and kidney of Wistar rats.
- Liver damage caused by Doliprane® was corrected in animals treated with the extract of *Ananas comosus*.
- The extract of *Ananas comosus* was not effective for the recovery of kidney impairment associated with Doliprane® intoxication in these animals.

### REFERENCES

- Antoine DJ, Williams DP, Park BK. 2008. Understanding the role of reactive metabolites in drug-induced hepatotoxicity: state of the science. *Expert Opin Drug Metab. Toxicol.*, 4(11): 1415-1427.
- Batina P. 1990. *In vitro* kinetics of the oxidative reactivity of nitrate and nitrite in the rat erythrocytes. *Food Addit Contam.*, 1(4): 145-149.
- Boukerche S, Aouacheri W, Saka S. 2007. Les effets toxiques des nitrates: étude biologique chez l'homme et chez l'animal. *Ann. Biol Clin.*, 65(4): 385-391.
- Cullen JM. 2005. Mechanistic classification of kidney injury. *Toxicol Pathol.*, 33: 6-8.
- Dougnon TJ, Kpodékon TM, Adjagba M. 2007. Biochemical effectiveness in liver detoxication of fresh pineapple (*Ananas comosus*) with the Wistar rats, previously intoxicated by Doliprane®. *Journal of Cell and Animal Biology*, 2(2): 31-35.
- Ichai P, Samuel D. 2008. Etiology and prognosis of fulminant hepatitis in adults. *Liver Transpl.*, 14(2): 67-79.
- Lenoir C, Lemoine A, Hillon P. 2003. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology*, 36: 451-455.
- Liu GT. 2009. Bicycler: a novel drug for treating chronic viral hepatitis B and C. *Med. chem.*, 5(1): 29-43.
- Lorke D. 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of Toxicology*, 54(2): 275-287.
- McGeown JG. 2003. *Physiologie : l'Essentiel* (7<sup>ème</sup> éd.). Maloine: Paris; 226-229.
- Parks JH, Lee HH, Ju SK, Lee MK, Kim KL. 2001. Expanded-bed chromatography in primary protein purification. *J. Chromatogr.*, 22(1): 60-69.
- Sofowora A. 1996. *Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d'Afrique* (1<sup>ère</sup> éd.). Kharthala: Paris ; 20.
- Til HP. 1995. Short-term oral toxicity in rats with nitrite added to a cereal basal diet. *Interim Repp TNO Neth.*, 85(2): 288-294.

*15ème colloque sur la Pharmacopée et la Médecine  
Traditionnelles Africaines - 23 - 01 - 04 Décembre 2008, Libreville.*

**Efficacité de détoxification hépatique de l'extrait d'*Ananas  
Comosus* (variété « Pain de sucre ») chez le rat wistar**

*Jacques DOUGNON, Marc KPODEKON , Joachim D. GBENOU,  
Anatole LALEYE, Raphaël DARBOUX, Mansourou MOUDACHIROU.  
Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, EPAC/UAC, 01 BP 2009  
Cotonou, Bénin.*

*Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, FSS-  
FAST/UAC, 01 BP : 188 Cotonou, ISBA Champ de Foire, Cotonou, Bénin.  
Laboratoire d'Expérimentation Animale, Unité de Biologie Humaine,  
FSS/UAC, 01 BP : 188 Cotonou, Bénin.*

L'efficacité de la détoxification hépatique de l'extrait de la tige centrale de *Ananas comosus* (variété pain de sucre) a été évaluée sur des rats Wistar préalablement intoxiqués au Doliprane® (contenant 20% de paracétamol) à la dose de 2g/kg de poids corporel. Cet extrait de la tige centrale, contenant de la bromélaïne, administré par gavage aux rats à 12 mg/kg, un effet réparateur considérable sur les lésions hépatiques des rats traités. De même, des modifications significatives ont été observées quant aux valeurs des paramètres biochimiques.

**Mots clés :** Extrait de *Ananas comosus*, hépatotoxicité, paramètres biologiques, rats Wistar

*Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur*