



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITE ABBES LEGHROUR - KHENCHELA**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention diplôme de**

**MASTER**

**FILERIE : Sciences Biologiques**

**Option : Biochimie Appliquée**

**Thème**

***Etude des effets des cigarettes sur quelques paramètres biochimiques et hématologique***

**Présenté par**

**BABOU HANANE**

**HITTA HOURIA**

**Soutenu le : 30.05.2016**

**Devant le jury**

**Président : Derouiche F (M.C.B)**

**Univ. Abbès Laghrour Khenchela**

**Encadreur : Djemil R (M.A.A)**

**Univ. Abbès Laghrour Khenchela**

**Examineur : Rais L (M.A.A)**

**Univ. Abbès Laghrour Khenchela**

**Promotion : mai 2016**



## دعاء:

يا رب إذا أعطيتني مالا لا تأخذ سعادتني ..و إذا أعطيتني قوة لا  
تأخذ عقلي ..و إذا أعطيتني نجاحا لا تأخذ تواضعي ..وإذا

أعطيتني

تواضعا لا تأخذ اعترازي بكرامتي

يا رب لا تدعني أصاب بالغرور إذا نجحت ..ولا أصاب باليأس إذا  
فشلت بل ذارني دائما بأن الفشل هو التجارب التي تسبق النجاح  
يا رب علمني أن التسامح هو أبر مراتب القوة .. وأن حب الانتقام

هو

أول مظاهر الضعف

يا رب إذا جردتني من المال أترك لي الأمل ..وإذا جردتني من

النجاح

أترك لي قوة العناد حتى أتغلب على الفشل ..وإذا جردتني من

نعمة

الصحة أترك لي نعمة الايمان

يا رب إذا أسأت إلى الناس أعطني شجاعة الاعتذار ..وإذا أساء

الناس

إلي أعطني شجاعة العفو والغفران

يا رب علمني أيف أحب الناس أما أحب نفسي .. وعلمني أن

أحاسب

نفسي أما أحاسب الناس

يا رب ساعدني على أن أقول الحق في وجه الأقوياء .. وساعدني

على

ألا أقول الباطل لأسب تصفيق الضعفاء

..اللهم آمين..



# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail, à tous ceux qui ont une place particulière dans mon cœur :*

*A mon très cher père*

*A ma très chère mère*

*Ames chers frères: Mohamed, Samir, Saïd,  
Adel, Kamal*

*Adorable sœur Alima, Souhila, Hamida.*

*A mon collaborateur de mémoire Hanane.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude à le star de ma vie  
B. Ramzi pour son soutien moral et sa sollicitude*

*Chaleureux.*

*A toute ma famille : Mes oncles Madani, mes tantes Hakima  
et son adorable fille Alla, Ritaj, Abd Raoufa, Mohamed dia  
adine, Rinad, Amin, Faris, Loudjain.*

*A mes amies : Abla, Hanan G, Djihad, Sazloka sagira*

*A tout la famille Hitta petits et grands.*

*A tous mes amis sans exceptionnel et tous mes  
collègues.*



## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Les plantes de tabac .....	05
<b>Figure 02 :</b> Structure de nicotine .....	07
<b>Figure 03 :</b> Structure de benzo pyrène .....	08
<b>Figure 04:</b> Structure de nitrosamine .....	09
<b>Figure 05 :</b> Courbes mettant en évidence la corrélation entre le tabagisme et l'incidence du cancer de poumon.....	10
<b>Figure 06 :</b> la ferme de cigarette.....	12
<b>Figure07:</b> les différentes composantes de la fumée de cigarette .....	19
<b>Figure 08 :</b> Dissociation de la nicotine en fonction du pH .....	21
<b>Figure 09 :</b> Absorption de nicotine à partir de gommes à 2 et 4 mg .....	23
<b>Figure 10 :</b> nicotémie en fonction du temps selon le mode d'administration .....	24
<b>Figure 11 :</b> Principales voies métaboliques de la nicotine .....	26
<b>Figure 12:</b> Métabolisme de la nicotine .....	26
<b>Figure 13 :</b> Symptômes de l'intoxication au CO en fonction de l'exposition et de la concentration en HBCO .....	30
<b>Figure 14:</b> Symptômes et effets sur la santé du CO : intoxications aiguë et chronique.....	32
<b>Figure 15 :</b> Structure moléculaire du benzo(a)pyrène .....	33
<b>Figure 16 :</b> Métabolisme du B(a)P .....	36
<b>Figure 17 :</b> Structure chimique des 4 stéréo-isomères d'adduits BPDE-ADN.....	39
<b>Figure 18 :</b> Mode d'action du B(a)P via le récepteur Aryl Hydrocarbon.....	41

<b>Figure 19</b> : Mécanisme d'action du B(a)P (Luch, 2005) .....	42
<b>Figure 20</b> : de taux des globules rouge chez les patients significatif .....	80
<b>Figure 21</b> : Variation de concentration de l'hémoglobine chez les patients .....	81
<b>Figure 22</b> : de taux des globules blanc chez les patients .....	82
<b>Figure 23</b> : variation de taux de glycémie chez les patients .....	83
<b>Figure 24</b> : variation de taux de l'albumine chez les patients .....	84
<b>Figure 25</b> : variation de taux des triglycérides chez les patients .....	85
<b>Figure 26</b> : variation de taux du cholestérol chez les patients .....	86
<b>Figure 27</b> : variation du taux de créatinine chez les patients .....	87
<b>Figure 28</b> : variation de taux de l'urée plasmique chez les patients .....	88
<b>Figure 29</b> : variation du taux plasmique des protéines totales chez les patients .....	89

## Liste Tableaux

<b>Tableau I</b> : Irritants majeurs contenus dans la fumée de cigarette.....	<b>14</b>
<b>Tableau II</b> : propriétés physiques et chimiques de la nicotine.....	<b>22</b>
<b>Tableau III</b> : Dosage du L'ALAT.....	<b>55</b>
<b>Tableau IV</b> : Dosage du L'ASAT.....	<b>57</b>
<b>Tableau V</b> : Dosage de L'albumine.....	<b>59</b>
<b>Tableau VI</b> : Dosage de la PT.....	<b>61</b>
<b>Tableau VII</b> : Dosage de l'urée.....	<b>64</b>
<b>Tableau VIII</b> : Dosage de la créatinine.....	<b>66</b>
<b>Tableau IX</b> : Dosage du glucose.....	<b>69</b>
<b>Tableau X</b> : Dosage des triglycérides.....	<b>71</b>
<b>Tableau XI</b> : Dosage du cholestérol.....	<b>73</b>

## Liste des photographies

<b>Photographie 01</b> : Etablissement hospitalier 120 lits.....	<b>50</b>
<b>Photographie 02</b> : Recueil et transport des prélèvements sanguins.....	<b>50</b>
<b>Photographie 03</b> : Centrifugation et dosage des échantillons.....	<b>51</b>
<b>Photographie 04</b> : Spectrophotomètre.....	<b>52</b>
<b>Photographie 05</b> : Dosage de l'ALAT.....	<b>55</b>
<b>Photographie 06</b> : Lecture de l'absorbance de l'échantillon par spectrophotomètre.....	<b>56</b>
<b>Photographie 07</b> : Automate d'hématologie Beckman.....	<b>79</b>

## Liste des abréviations

**AhR:** Aryl hydrocarbon receptor  
**AKR:** Aldo-céto réductases  
**ALAT:** Alanine aminotransferase  
**ALB:** Albumine  
**ARNT:** Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator  
**ASAT :** Aspartate aminotransferase  
**B(a)P :** Benzo(a)pyrène  
**BPDE :** Benzo(a)pyrène diol époxyde  
**CNTS :** Centre national de transfusion sanguine  
**Créat :** Créatinine  
**dl :** Décilitre  
**EDTA :** Acide éthylène diamine tetraacétique  
**fl :** Femto litre  
**FNS :** Formule- Numération sanguine  
**GB :** Globules blancs  
**Glu :** Glucose  
**GR :** Globules rouges  
**HAP :** Hydrocarbure polycyclique aromatique  
**Hb :** Hémoglobine  
**HEFI:** Human enhancer offilamentation 1  
**Hte :** Hématocrite  
**LBMA :** Laboratoire de biologie Moléculaire appliquée  
**NEK2:** Serine/threonine-protein kinase  
**NER :** Nucleotide excision repair  
**OMS :** organisation mondiale de la santé  
**pg :** Picogramme  
**Plat :** Plaquette  
**PT :** Protéine totale  
**TP53 :** Tumor protein 53  
**UI :** Unite international  
**Urée :** Urémie





## **Table des matières**

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures .....	II
Liste des tableaux .....	III
Liste des photographies .....	IV
Sommaire .....	V

## **Revue bibliographique**

Introduction .....	01
--------------------	----

### **Chapitre 1 : Généralités sur les tabac**

I. Le tabac.....	02
I.1.Historique .....	02
I.2.Définition .....	04
I.3. Description.....	05
I.4. Les différents types de tabac en feuille .....	05
I.5.La fabrication du tabac .....	06
I.6. Composition du tabac.....	06
I.7. Les dangers du tabac .....	09
I.8. Les principaux risques liés au tabac .....	10
I.8.1.Le tabagisme actif .....	10
I.8.2.Le tabagisme passif.....	11

### **Chapitre 2 : Généralité sur la cigarette**

II. la cigarette.....	12
II.1.Définition de la cigarette.....	12
II.2.Substances contenues dans la fumée .....	13
II.3. Les principaux constituants d'une cigarette.....	15
II. 3.1. La nicotine.....	15

II.3.2. Le goudron.....	17
II.3. 3.Le Monoxyde de carbone (CO) .....	18
II.3.4. Substances nocives produites lors de la combustion du tabac .....	18
II.4.Pharmacocinétiques des principaux constituants d'une cigarette.....	20
II.4.1.La nicotine.....	20
II.4.1.1.Historique.....	20
II.4.1.2.Définition.....	20
II.4.1.3.Propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques .....	21
II.4.1.4.Propriétés pharmacocinétiques.....	22
II.4.2. Monoxyde carbone .....	28
II.4.2.1. Présentation, Nature .....	28
II.4.2.1. Formation.....	28
II.4.2.2. Effets sur la sante humaine .....	28
II.4.2.3.Les symptômes sont différents selon le type d'intoxication.....	31
II.4.2.3.1. Intoxication aiguë .....	31
II.4.2.3.2 .Intoxication chronique.....	32
II.4.3. Le benzo(a)pyrène.....	33
II.4.3.1.Définition.....	33
II.4.3.2 .Sources d'expositions au benzo(a)pyrène.....	34
II.4.3.3.Toxicocinétique du B(a)P .....	34
II.4.3.3.1.Absorption et distribution .....	34
II.4.3.3.2 Métabolisme du benzo(a)pyrène .....	35
II.4.3.3.3.élimination .....	37
II.4.3.4.Les effets du Benzo(a)pyrène .....	37
II.4.3.4.1. Benzo(a)pyrène et cancers .....	37

II.4.3.4.2.Mode d'action du benzo(a)pyrène dans la cancérogenèse.....	38
II.4.3.4.3.Mode d'action du B(a)P via le récepteur Aryl Hydrocarbon.....	40
II.4.3.4.4. Autres effets pathologiques du benzo(a)pyrène .....	42
II.5.Les effets du tabac sur l'organisme .....	43
II.5.1.Les effets du tabac sur le système respiratoire .....	43
II.5.2. Les effets du tabac sur la capacité respiratoire .....	43
II.5.3. Action du tabac sur le revêtement bronchique.....	44
II.5.4. Action du tabac sur la fonction respiratoire.....	45
II.5.5. Les effets du tabac sur le cœur et les vaisseaux .....	46
II.5.6. Les effets du tabac sur le système nerveux .....	47
II.5.7.Les effets du tabac sur la fertilité.....	49

### **III.Matériels et méthodes**

III.1.Population étudiée .....	50
III.2.Prélèvement et préparation des échantillons .....	50
III.3. Matériels utilisés .....	51
III.4.Les Analyses biochimiques .....	52
III.4.1. Les transaminases hépatiques.....	52
III.4.1.1.Méthodes de dosages de l'ALAT .....	53
III.4.1.2.Méthodes de dosage de l'ASAT .....	56
III.4.2.Méthodes de dosages de l'albumine .....	58
III.4.3.Méthodes de dosages de la PT .....	60
III.4.4. Méthodes de dosages de l'urée .....	62
III.4.5.Méthodes de dosages de la créatinine .....	64
III.4.6.Méthodes de dosages du glucose.....	67
III.4.7. Dosage des triglycérides .....	69

III.4.8. Dosage du cholestérol .....	71
III.5. Les Analyses hématologiques .....	74
III.6. Techniques de laboratoire utilisées .....	78
III .6.2. Traitement des échantillons de sang .....	78
III.6.1. Collecte des échantillons .....	78
III.7. Modes opératoires.....	78
<b>IV. Résultats et Discussions</b>	
<b>IV.I. Résultat et interprétations.....</b>	<b>80</b>
IV .1 .Les paramètres hématologiques .....	80
IV .1.1 .Taux des globules rouges sanguin .....	80
IV. 1.2 .concentration de l'hémoglobine.....	81
IV. 1.3. Le nombre des globules blanc.....	82
IV.2. Les paramètres biochimiques.....	83
IV.2.1. Concentration du glucose plasmatique .....	83
IV. 2.2. Concentration d'albumine plasmatique .....	84
IV.2.3. Concentration des triglycérides plasmatique .....	85
IV.2.4. Concentration du cholestérol plasmatique .....	86
IV.2.5. Concentrations de la créatinine plasmatique .....	87
IV.2.6. Taux plasmatique de l'urée.....	88
IV.2.7.Taux plasmique des protéines.....	89
IV.II. Discussion.....	90
Conclusion.....	93
Références bibliographiques .....	94



### **Introduction**

Le tabagisme est devenu un véritable fléau social qui ne cesse de s'étendre, rongant et dévorant impitoyablement tous les pays et particulièrement ceux en voie de développement. Il ne fait plus aucun doute que le tabagisme a pris l'ampleur d'une épidémie mondiale qui atteindra bientôt son point culminant chez les hommes dans la plupart des pays développés et qui se répand aujourd'hui chez les femmes de ces pays développés et chez les hommes des pays en développement (**Kumra & Markoff, 2000**).

Au cours des dernières décennies, la prévalence mondiale du tabagisme a augmenté de 3,4 % par an, avec des disparités importantes selon les pays (**Kumra & Markoff, 2000**).

Le tabac, première cause de mortalité, tue 5 millions de personnes par an dans le monde et plus de 66 000 en France (**Rouquet , 2009**).

Le tabac est une cause connue de différentes maladies, mais bien souvent, on n'apprécie pas encore pleinement la part qu'il représente dans le poids de la morbidité dans le monde. Il est susceptible d'entraîner des cardiopathies coronariennes, des maladies vasculaires périphériques, des bronchites des emphysemes et de nombreux cancers dont les cancers urologiques (**Rouquet , 2009**).

Dans le souci de présenter les différentes facettes de ce fléau mondial. Nous van études les effets des cigarettes sur quelques paramètres biochimiques (cholestérol, créatinine et transaminases, urée, créatinine, glucose, TG) ainsi quelques paramètres hématologiques selon la période de fumes.

Le présent travail se divise en 02 parties principales : La première consiste en une recherche bibliographique portant les généralités sur le tabac et cigarette, La seconde partie concerne l'aspect pratique qui consiste en un compte rendu de stage effectué en milieu hospitalier (études des paramètres biochimiques et hématologiques).

## I. Généralité sur Le tabac

### I.1. Historique

La culture du tabac a son origine en Amérique, il y a plus de 3000 ans. Les indiens commencent à rouler les feuilles de tabac jusqu'à obtenir une sorte de grand cigare qu'ils appellent (tabaco).

Avant la découverte des Amériques, le tabac est surtout une plante sacrée et curative, utilisée par des prêtres et des chamanes. Il sert à communiquer avec les esprits et à apaiser des douleurs. (DuVall *et al.*, 1989 ; Bajomi & KisVarga, 1990 ; Murphy, 2002 ; Petterino & Biancardi, 2001).

- **1492** : Christophe Colomb découvre l'Amérique et constate que les Indiens fument une plante inconnue en Europe découvre le tabac à Cuba et l'importe pour la première fois en Europe (Gray & Zatonski, 1998).
- **1520** : Les premières graines de tabac sont rapportées en Europe.
- **1556** : Le moine André Thévet introduit la plante en France et la cultive dans les environs d'Angoulême. Le moine Angoumois André THEVET ramène pour la première fois en France des graines du tabac en France (Guillaume *et al.*, 1979).
- **1560** : Le tabac triomphe en France grâce à Jean NICOT. Celui-ci, croyant à l'effet curatif de la plante, envoie de la poudre à la Reine Catherine de Médicis afin de traiter les terribles migraines de son fils François II. Le traitement a du succès et le tabac devient ainsi « l'herbe à la Reine » dont la vente sous forme de poudre est réservée aux apothicaires. En l'honneur de Jean NICOT on appelle le tabac à partir de maintenant « *Nicotiana tabacum* » (Guillaume *et al.*, 1979).
- **1561** : Jean Nicot, ambassadeur de France au Portugal, envoie des feuilles de tabac râpées à la reine Catherine de Médicis ; cette plante est alors considérée comme une plante médicinale (Guilbert *et al.*, 2004).
- **1629** : Richelieu crée le premier impôt sur ce produit. Le Cardinal de Richelieu instaure un Droit de Douane à l'entrée des tabacs qui, à cette époque, étaient encore importés du Nouveau Monde. Cette décision entraîne, 7 ans plus tard, de premières plantations en France, à Clairac (Lot-et-Garonne).

- **1674** : Sous Louis XIV, COLBEBT décrète le « privilège de fabrication et de vente ». Celui-ci est d'abord affermé à des particuliers, puis à la seule Compagnie des Indes. La tabaculture devient un Monopole (**Michel , 1990**).
- **1681** : Colbert instaure le monopole d'Etat de la vente et la fabrication du tabac.
- **1719** : La culture est prohibée dans toute la France avec des condamnations qui peuvent aller jusqu'à la peine de mort. Exceptions : la Franche-Comté, la Flandre et l'Alsace (**Guilbert et al ., 2004**).
- **1762** : Les cigarettes représentent la nouvelle façon de fumer : Musset, Chopin, Delacroix les adoptent. Napoléon III, grand fumeur, leur donne leurs lettres de noblesse, mais les gens sérieux restent fidèles à la prise, l'ouvrier à son brûle-gueule, les dandies au cigare (**Pierrick & Horde, 2002**).
- **1791** : L'Assemblée Nationale déclare la liberté de cultiver, de fabriquer et de débiter le tabac.
- **1830** : Les premières cigarettes fabriquées de façon industrielle apparaissent (**Beck et al ., 2005**).
- **1843** : Invention de la première machine à fabriquer les cigarettes (**Pierrick and Horde, 2002**).
- **1950** : Des études épidémiologiques prouvent la toxicité du tabac ; les cigarettes « filtre ». Le tabac est cultivé dans 55 départements, avec 105000 producteurs sur 28000 hectares (**Gray & Zatonski , 1998**).
- **21 avril 1970** : Le règlement de la Communauté Européenne portant sur l'établissement d'une organisation commune des marchés dans le secteur du tabac brut entre en vigueur. Il entraîne l'abolition du Monopole. Immédiatement, les producteurs se préoccupent de leur structuration économique, la maîtrise de la production étant désormais de leur ressort (**Gray & Zatonski , 1998**).
- **21 janvier 1971** : La première coopérative tabacole est créée en Alsace (**Audrey, 2008**).
- **1985** : France Tabac met en route, à Sarlat (Dordogne), l'usine de première transformation de tabacs clairs (**Guilbert et al ., 2004**).
- **1993** : L'Union Européenne réforme l'OCM Tabac. Des quotas de production sont instaurés et les primes européennes accordées à la production sont uniformisées dans les différents pays de production (**Audrey, 2011**).

- **1995** : Privatisation de la Seita (« Société d'Exploitation Industrielle des Tabacs et Allumettes, ancien organisme public assurant un monopole d'Etat, sous la dépendance du ministère de finances.
- **2000** : L'Etat français se désengage de la Seita (**Benowitz , 1996**).
- **2006** : Entrée en vigueur d'une nouvelle OCM tabac. Ce règlement, voté par le Conseil Européen en 2004, conduit à la disparition totale des aides directes couplées à la production de tabac à partir de 2010. Par conséquent, certaines régions européennes connaissent alors un effondrement, voire une disparition totale de la culture. En France, la production baisse sensiblement (**Bentt , 2007**).

Aujourd'hui, on estime à 5 millions d'hectares la surface cultivée consacrée au tabac dans le monde, essentiellement en Asie et en Amérique. La production est dominée par la Chine, les Etats-Unis, l'Inde et le Brésil (**Gray & Zatonski ,1998**).

## I.2.Définition

Le tabac est une plante de la famille des solanacées, à laquelle appartiennent aussi la tomate et la pomme de terre. Son nom botanique est « *nicotiana* », elle est originaire d'Amérique de Sud. Cette plante annuelle atteint de 0,6 à 3 m de hauteur, ses feuilles peuvent mesurer 80 centimètres de long et 40 centimètres de large ( **Burnie et al .,2003** ) . Les fleurs groupées en panicules sont rouges, roses, blanches, beiges, jaunes ou vertes. Les feuilles sont de forme ovale à lancéolée, entières, le plus souvent sessiles et recouvertes de poils glandulaires des deux côtés. Il en existe deux espèces principales, *Nicotiana tabacum* et *Nicotiana rustica*. Une autre espèce, *Nicotiana glauca* ; est employée pour la recherche scientifique (**Audrey , 2008**).

- ✓ ***Nicotiana tabacum*** ; le tabac de Virginie, est une plante aux fleurs roses ou rouges en forme de trompette dont la taille peut atteindre jusqu'à trois mètres. Les feuilles, simples et entières, dont les plus grandes mesurent jusqu'à 50 cm de long, contiennent plusieurs alcaloïdes dont le principal, la nicotine, est présente à une concentration de 0,5% à 5% du poids sec (**Guilbert et al ., 2004**).
- ✓ ***Nicotiana rustica*** est utilisé pour extraire la nicotine de ses feuilles et ses graines fournissent de l'huile (**Audrey , 2011**).



**Figure 01:** Les plantes de tabac (Gray & Zatonski , 1998).

La graine est semée au début du mois de mars puis est transplantée en champ à la mi mai. La plante commence la floraison au début de l'été. La fleur est coupée afin que les feuilles se développent. Les premières décolorations indiquent le moment de la récolte (juillet/août). Le tabac récolté est envoyé vers les industries de fabrications des cigarettes.

### **1.3. Description**

Les tabacs sont des plantes annuelles à tige herbacée ou permanentes, inflorescences complexes : cymes terminales plus ou moins ramifiées, fleurs hermaphrodites, feuilles isolées entières, calice tubuleux campanulé ou ovoïde, corolle en tube plus ou moins renflé, terminé par un limbe à cinq lobes, de couleur rose, rouge, jaune ou blanche, cinq étamines insérées sur la corolle, incluses dans le tube et souvent inégales, ovaires à deux loges en général entourés à la base d'un nectaire épais annulaire, stigmate en forme de tête aplatie (Chollat , 1992 ; Laraqui & Chakib ,1998).

### **1.4. Les différents types de tabac en feuille**

Les tabacs en feuille sont classés selon leur variété ou leur mode de séchage. On trouve quatre grands types de tabac:

- **Le tabac brun** : il est séché à l'air et fermenté (d'où richesse en ammoniacque), son pH de l'ordre de 7,5. Sa production tend à diminuer depuis plusieurs années due à l'évolution de la consommation vers les tabacs blonds ( Burnie *et al* , 2003 ).
- **Le tabac de Virginie** : Cette variété, la plus cultivée dans le monde, correspond à l'évolution de la consommation vers des produits blonds dits de goût américain ; elle

est séché à l'étuve, non fermentée (d'où richesse en sucre), son pH est très acide de l'ordre de 5,5 (Burnie *et al.*, 2003).

- **Le tabac Burley**: il est séché à l'air, mais non fermenté, son pH est acide et varie entre 6 et 6,75 (Burnie *et al.*, 2003).
- **Le tabac d'orient** : il est séché au soleil, il a de très petites feuilles et est très aromatique. Son pH est acide (Burnie *et al.*, 2003).

### I.5. Composition du tabac

Les différentes composantes du tabac sont déterminées à partir de l'analyse des plantes fraîches, du tabac et de ses additifs. Or puisque la chimie du tabac est examinée sous l'angle de la dépendance, donc on peut s'intéresser à la chimie de la fumée de cigarette. La fumée de tabac est un mélange toxique de plus de 5000 composés chimiques (Thielen *et al.*, 2008 ; Borgerding & Klus, 2005).

Les feuilles vertes de tabac (*Nicotiana tabacum*) contiennent (en pourcentage de poids sec) :

- 40% de glucides (amidon, cellulose, sucres simples).
- 15 à 20% de protéines et d'acides organiques.
- Entre 1 et 10% d'alcaloïdes (exceptionnellement 15%) : la nicotine est majoritaire (jusqu'à 90-95%) ; les autres alcaloïdes du tabac sont chimiquement proches de la nicotine, les plus importants sont l'anabasine et la nornicotine.

La fumée de cigarette est un aérosol complexe en mouvement constitué de vapeur et de phases particulaires (Smith & Fischer, 2001), résultant de la combustion à une température supérieure à 850°C du tabac et de ses additifs.

La phase particulaire est le matériau qui est piégé lorsqu'on fait passer le courant de fumée à travers le filtre de la cigarette (Ambrose & Barua, 2004), tandis que la phase vapeur passe à travers le filtre. Les principaux constituants de fumée de tabac sont : la nicotine, l'oxyde de carbone, les goudrons, les irritants, les métaux lourds et quelques métaux pauvres (David, 2005).

- **La nicotine**

La nicotine a été découverte en 1809 par Louis Nicolas Vauquelin, professeur de chimie à l'école de médecine de Paris. Cet alcaloïde fut appelé « nicotine » en référence à

Jean Nicot. Cette substance est présente dans les feuilles du tabac et se trouve sous forme de particules en suspension dans la fumée (David, 2005).

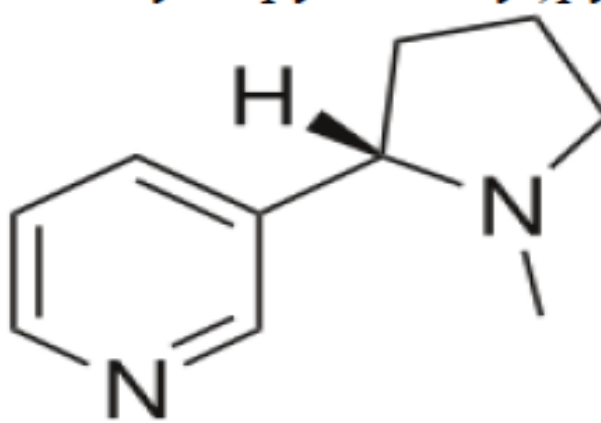
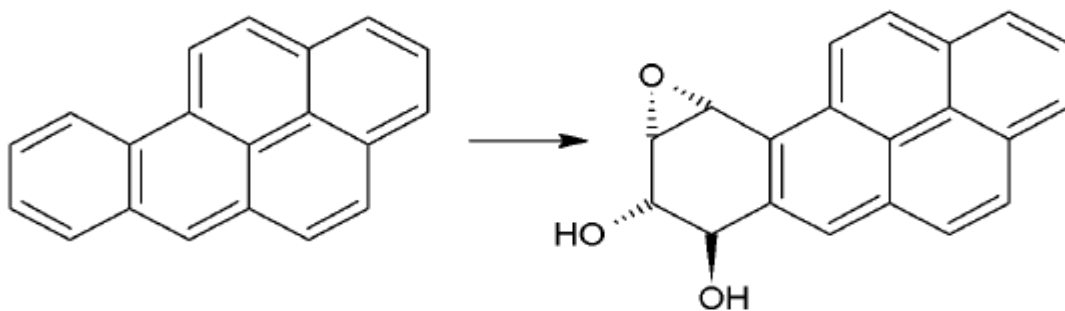


Figure 02 : Structure de nicotine (David, 2005).

- Les goudrons

C'est un mélange complexe, formé à l'issue de la combustion du tabac, des hydrocarbures aromatiques polycycliques, en particulier le benzopyrène, et les nitrosamines (Gray & Zatonski, 1998).



Benzo(a)pyrène

Figure 03 : Structure de benzo pyrène (Miller & Ramos ,2001).

- **Le monoxyde de carbone**

Le CO est l'un des constituants les plus toxiques dans le tabac. C'est un gaz issu de la combustion incomplète du carbone. Il a la propriété de se fixer irréversiblement sur l'hémoglobine à la place de l'oxygène (Gray & Zatonski, 1998).

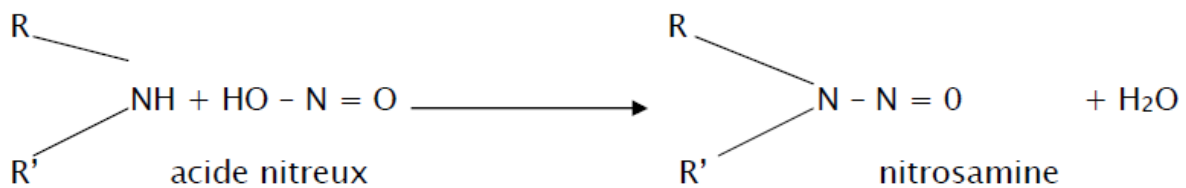
- **Les métaux lourds et les métaux pauvres**

Le tabac contient également des métaux lourds tels que : cadmium, mercure, plomb, chrome, arsenic, nickel et des métaux pauvres comme le polonium (Batarekh & Teherani, 1987).

- **Les irritants**

Les irritants sont un mélange d'éléments très divers de l'acétone, des nitrosamines, de l'acroléine, des aldéhydes, des phénols et de l'acide cyanhydrique qui se révèlent lors de la combustion (Ambrose & Barua, 2004 ; Gray & Zatonski, 1998).

Cette composition du tabac dépend de plusieurs facteurs tels que le sol, le climat, mode de culture, les méthodes de séchage (Gray & Zatonski, 1998).

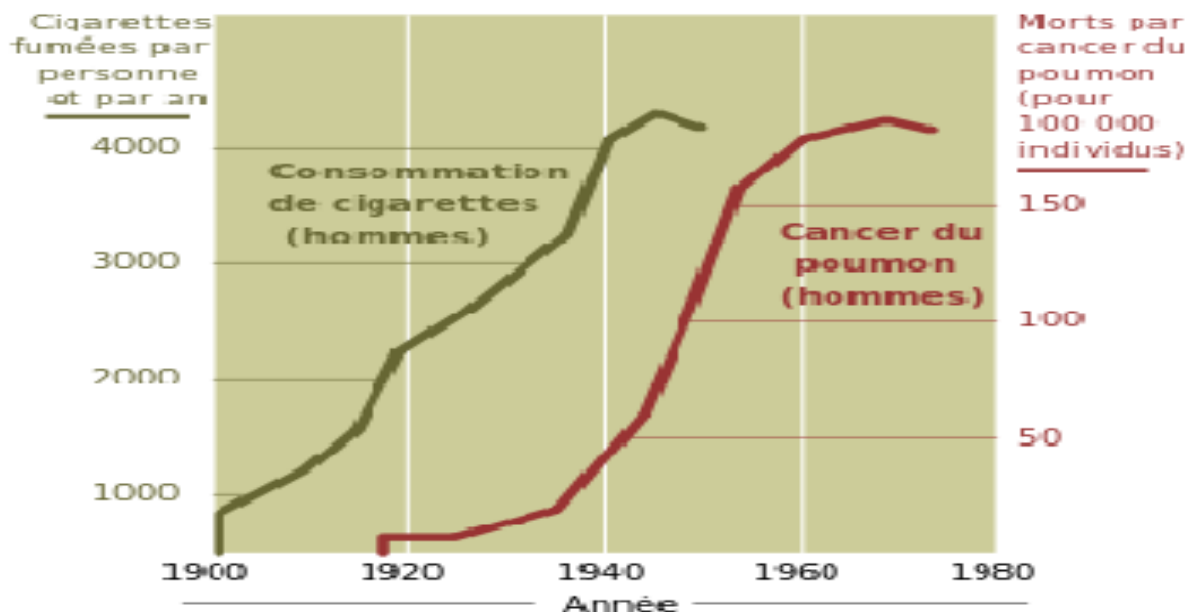


**Figure 04:** Structure de nitrosamine (Mpower, 2008).

## I.6. Les dangers du tabac

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 5,4 millions de décès prématurés par an sont attribuables au tabac dans le monde (Mpower, 2008). Si les tendances actuelles se poursuivent, 10 millions de fumeurs par an, sont prévus à la mort pendant 2025 (Hatsukami et al., 2008; Davis et al., 2007). Donc le tabac a des effets très nocifs sur la santé humaine et notamment sur ceux qui s'exposent directement. En fait, il :

- Provoque des maladies cardio-vasculaires : environ 35 à 40 pourcent des décès liés au tabagisme sont dus aux maladies cardio-vasculaires (Ezzati & Lopez, 2004).
- Agit sur la fonction respiratoire : les fumeurs s'exposent à des troubles au niveau de tout l'appareil respiratoire, notamment au risque de bronchite chronique et au risque du cancer de poumon (Ezzati & Lopez, 2004) (Voir figure 05).
- Agit sur la fonction digestive : la nicotine augmente la sécrétion des acides gastriques et agit sur le système nerveux central.
- limite l'apport d'oxygène au cerveau et aux muscles. Il est responsable des maux de tête, des vertiges et d'une diminution de la résistance à l'exercice.
- Responsable de 22 pourcent de l'ensemble des cancers.
- Contrarie l'assimilation des aliments puisqu'il diminue les stocks des vitamines B et détruit la vitamine C.
- Diminue la mémoire et les réflexions et altère l'attention et la concentration (Ezzati & Lopez, 2004).



**Figure 05 :** Courbes mettant en évidence la corrélation entre le tabagisme et l'incidence du cancer de poumon (Ezzati & Lopez, 2004).

La figure 05 montre un décalage de 20 ans entre la consommation du tabac et l'apparition du cancer du poumon. On remarque que le cancer du poumon est proportionnel à la consommation de cigarettes. Donc la quantité n'augmente pas la gravité de l'effet mais sa probabilité d'apparition (**Ezzati & Lopez , 2004**).

## **I.7. Les principaux risques liés au tabac**

### **I.7.1. Le tabagisme actif**

Le tabac comporte des risques à court terme tels que l'altération du goût, de l'odorat et de l'haleine, l'augmentation de la pression artérielle, l'altération de la peau, des cheveux ou encore la limitation d'apport d'oxygène au cerveau et aux muscles, ce qui provoque étourdissements et maux de tête (**Martinet & Bohadana ., 2001**).

#### ➤ **Le tabac multiplie les risques de cancers**

Le tabac est responsable de 85 % des cancers du poumon chez l'homme. Chez les fumeurs, l'intensité du risque dépend principalement du nombre d'années d'exposition, mais aussi du nombre de cigarettes fumées et de l'inhalation (**Martinet & Bohadana ., 2001**).

Les fumeurs ont aussi un risque plus grand de développer des cancers au niveau de la cavité buccale, du larynx et du pharynx, des reins et de la vessie.

#### ➤ **Maladies respiratoires** : 80 % des décès par bronchite chronique et emphysème sont liés au tabac

Le tabagisme est la première cause des atteintes de l'appareil respiratoire telles que la bronchite chronique et l'emphysème, et aggrave l'asthme et la toux. La fumée de cigarette altère directement et constamment la structure et les fonctions des voies respiratoires (**Martinet & Bohadana ., 2001**).

#### ➤ **Le tabac augmente le risque de maladies cardio-vasculaires**

Le tabagisme durcit les artères, augmente la pression artérielle et le travail cardiaque, notamment celui du myocarde. Il favorise ainsi les accidents cardiaques et vasculaires cérébraux et les affections artérielles (phlébite, thrombose,..) (**Martinet & Bohadana , 2001**).

✓ **Des risques spécifiques pour les femmes**

L'association tabac-pilule accroît considérablement les risques cardiovasculaires car elle favorise la formation de caillots, abîme la paroi des vaisseaux et les rétrécit. Les cycles hormonaux de la femme sont parfois perturbés par la cigarette : ils sont plus irréguliers et les règles souvent plus douloureuses. Le tabac entraîne une baisse de la fertilité : le délai de fécondation est en général plus long que chez les non-fumeuses. Le tabac, par son action anti-œstrogène, avance l'âge de la ménopause. Par la suite, on constate une augmentation de la décalcification (ostéoporose, fragilité osseuse), avec notamment une incidence accrue des fractures du col du fémur chez la femme âgée (**Martinet & Bohadana , 2001**).

### **I.8.2.Le tabagisme passif**

Le tabagisme passif est le fait d'inhaler involontairement la fumée dégagée par un ou plusieurs fumeurs. Il a des effets néfastes pour la santé, qui sont fonction de la durée d'exposition à la fumée ( **Dautzenberg , 2001**).

Le tabagisme passif augmente le risque de cancer (poumon, larynx, voies aéro-digestives supérieures, pancréas et col de l'utérus) et provoque une détérioration de la fonction respiratoire. Le tabagisme passif met en danger la grossesse : risque de grossesse extra-utérine, de fausses couches, d'accouchements prématurés et de retard de croissance intra-utérine.

Enfin, chez l'enfant exposé au tabac, les risques de bronchites, d'otites récidivantes et chroniques (**Thielen et al , 2008**) augmentent sensiblement.

## II. Généralité sur la cigarette

### II.1. Définition de la cigarette

Une cigarette est un petit cylindre de papier rempli de feuilles de tabac hachées et traitées, avec ou sans filtre à une de ses extrémités. Une cigarette peut être soit roulée à la main, soit fabriquée en série de manière industrielle (**Vickery & Pucher , 1929**).

Son utilisation consiste à l'allumer afin qu'elle se consume pour en inhaler la fumée par la bouche ou par le nez selon la technique dite « à l'hindouiste ». Une cigarette peut parfois ne pas contenir de tabac du tout, ou renfermer d'autres produits végétaux, y compris d'autres agents psychotropes tels que le cannabis, ou des clous de girofle (**Vickery & Pucher , 1929**).

Une cigarette se distingue d'un cigare par sa dimension, l'utilisation de tabac expansé, son entourage en papier et par l'éventuelle présence d'ingrédients (agents de saveurs, humectants) et/ou d'un filtre à l'une de ses extrémités. Les cigares sont habituellement composés uniquement de feuilles complètes de tabac. Un cigare ayant à peu près la taille d'une cigarette est appelé cigarillo (**Vickery & Pucher , 1929**).

La fumée de cigarette contient de nombreuses substances toxiques, dont au moins une soixantaine sont reconnues comme cancérogènes (**Vickery & Pucher , 1929**).

(Comme du goudron, de l'arsenic, du méthanol, de l'ammoniac (détergent) ou bien encore du plomb). Le tabagisme provoque chaque année la mort d'environ quatre millions de personnes dans le monde (**Benowitz et al ., 1987**) et de nombreuses maladies (maladies cardiovasculaires et certains cancers par exemple). Les cigarettes sont également impliquées dans le déclenchement d'incendies (**Rose et al ., 2010**). Pour ces raisons, les législations sur le tabac deviennent de par le monde de plus en plus restrictives, qu'il s'agisse de la vente, des lieux de consommation ou du design (**Rose et al ., 2010**).

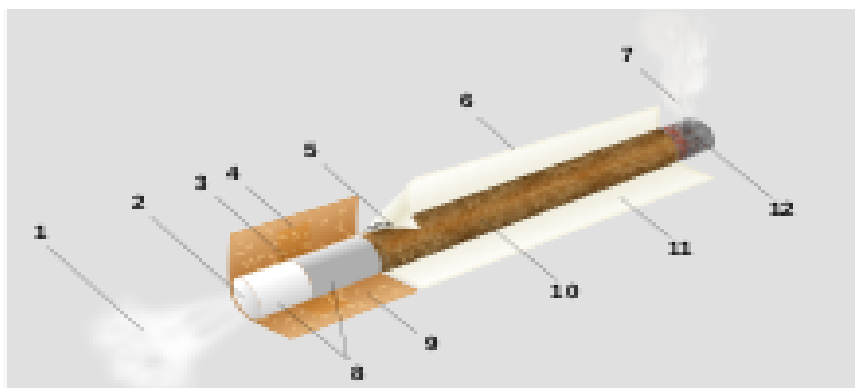


Figure 06 : la forme de cigarette (**Vickery & Pucher , 1929**).

1. Fumée principal (inhalée) ;
2. Filtre ;
- 3 / 4 .Adhésif du filtre ;
5. Encre ;
6. Adhésif latéral ;
7. Fumée latéral ;
8. Filtre ;
9. Emballage du filtre ;
10. Tabac et ingrédients ;
11. Papier ;
12. Zone de combustion.

## **II.2.Substances contenues dans la fumée**

Des substances contenues dans la fumée de cigarette agissent sur le consommateur de tabac, mais également sur les individus se trouvant à proximité : on parle de tabagisme passif. La fumée de cigarette contient entre 3 000 et 5 000 constituants différents, dont au moins 70 ont été identifiés comme toxiques (**Thielen *et al* ., 2008**). Le chiffre réel est très probablement supérieur (**Borgerding & Klus , 2005; Smith & Fischer , 2001**).

Tableau I : Irritants majeurs contenus dans la fumée de cigarette (Ingebrethsen , 1986).

Irritants majeurs contenus dans la fumée de cigarette				
Substance	Contenu inhalé par cigarette	Rapport de la quantité émise au contenu inhalé	Concentration atmosphérique en atmosphère enfumée dans des conditions ordinaires	Principal effet nocif connu
<a href="#">Acroléine</a>	10–140 µg	10–20	6–120 ppb	<a href="#">Toxique</a>
<a href="#">Formaldéhyde</a>	20–90 µg	~ 50	30–60 ppb	<a href="#">Cancérogène</a>
<a href="#">Monoxyde de carbone</a>			1–43 ppb	<a href="#">Reprotoxique</a>
<a href="#">Ammoniac</a>	10–500 µg	44–100	1 000–4 580 ppb	<a href="#">Toxique</a>
<a href="#">Oxydes d'azote</a>	16–600 µg	4,7–50	1–370 ppb (monoxyde) 0–50 ppb (dioxyde)	
<a href="#">Pyridine</a>	32 µg	10	?	<a href="#">Herbicide</a>
<a href="#">Dioxyde de soufre</a>	1–75 ppb	?	1–69 ppb	Très <a href="#">toxique</a>
<a href="#">Phénol</a>	20–150 µg	2,6	7,4–115 µg·m <sup>-3</sup>	<a href="#">Corrosif</a>
<a href="#">Toluène</a>	108 µg	5,6	40–1 040 µg·m <sup>-3</sup>	<a href="#">Toxique</a>
<a href="#">Microparticules</a>	100–4 000 µg	1,3–1,9	55–962 mg·m <sup>-3</sup>	

**II.3. Les principaux constituants d'une cigarette**

La fumée de la cigarette ne contient pas moins de 4000 substances différentes, la plupart sous forme de gaz. On peut cependant déceler au microscope que plus d'un dixième de ces substances sont minuscules, plus fines que la poussière habituellement répandue dans l'air (microparticules). Pour les fumeurs, ces particules de la fumée de cigarette ne présentent pas d'intérêt particulier. Le seul élément qui compte pour eux, c'est la nicotine, qui leur procure détente, apaisement, meilleure concentration: une vraie panacée qu'aucune autre substance engendrant la dépendance ne saurait égaler car celle-ci est tout à fait légale. C'est ce qui explique son attrait, puisqu'on peut l'obtenir aisément à tous les coins de rue, à peu de frais, et qu'elle fait même partie des mœurs. La nicotine rend son consommateur dépendant et, en règle générale, rapidement et durablement. Etant donné également que sa consommation devient vite régulière et augmente, les autres substances contenues dans la cigarette pénètrent et dégradent l'organisme du fumeur à chaque bouffée, ainsi que celui, souvent, des personnes qui l'entourent et ne fument pas (**Farnello et al ., 1998 ; Jeanne , 2011**).

Différentes substances composent la fumée de la cigarette parmi lesquelles :

- La nicotine
- Le goudron
- Le Monoxyde de carbone
- Substances nocives produites lors de la combustion (**Farnello et al ., 1998 ; Jeanne , 2011**).

**II.3.1. La nicotine**

La nicotine est une substance chimique dotée d'effets psycho actifs humains, c'est-à-dire qu'elle agit sur le cerveau en influençant l' humeur et la sensibilité pendant une durée illimitée Cette substance qui est également un agoniste d'un neuromédiateur du système nerveux (l' Acétylcholine) est présente naturellement dans la cigarette à des concentrations variables en fonction des parties inhalées .On la retrouve sous forme de particules en suspension dans la fumée et elle met environ huit (08) secondes pour arriver au cerveau et provoquer un effet « flash» très rapide entraînant cette sensation de plaisir et de détente immédiate recherchée par les fumeurs, mais la nicotine crée aussi

- l'apaisement,

- un effet antidépresseur sur le cerveau,
- une sensation de bien-être ou même d'euphorie, l'aptitude à mieux se concentrer par l'accentuation de l'état d'éveil.

La nicotine est aussi anorexigène (**Klesges et al ., 1989**) ce qui crée un certain engouement surtout chez les jeunes femmes qui fument aussi pour conserver une certaine minceur en accord avec les canons actuels de la beauté.

Ce que l'on sait moins, c'est que la nicotine diminue l'activité basale de certains centres cérébraux qui ne réagissent plus qu'avec l'apport régulier de cette substance et c'est ainsi que s'installe la dépendance (**Klesges et al ., 1989**)

La nicotine serait relativement inoffensive SI elle n'entraînait pas cette dépendance et si toutes les substances inhalées ne nuisaient pas aux voies respiratoires. Le goudron, le monoxyde de carbone, les gaz irritants, les nitrosamines et les milliers d'autres éléments nocifs qui composent la fumée de cigarette se dégagent principalement lorsqu'elle se consume et pénètrent par inhalation dans la cavité buccale. Le tabac utilisé pour fabriquer la cigarette est en quelque sorte «raffiné» par fermentation. La nicotine ne déploie tous ses effets (au contraire de la fumée alcaline de la pipe et du cigare) que dans les poumons pour être ensuite transportée très rapidement au cerveau. La dépendance est ainsi accélérée et renforcée. Pour la fumée passive, les choses sont quelque peu différentes: la fumée échappée de la cigarette se répand dans l'air, se refroidit et perd de son acidité. Cette fumée alcaline pénètre dans les fosses nasales et la cavité buccale. La nocivité de la fumée passive ne saurait donc être sous-estimée (**Klesges et al ., 1989**).

La nicotine effets sur les vaisseaux sanguins qui la reçoivent à travers la fumée (**Jeanne , 2011**). En tant que médicament de désaccoutumance au tabagisme, elle peut rendre de grands services, et cela, sans effet sur les voies sanguines car les doses et le mode de délivrance auront été contrôlés. Les préparations à la nicotine (gomme, spray, patch) permettent de se débarrasser de la dépendance psychique sans phénomènes de privation physique. Ensuite, la réduction peut se faire graduellement. Il est possible aussi d'alterner la fumée et les préparations à la nicotine.

**II.3.2. Le goudron**

Le goudron est non seulement irritant mais il est cancérigène. Il est constitué de nombreuses substances chimiques très nocives parmi lesquelles les hydrocarbures, le benzène et des composés inorganiques. Il est le principal responsable des cancers du fumeur que sont les cancers du poumon mais aussi celui de la gorge et de la langue. De par son élimination urinaire, il est aussi responsable des cancers de la vessie. Le goudron se trouve surtout dans le flux principal de fumée inhalé. Il pénètre dans les poumons et les voies respiratoires étroites (bronchioles) **(Jeanne, 2011)**.

Avec le temps, les cellules du revêtement intérieur des bronches (cellules épithéliales) se modifient.

Cependant, lorsque l'on arrête de fumer, les cellules ainsi modifiées sont peu à peu remplacées par des cellules saines et les capacités respiratoires sont récupérées avec le temps **(Jeanne, 2011)**.

Un fumeur qui attend trop longtemps pour arrêter de fumer risque de voir son organisme perdre le contrôle de la division cellulaire et voir apparaître des cellules «précancéreuses». Celles-ci peuvent se transformer en cellules cancéreuses dans le poumon et à proximité et peuvent par la suite pénétrer les vaisseaux sanguins pour aboutir à des foyers cancéreux secondaires **(Jeanne, 2011)**.

Les particules de goudron ne se répandent pas uniquement dans les poumons des fumeurs, mais aussi dans l'organisme de ceux qui sont soumis à la fumée passive. De nouvelles études ont montré que les fumeurs passifs qui partagent l'appartement d'un fumeur ont un risque de 20% plus élevé de présenter un cancer des poumons, chiffre qui s'élève à 40% pour les fumeurs passifs au travail et à 50% pour ceux d'entre eux qui travaillent dans des restaurants ou des bars. Des études de PROVOST ont montré aussi qu'un fumeur d'un paquet de cigarettes par jour inhale 250ml de goudron par an dans ses poumons **(Provost , 2004)**.

### **II.3. 3.Le Monoxyde de carbone (CO)**

Comme toute fumée, la fumée du tabac contient une substance nocive qui s'appelle monoxyde de carbone, elle est très diffusible et passe directement dans le sang. Ses effets sont comparables à ceux d'une fuite de gaz (**Provost , 2004**).

Par la respiration, le CO pénètre dans le sang à travers les parois des alvéoles pulmonaires pour atteindre ensuite les globules rouges sanguins où il se fixe et se combine avec l'hémoglobine (aux dépens de l'oxygène) pour former la carboxyhémoglobine, refoulant ainsi l'oxygène nécessaire aux tissus dans la toux sanguine (**Provost , 2004**).

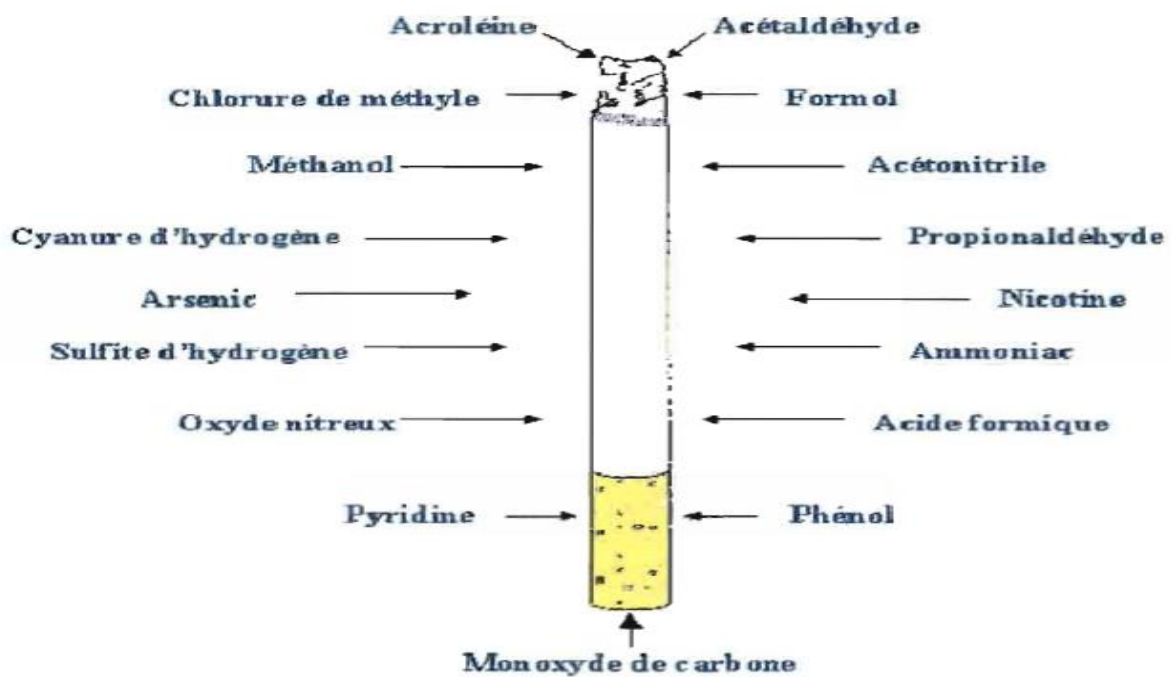
L'élévation de la pression sanguine due à la cigarette peut conduire à l'occlusion vasculaire, au ralentissement ou même au blocage du flux sanguin dans des organes importants. La vasoconstriction se produisant lors de l'alimentation sanguine des vaisseaux coronaires fait courir un grand risque d'infarctus cardiaque. Daniel Thomas de la Fédération française de cardiologie, estime (dans la rubrique « Débats » du FIGARO) que le tabagisme représente le deuxième facteur de risque d'infarctus derrière l'excès de cholestérol. Soulignant que 80% des victimes d'infarctus avant 45 ans sont fumeurs et que chez les hommes de 55 ans près de 6 infarctus sur 10 sont dus au tabagisme. Ainsi le risque avec plus de 12 mg de goudron est de 2,21 fois plus élevé que celui associé à la cigarette avec moins de 6mg de goudron (**Provost , 2004**).

Après avoir arrêté de fumer, le risque s'abaisse en permanence jusqu'à disparaître et rejoindre celui des non-fumeurs .Et pour que le teneur en carboxyhémoglobine du sang retrouve la valeur habituellement observée chez les non-fumeurs il faut nécessairement 24 à 48h d'abstinence totale (**Provost , 2004**).

### **II.3.4. Substances nocives produites lors de la combustion du tabac**

- **Acétone:** dissolvant;
- **Naphtyle amine:** Substance cancérigène connue;
- **Méthanol:** Carburant pour fusée;
- **Pyrène:** Substance cancérigène connue;
- **Naphtalène:** Antimite;
- **Cadmium:** Utilisé pour les batteries;
- **Chlorure de vinyle:** Utilisé dans les matières plastiques;

- **Acide cyanhydrique** ; Utilisé dans la fabrication de fumigateurs, de pesticides;
- **Ammoniac**: Détergent;
- **Uréthane**: Substance cancérigène connue;
- **Toluène**: Solvant industriel;
- **Arsenic**: Poison violent;
- **Dibenzacridine**: Substance cancérigène connue;
- **Polonium 210** : élément radioactif, Substance cancérigène connue;
- **DDT**: Insecticide;
- **Plomb**;
- **Mercure (Provost , 2004)**.



**Figur 07:** les différentes composantes de la fumée de cigarette (Provost , 2004).

## II.4. Pharmacocinétiques des principaux constituants d'une cigarette

### II.4.1. La nicotine

#### II.4.1.1. Historique

En 1809 que le savant français Vauquelin, premier à observer la nicotine, décèle un principe actif basique, volatile et entraînable à la vapeur dans le jus de tabacou extrais. En 1828, à l'université d' Heidelberg (Allemagne), Posselt, chimiste et Reimann, étudiant en médecine, menèrent une étude, *De Nicotiana-A* propos de la plante de tabac, traitant de la matière active dans les feuilles de tabac. C'est eux qui donnèrent le nom de nicotine à cette matière, en l'honneur de Jean Nicot, l'un des premiers à avoir introduit le tabac importé des « indes Occidentales » en France, en 1560. La formule empirique de la nicotine est établie en 1843 par Melsens (chimiste belge) :  $C_{10}H_{14}N_2$  son poids moléculaire, 162,23 g. mol<sup>-1</sup>, est déterminé par Schlœsing (chimiste français) en 1847. Adolf Pinne élucida la structure de la nicotine et parvint à la structure développée connue aujourd'hui en 1895. Les premières études du métabolisme de la nicotine eurent lieu pendant les années 1950, et c'est en 1981 que la première synthèse énantiosélective de la **(S)-Nicotine**, la nicotine naturelle, est réalisée. La synthèse énantiosélective de la **(R)-Nicotine** a lieu en 2000 (**Solomon , 1990**).

#### II.4.1.2. Définition

La nicotine est un Alcaloïde du tabac synthétisée dans les racines du plante de tabac et migre ensuite dans les feuilles, est une base, incolore mais brunissant par oxydation, et qui donne son odeur au tabac (**Henriek , 1864**).

La nicotine est un liquide volatile; Il se volatilise en suspension avec des particules de goudrons des que la cigarette est allumée (**Jeanne , 2011**).

La nicotine n'est pas cancérigène (cause de cancer) par elle-même, n'est pas une substance dangereuse du tabac fumé mais l'agent responsable de l'installation et du maintien de la dépendance (**Rose et al ., 2010**).

La nicotine est un liquide incolore, jaunissant à l'air. Sa densité est voisine de celle de l'eau à laquelle elle se mêle en toutes proportions Attention, la nicotine est souvent utilisée sous forme de bi tartrate, poudre blanche de masse moléculaire = 462,5 mg. Ceci peut conduire à des erreurs d'interprétation de doses exprimées en mg (**Jeanne, 2011**).

Le bi tartrate contient un tiers seulement de nicotine pour deux tiers d'acide tartrique. Il serait préférable de transformer en quantité de nicotine-base, ou mieux d'utiliser les moles pour éviter toute confusion (Jeanne, 2011).

#### II.4.1.3. Propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques

C'est une base faible ( $PK_a=7,9$ ). A pH alcalin, au dessus de pH 8,5 à 9, elle est pratiquement entièrement sous forme libre, non ionisée. Elle est alors miscible à l'eau et soluble dans les graisses (Vickery & Pucher, 1929).

Sous cette forme, elle traverse donc facilement la surface lipidique des membranes cellulaires, la peau. A pH acide, elle se dissocie et devient hydrosoluble. L'ion entouré d'une couronne d'eau ne peut alors traverser les membranes que par leurs pores hydrophiles. L'absorption est donc beaucoup plus difficile. Au pH 7,4 de l'organisme, 30% environ est sous forme libre, comme le montre la courbe de dissociation en fonction du pH (Figure 07) (Vickery & Pucher, 1929).

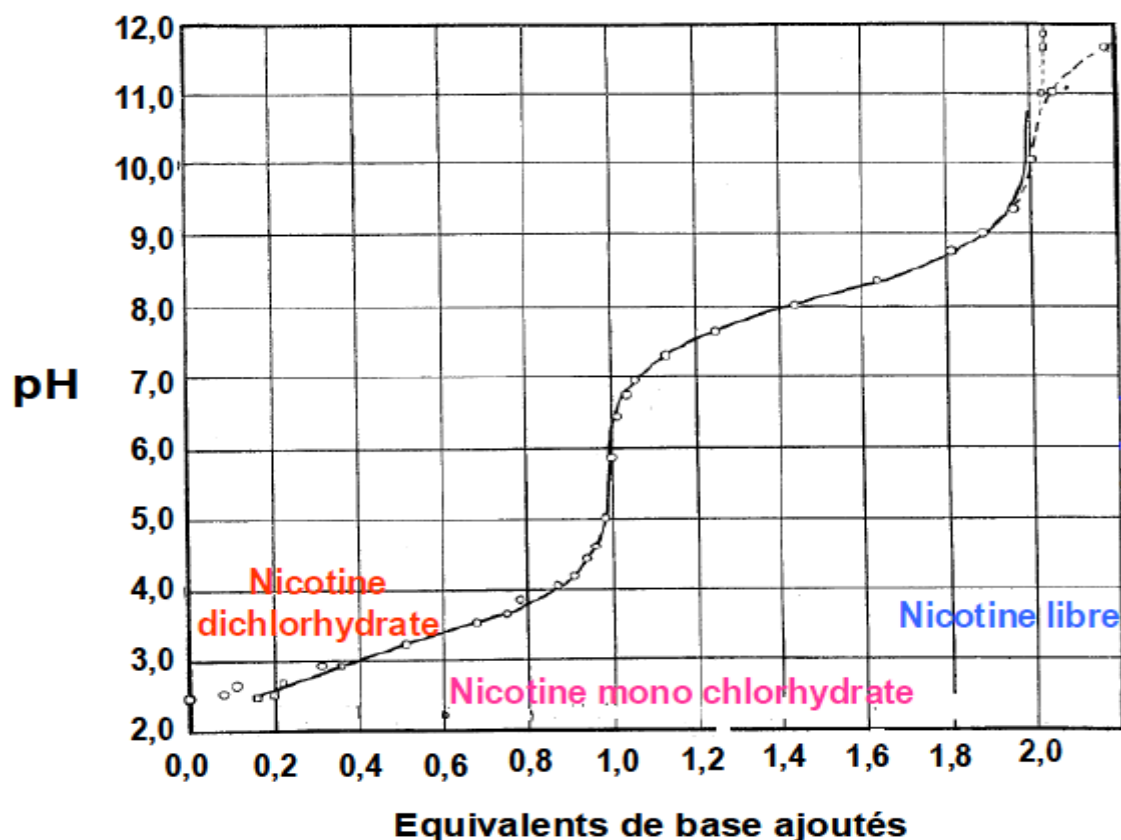


Figure 08 : Dissociation de la nicotine en fonction du pH (Vickery & Pucher, 1929).

**Tableau II** : propriétés physiques et chimiques de la nicotine (Cohen *et al.* , 1989).

propriétés physiques	propriétés chimiques
Formule brute : C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Masse molaire : 162,2316±0,0094 g·mol <sup>-1</sup> C74, 03%, H8, 7%, N17, 27%	T° fusion : -80°C T° ébullition : 247°C Solubilité : dans l'eau : miscible Masse volumique : 1,0097g ·cm <sup>-3</sup> ; 5,60 par rapport à l'air

#### II.4.1.4. Propriétés pharmacocinétiques

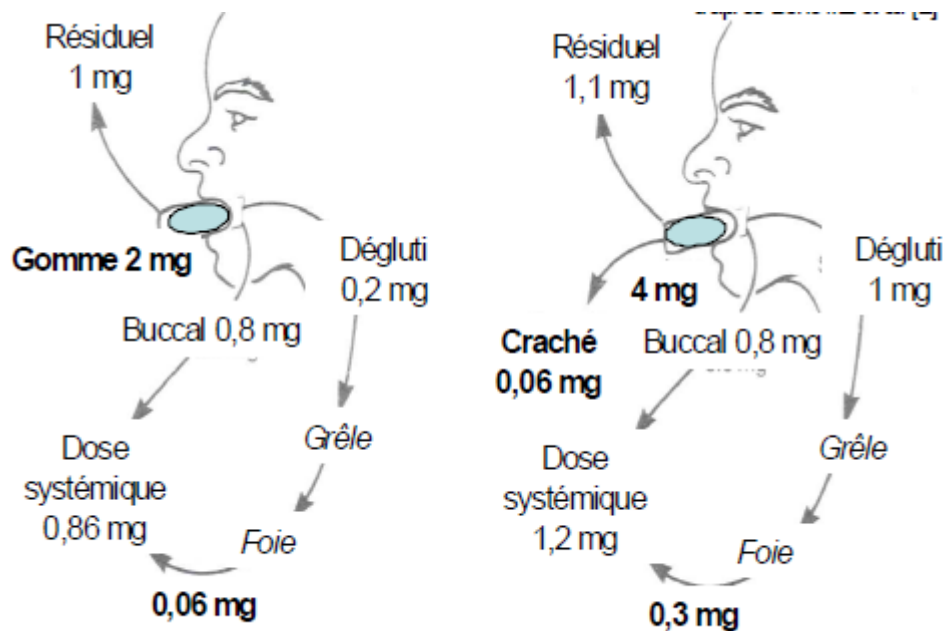
##### ➤ Absorption

- **Absorption digestive** Ingerée, la nicotine est mal absorbée dans le milieu acide de l'estomac, mais bien absorbée par l'intestin grêle. Bien que je n'aie trouvé aucun travail sur le sujet, la fraction libre devrait préférentiellement suivre le trajet des graisses et rejoindre directement le poumon par le canal thoracique. La fraction ionisée est absorbée par la veine porte et traverse le foie.

Une grande partie est alors captée et métabolisée par les hépatocytes, et n'arrive donc pas dans la circulation générale (**Benowitz *et al.* , 1987**).

Cet effet dit "de premier passage hépatique" est cependant loin d'être absolu comme on le dit trop généralement. Ainsi, quelle que soit la dose absorbée, un tiers environ arrive dans la circulation générale, sans qu'on puisse dire si c'est par la voie du canal thoracique ou par une efficacité incomplète de la détoxification hépatique (**Benowitz *et al.* , 1987**).

Toute la technologie développée pour trouver les meilleures formes galéniques d'administration de la nicotine repose sur l'idée d'éviter sa destruction par le foie lors du premier passage hépatique. Il fallait donc trouver des voies d'administration drainées par des veines court circuitant le système porte. Ainsi les veines de la bouche, des fosses nasales, les veines cutanées amènent le sang directement aux veines caves et au cœur droit (**Benowitz *et al.* , 1987**).



**Figure 09 :** Absorption de nicotine à partir de gommes à 2 et 4 mg (**Benowitz et al ., 1987**).

- **Absorption pulmonaire**

Le mieux d'ailleurs est que la nicotine arrive directement dans les veines pulmonaires et au cœur gauche, d'où il part immédiatement par les artères vers le cerveau. C'est ce que réalise le fumeur. L'absorption pulmonaire est très rapide du fait de la grande surface alvéolaire. On a beaucoup insisté sur les 7 à 9 secondes que met la nicotine d'une bouffée inhalée pour arriver directement au cerveau. Un pic de nicotémie serait ainsi renouvelé à chaque bouffée, réalisant des "shots" cérébraux répétés de nicotine. Ils sont considérés comme d'importance capitale pour l'établissement et l'entretien de la dépendance, et expliqueraient le succès de la cigarette (**Rose et al ., 2010**).

Cependant, la tomographie à positrons a montré que de tels pics n'existaient pas au niveau cérébral (**Rose et al ., 2010**).

La nicotine marquée s'accumule très progressivement pour atteindre un maximum en 5 minutes environ (**Rose et al ., 2010**).

Le pH de fumée des cigarettes blondes, où dominent les tabacs non fermentés, est plutôt acide, autour de 6,5. La fermentation des cigarettes brunes dégage de l'ammoniac qui alcalinise leur fumée, autour de 7,5 ou plus. L'absorption buccale étant théoriquement plus importante lorsque le pH est plus élevé, on aurait pu penser que la fumée des brunes serait moins profondément inhalée (**Rose et al ., 2010**).

Il n'en est rien. Le dosage du CO alvéolaire montre que l'inhalation est identique quel que soit le pH de la fumée. La surface de la muqueuse buccale (environ 200 cm<sup>2</sup>) ne représente que 1/5000 de l'énorme surface alvéolaire (100 m<sup>2</sup>). C'est beaucoup trop faible pour qu'une meilleure absorption au niveau de la bouche puisse faire une quelconque différence.

L'élimination urinaire de cotinine montre que l'absorption de nicotine est également identique, que l'on fume des blondes ou des brunes (Cohen *et al.*, 1989).

Une idée largement répandue est que le pH de la fumée augmenté du fait de l'ammoniaque, favorisant la forme libre de nicotine, augmenterait la pénétration de la nicotine dans le cerveau. Elle est scientifiquement absurde. En effet, le pouvoir tampon du plasma est considérable absorbée est instantanément tamponnée au pH 7 entre nicotine libre et nicotine ionisée que soit le pH de la fumée (Cohen *et al.*, 1989).

➤ **Autres voies d'absorption**

La fumée des cigares (pH ≥ 8) irritante et difficilement inhalée. est absorbée à travers la muqueuse buccale. Malgré la richesse en nicotine, l'absorption est lente, et exige une consommation prolongée (Cohen *et al.*, 1989).

L'absorption de la nicotine des tabacs à mâcher ainsi que des gommes médicamenteuses est elle aussi lente et nécessite un contact prolongé. Plus rapide est l'absorption de la prise ou des sprays nasaux par la muqueuse nasale, sans atteindre cependant la rapidité de l'absorption pulmonaire (Figure 9). L'absorption cutanée est lente, et technologie des timbres à la nicotine. Cette lenteur d'absorption permet d'assurer une administration très prolongée Mais on a observé des accidents graves lors de contacts massifs avec des solutions concentrée (Cohen *et al.*, 1989).

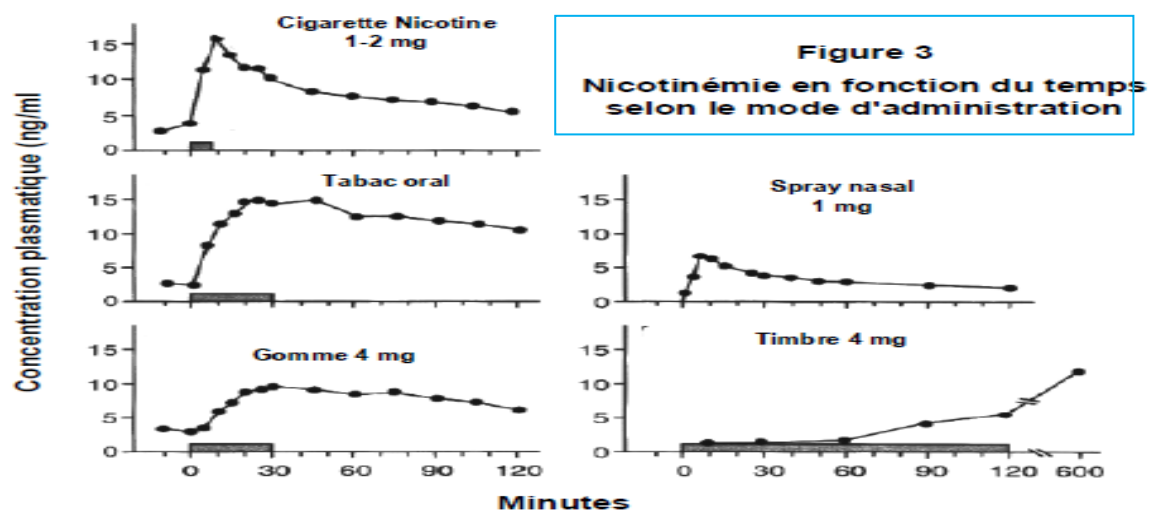


Figure 10 : nicotinémie en fonction du temps selon le mode d'administration (Cohen *et al.*, 1989).

Après absorption rapide telle que peut la réaliser l'absorption pulmonaire ou une injection intraveineuse, trois phénomènes gouvernent le taux de nicotine dosable dans le plasma (**Cohen et al ., 1989**).

D'abord l'uniformisation de sa concentration dans le sang, qui donne des variations imprévisibles dépendant des conditions circulatoires. Puis la diffusion dans tout le liquide extracellulaire et la pénétration dans les cellules, enfin l'élimination par destruction hépatique ou élimination rénale (**Cohen et al ., 1989**).

Les deux premiers facteurs interviennent rapidement après l'absorption, si bien que les concentrations sont très variables dans la première demi-heure suivant une injection (**Cohen et al ., 1989**).

La nicotine absorbée diffuse très rapidement Cela paraît invraisemblable, puisque expliquer cette discordance, il faut admettre que la nicotine quitte rapidement le plasma pour se concentrer dans certaines structures qui ont pour elle une grande affinité, lipides surtout certaines structures spécifiques, récepteurs (**Cohen et al ., 1989**).

➤ **Métabolisme :**

Représente la voie majeure de métabolisation de la nicotine (80%-90%). Celle-ci est faiblement métabolisée au niveau des poumons et des reins (**Klesges et al ., 1989**). Une faible partie est éliminée sans métabolisation dans les urines, mais la majeure partie est métabolisée dans le foie par le cytochrome p450 2A6 et par l'aldéhyde oxydase en divers métabolites dont la cotinine, le nicotine glucuronide et le nicotine N-oxyde. Le taux de la conversion de nicotine en cotinine est d'environ 72%, cet important taux de conversion confère à la cotinine la propriété très intéressante d'être un excellent marqueur biologique du tabagisme pour étudier la biotransformation de la nicotine chez l'homme. Mais ce taux présente de grandes variations individuelles (55à92%) (**Farnello et al ., 1998 ; Robert , 1998 ; Larrenendy et al ., 2004**).

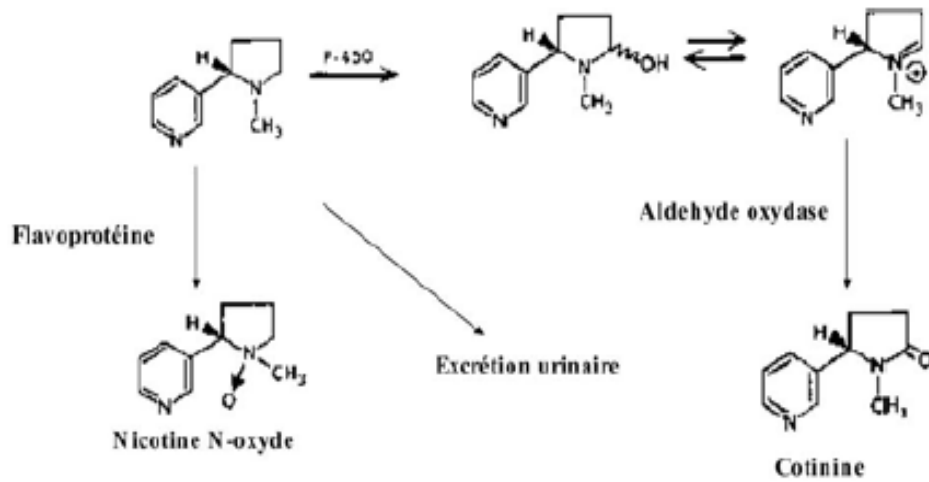


Figure 11 : Principales voies métaboliques de la nicotine (Farnello *et al.* , 1998 ; Robert , 1998 ; Larrenendy *et al.* , 2004).

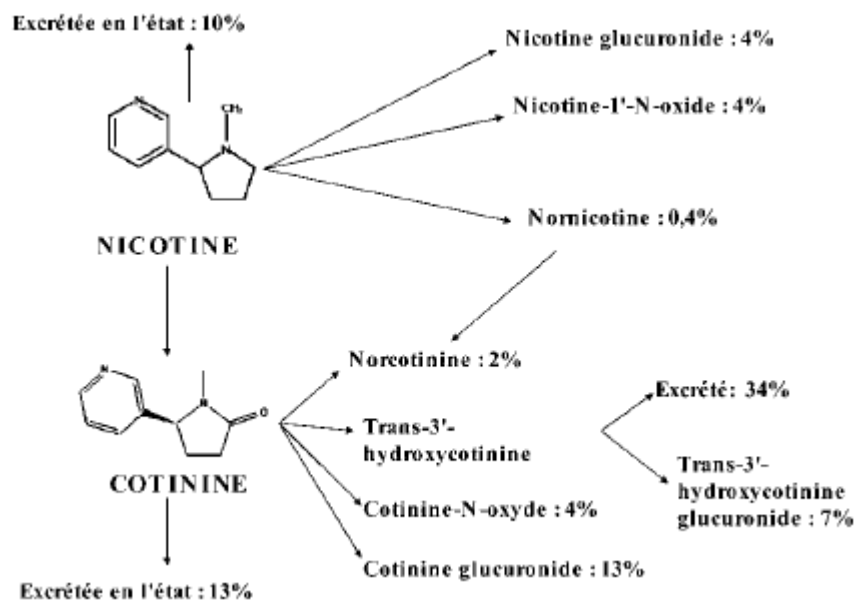


Figure 12: Métabolisme de la nicotine (Farnello *et al.* , 1998 ; Robert , 1998 ; Larrenendy *et al.* , 2004).

**➤ Elimination**

La nicotine est éliminée progressivement de l'organisme par deux voies: directement et par destruction métabolique par le foie. L'élimination rénale représente environ 10% de l'élimination totale. Elle dépend du pH. Lorsqu'il est alcalin, la nicotine est sous forme non ionisée, et donc très facilement réabsorbée par le tube rénal après sa filtration glomérulaire. Cette voie est donc diminuée si les urines sont alcalines. Certains ont ainsi préconisé de boire des eaux minérales bicarbonatées pour freiner la consommation de tabac, aider à l'arrêt et améliorer l'efficacité des médicaments nicotiques. La concentration plasmatique de nicotine diminue très rapidement au départ, du fait du grand volume de diffusion. Mais la diminution se ralentit et représente plus que l'élimination. La courbe de décroissance prend alors une allure exponentielle, comme pour tous les phénomènes d'élimination (**Cohen et al ., 1989**).

**La demi-vie d'élimination** est le temps nécessaire pour que la concentration diminue de moitié. Elle est d'environ 2 heures. C'est-à-dire que si un fumeur se couche à 22h après une dernière cigarette, sa nicotémie à 8h du matin ne sera plus que de 3% de celle au coucher (**Cohen et al ., 1989**).

On estime qu'une substance est en général pratiquement éliminée. Un fumeur de 20 cigarettes par jour fume donc en moyenne une cigarette toutes les 15 minutes. Quand il se réveille, il n'a pratiquement plus de nicotine dans le sang. La cigarette augmente la nicotémie, mais la concentration atteinte est relativement faible, donc l'élimination peu importante. Les concentrations sont plus élevées et ainsi, au cours de la matinée, la nicotémie augmente par paliers. Aux alentours de midi, la concentration est en général suffisamment élevée pour que l'élimination équilibre les apports. S'installe alors un plateau. Un niveau satisfaisant étant atteint, la consommation est en général plus faible que le matin, se contentant de compenser l'élimination. Les niveaux atteints varient énormément selon les fumeurs et la nicotine médicamenteuse (**Cohen et al ., 1989**).

## II.4.2. Monoxyde carbone

### II.4.2.1. Présentation, Nature

Le CO est un gaz toxique qui provient d'une combustion incomplète. Il est difficilement décelable car c'est un gaz incolore, inodore et sans saveur. Avec sa densité de 0,97 (diffusion rapide dans l'atmosphère), il forme avec l'air un mélange très toxique. (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

### II.4.2.1. Formation

Le CO est formée le plus souvent lors de la combustion incomplète de toutes les variétés de carbone et de produits riches en carbone.

Cette situation s'observe quand :

- La quantité d'oxygène est insuffisante (pièce calfeutrée, aération insuffisante, entrée d'air bouchée) (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).
- L'appareil de chauffage ou cuisson présente un dysfonctionnement
- L'évacuation d'air est insuffisante (conduit mal raccordé, cheminée bouchée, ...)

La production de CO peut se rencontrer lorsqu'il y a conjugaison des situations citées ci-dessus,

- le tabagisme : chaque cigarette fumée émet environ 50 mg de CO,
- les incendies,
- une voiture qui tourne dans un garage (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

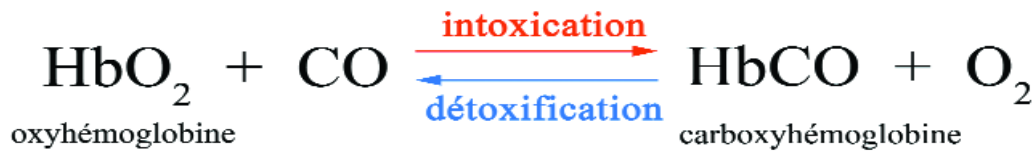
### II.4.2.2. Effets sur la sante humaine

Le CO, dangereux car non décelable, a un effet toxique même à des concentrations en volume très faibles, en exposition prolongée. Le CO est principalement un poison sanguin. Absorbé par les poumons lors de la respiration, il passe rapidement la barrière alvéolo-capillaire. Une fois dissous, il se fixe sur l'hémoglobine pour former une molécule stable : la carboxyhémoglobine (HbCO) (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

L'hémoglobine (Hb) s'associe préférentiellement avec CO plutôt qu'avec l'oxygène, et cette fixation est irréversible.  $\text{Hb} + \text{CO} \rightarrow \text{COHb}$

L'effet est d'autant plus important que l'affinité de l'hémoglobine pour le CO est 230 fois plus forte que pour l'oxygène. L'hémoglobine, privée de son oxygène ne peut plus jouer son rôle de transporteur d'oxygène (des poumons vers les tissus) (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

De plus, le CO déplace l'oxygène de sa combinaison avec l'hémoglobine (appelé oxyhémoglobine, HbO<sub>2</sub>) et entraîne donc de l'anoxémie (baisse de l'oxygène sanguin), puis une asphyxie qui peut être mortelle (**Geronimi, 2000 ; Viala, 1998**).



Cette réaction est réversible ; l'oxygène (O<sub>2</sub>) peut agir sur la carboxyhémoglobine (HbCO) pour déplacer le CO de sa combinaison et reformer de la HbO<sub>2</sub>. C'est pour cette raison que le traitement de l'intoxication oxycarbonée comporte en premier lieu une oxygénothérapie (caisson hyperbar par exemple). Cette réaction chimique ainsi que la précédente vont entraîner une hypoxie<sup>3</sup> (**Geronimi, 2000 ; Viala, 1998**).

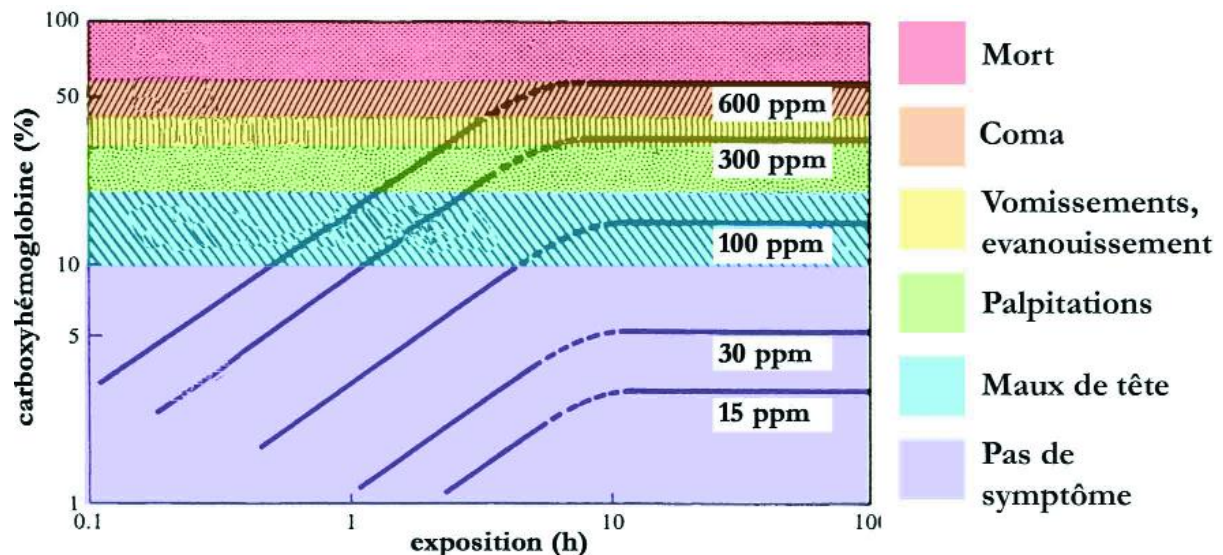
La gravité de l'intoxication dépend de la quantité de CO fixée par l'hémoglobine. Elle est donc liée :

- non seulement à la concentration de CO dans l'air,
- mais également à la durée d'exposition - et au volume respiré.

Les enfants qui par exemple ont une respiration plus rapide, ainsi que les personnes pratiquant une activité physique présenteront un taux de carboxyhémoglobine plus élevé.

La proportion d'hémoglobine transformée en carboxyhémoglobine ne devrait pas dépasser 1 % chez un adulte en bonne santé. Le tabagisme peut quant à lui induire un taux de carboxyhémoglobine élevé (le taux moyen chez un fumeur étant de 4 %). Dès que le taux de carboxyhémoglobine (HbCO) atteint 5 %, des effets peuvent être visibles au niveau du système nerveux et des modifications peuvent apparaître au niveau du flux sanguin et de la fréquence cardiaque et pulmonaire. A un taux supérieur à 15 % de HbCO l'intoxication se traduit par des nausées, des vertiges ou, plus grave, un évanouissement (**Geronimi, 2000 ; Viala, 1998**).

La mort survient quand le taux d'HbCO atteint environ 66 %. L'exposition est détectable par mesure du taux sanguin de carboxyhémoglobine, du taux de monoxyde de carbone dans l'air exhalé ou du taux de CO dans l'air de la pièce (**Geronimi, 2000 ; Viala, 1998**).



**Figure 13 :** Symptômes de l'intoxication au CO en fonction de l'exposition et de la concentration en HBCO (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

Parmi les constituants de la fumée du tabac, le monoxyde de carbone (CO) est un gaz particulièrement nocif. Le CO passe très rapidement du poumon vers la circulation sanguine où il entre en compétition avec l'oxygène de l'air pour former la carboxyhémoglobine (HbCO). La carboxyhémoglobine du sang veineux est corrélée au taux de CO dans l'air expiré. Le CO accélère le phénomène d'infarctus et d'artérite<sup>1</sup>. Il intervient dans l'altération de la paroi des artères. Il est source d'hypoxie<sup>2</sup> quelquefois sévère. L'HbCO d'un fumeur est de 5 à 10 %, celle d'un non-fumeur de 1 à 2 % (Geronimi, 2000 ; Viala, 1998).

Le CO est éliminée par voie pulmonaire. Sa demi-vie<sup>3</sup> est courte, de l'ordre de 4 à 6 heures.

Au terme de 3 jours d'arrêt du tabagisme les chiffres sont ceux d'un non-fumeur. Le taux de CO dans l'air expiré est proportionnel au nombre de cigarettes fumées et dépend également de l'espace temps entre la dernière cigarette fumée et ce dosage. Il varie donc au cours de la journée (Geronimi, 2000 ; Viala, 1998).

Chez le non-fumeur le taux de CO est inférieur ou égal à 5 ppm (particules par million). Chez le fumeur, le taux est souvent supérieur ou égal à 20 ppm pour un fumeur de 20 cigarettes mais peut aller jusqu'à 70 ppm et plus (Geronimi, 2000 ; Viala, 1998).

La mesure du CO est possible avec un analyseur spécifique. C'est un appareil fiable, facile d'utilisation (le sujet souffle dans l'appareil après une apnée de 15 secondes, les résultats est immédiat) (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998). Cette mesure a 3 utilités :

- C'est un marqueur de l'activité tabagique (elle permet de vérifier l'abstinence du sujet au cours du sevrage).

- C'est aussi un moyen d'estimation de la consommation qui entre en ligne de compte dans le dosage d'un traitement pas substituts nicotiques
- Elle sert enfin à renforcer la motivation du patient en lui donnant un repère.

#### **II.4.2.3. Les symptômes sont différents selon le type d'intoxication :**

Les premiers symptômes de l'intoxication sont les seuls signaux d'alarme. Ceux-ci sont des maux de tête, une vision floue, des malaises légers, des palpitations, souvent imputés à tort à d'autres états pathologiques (indigestion). Si les concentrations de CO sont élevées, l'intoxication se traduit par des nausées, des vomissements, des vertiges ou, plus grave, un évanouissement puis la mort (Figure 12) (**Geronimi , 2000 ; Viala , 1998**).

La gravité de l'intoxication dépend de la quantité de CO fixé par l'hémoglobine. Elle est donc liée à plusieurs facteurs : non seulement à la concentration de CO dans l'air, mais également à la durée d'exposition et au volume respiré (**Geronimi , 2000 ; Viala , 1998**).

##### **II.4.2.3.1. Intoxication aiguë**

L'intoxication aiguë est due à une exposition à de fortes doses de CO sur un laps de temps assez court. L'intoxication peut être foudroyante ou progressive selon les cas. L'intoxication aiguë est suspectée dès que la proportion de carboxyhémoglobine est supérieure à 15 %. Elle se manifeste au début par une atteinte nerveuse et par une sensation de malaise général. L'intoxiqué a ensuite une céphalée croissante, des vertiges, des bourdonnements d'oreille, des troubles de la vision et de l'audition (**Geronimi , 2000 ; Viala , 1998**).

Il a tendance à somnoler et sa respiration devient difficile. La torpeur l'empêche de s'alarmer.

Survient ensuite une impotence musculaire aux membres inférieurs et d'autres malaises. Si l'intoxication se prolonge, l'intoxiqué perd connaissance et tombe dans le coma. Si ce dernier n'est pas secouru, l'issue est fatale. Si l'intoxication n'a pas été trop profonde, les troubles sont réversibles et disparaissent avec la réoxygénation. Dans le cas contraire, des lésions graves et irréversibles peuvent être causées à certains tissus (principalement nerveux et cardiaques) (**Geronimi , 2000 ; Viala , 1998**).

II.4.2.3.2 .Intoxication chronique

L'intoxication chronique, parfois appelée intoxication à long terme est induite par des faibles concentrations de CO sur des périodes de temps répétées. Cette forme d'intoxication est signalée par la persistance d'un taux de carboxyhémoglobine supérieur aux taux habituels (généralement compris entre 2 % et 15 %). La symptomologie de cette intoxication est particulière, les troubles entraînés n'étant pas spécifiques et pouvant aussi bien être considérés comme les séquelles d'une intoxication aiguë. Dans une majorité des cas, l'intoxication chronique est caractérisée par une asthénie, des céphalées et des vertiges, auxquelles s'associent parfois des troubles digestifs, des palpitations et de l'angoisse. Le CO a une action sur le système nerveux central, des modifications psychomotrices ou sensorielles peuvent également apparaître, ainsi que des modifications de l'acuité visuelle (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

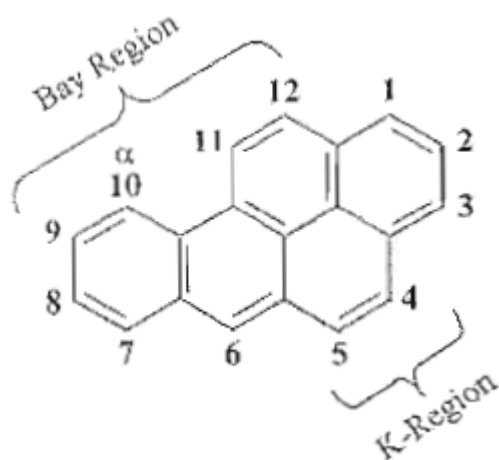


Figure 14: Symptômes et effets sur la santé du CO : intoxications aiguë et chronique (Geronimi , 2000 ; Viala , 1998).

### II.4.3. Le benzo(a)pyrène

#### II.4.3.1. Définition

Le B(a)P fait partie de la classe des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HM). Ces derniers comprennent deux ou plusieurs noyaux aromatiques unis, où des noyaux adjacents partagent deux ou plusieurs atomes de carbone (Figure 14). Le B(a)P est un composé chimique solide qui a un poids moléculaire de 252.32 g/mol, a une solubilité (Log P) égale à 6 et a un point de fusion de 179°C; il est soluble dans les hydrocarbures aromatiques, cependant sa solubilité dans l'eau est faible (0,2 à 6,1 mg/L). Il est constitué de deux régions qui sont des sites de réactions chimiques (**Miller & Romos, 2001**) (voir Figure 14). La région k est la région comprise entre le quatrième et cinquième carbone. Cette région est une zone de grande densité électronique et de haute activité métabolique. La région baie est la région comprise entre le neuvième et le douzième carbone. Elle est considérée comme étant très réactive. La biotransformation du B(a)P génère des métabolites qui sont impliqués dans la génotoxicité. Il est classé dans le groupe 1 (cancérogène) par l'Agence internationale pour la recherche sur le cancer (**Thyssen et al., 1981**).



**Figure 15 :** Structure moléculaire du benzo(a)pyrène (**Miller & Romos, 2001**).

### II.4.3.2 .Sources d'expositions au benzo(a)pyrène

Le B(a)P est généré lors la combustion de la matière organique. Ainsi, on le retrouve dans la suie et les fumées de toutes origines (gaz d'échappements, fumée de cigarette etc.) (**Bisson *et al.* , 2006**). À 300 oC et 600 oC, il est, un produit de combustion incomplète. Les sources d'exposition peuvent être environnementales ou professionnelles.

L'être humain est en contact permanent avec les HAP se retrouvant dans l'environnement. Il y'a des sources naturelles d'émission de HAP qui sont essentiellement dues aux éruptions volcaniques et aux feux de forêts. Le B(a)P est également synthétisé par des plantes, des bactéries et des algues (**Bisson *et al.* , 2006**).

La présence de HAP dans l'environnement est aussi d'origine anthropique, ceux-ci émanent de la circulation automobile, du chauffage domestique, du tabagisme et surtout de l'alimentation (lait, viandes fumées, etc), du raffinage du pétrole, du schiste, utilisation du goudron, du charbon, du coke, des revêtements routiers, des échappements des machines à moteur thermique, des huiles moteur et des carburants (**Bisson *et al.* , 2006**).

En milieu de travail, les personnes les plus particulièrement exposées au B(a)P sont les travailleurs dans les alumineries, les pompiers et les ouvriers du secteur de la pétrochimie et de la sidérurgie. Plusieurs études épidémiologiques en milieu professionnel ont démontré une association tangible entre cancer et HAP. En effet, ces derniers sont responsables de l'atteinte chez l'homme de plusieurs formes de cancers (**Luch , 2005**). Par exemple, plusieurs maladies telles que le cancer de l'oesophage et de l'estomac ont été reliées à l'ingestion d'aliments fumés (**Thyssen *et al.* , 1981**).

### II.4.3.3.Toxicocinétique du B(a)P

#### II.4.3.3.1.Absorption et distribution

Le B(a)P est rapidement absorbé par les voies respiratoire, digestive ou cutanée. Il a été démontré sur un modèle *in vitro* de peau d'origine humaine que 3 % d'une dose d'exposition de B(a)P est absorbé après 24 heures (**Picard, 2005**). On retrouve la substance dans les canaux lymphatiques thoraciques 3 h après une administration intragastrique (**Bonnard *et al.* , 2007**). Lorsqu'inhalé, son absorption est rapide, cependant, sa vitesse d'absorption dépend de la taille des particules sur lesquelles le B(a)P est adsorbé (**Busbee *et al.* , 1990**). Étant lipophile, le B(a)P traverse les barrières pulmonaire et intestinales par diffusion passive. Il est ensuite rapidement distribué via le sang dans les ganglions lymphatiques thoraciques, le tractus respiratoire, les reins, le cerveau, les testicules et la rate (**Bonnard *et al.* , 2007**). Les LDL facilitent le transport du B(a)P vers les fibroblastes et empêchent son

absorption vers les hépatocytes contrairement au HDL qui le transporte vers le foie (**Busbee et al ., 1990**). Le

B(a)P est aussi stocké dans les glandes mammaires et les organes riches en graisses. Par la suite, il est graduellement libéré des graisses vers la circulation sanguine (**Busbee et al ., 1990**).

#### II.4.3.3.2 Métabolisme du benzo(a)pyrène

Une fois dans la cellule, le B(a)P est métabolisé en différents métabolites: époxydes, hydrodiols, phénols, ainsi qu'en métabolites conjugués au glutathion, au sulfate et à l'acide glucuronique. Le B(a)P est biotransformé et activé par trois voies enzymatiques (Figure 15) (**Jiang et al ., 2007**) :

1) la voie des peroxydases (e.g., cytochrome P450 peroxydase) pour former les radicaux cations,

2) la voie de formation des diol-époxydes qui se fait par les cytochromes P450/1A1/1B1 par la mono-oxygénation et par les époxydes hydrolase.

3) la voie de formation des o-quinones qui se fait par les cytochromes P450/1A1/1A2/1B1/ par la mono-oxygénation, par les époxydes hydrolases, et par les l'aldocéto réductases (AKRs).

L'activation métabolique du B(a)P peut se faire par oxydation monoélectronique engendrant ainsi un radical cation capable de se lier avec des macromolécules pour initier le processus de carcinogenèse. Elle peut être aussi le résultat d'une oxydation biélectronique ou d'une monooxygénation. Ces deux dernières sont à l'origine de la formation de métabolites oxygénés (**Cavaliere et al ., 1985**). Ces métabolites oxygénés peuvent former l'ultime carcinogène. Ils peuvent aussi subir successivement une série de réactions d'oxydations monoélectroniques, d'oxygénation ou d'estérification qui leurs confèrent à la fin un pouvoir génotoxique (**Cavaliere et al ., 1985**).

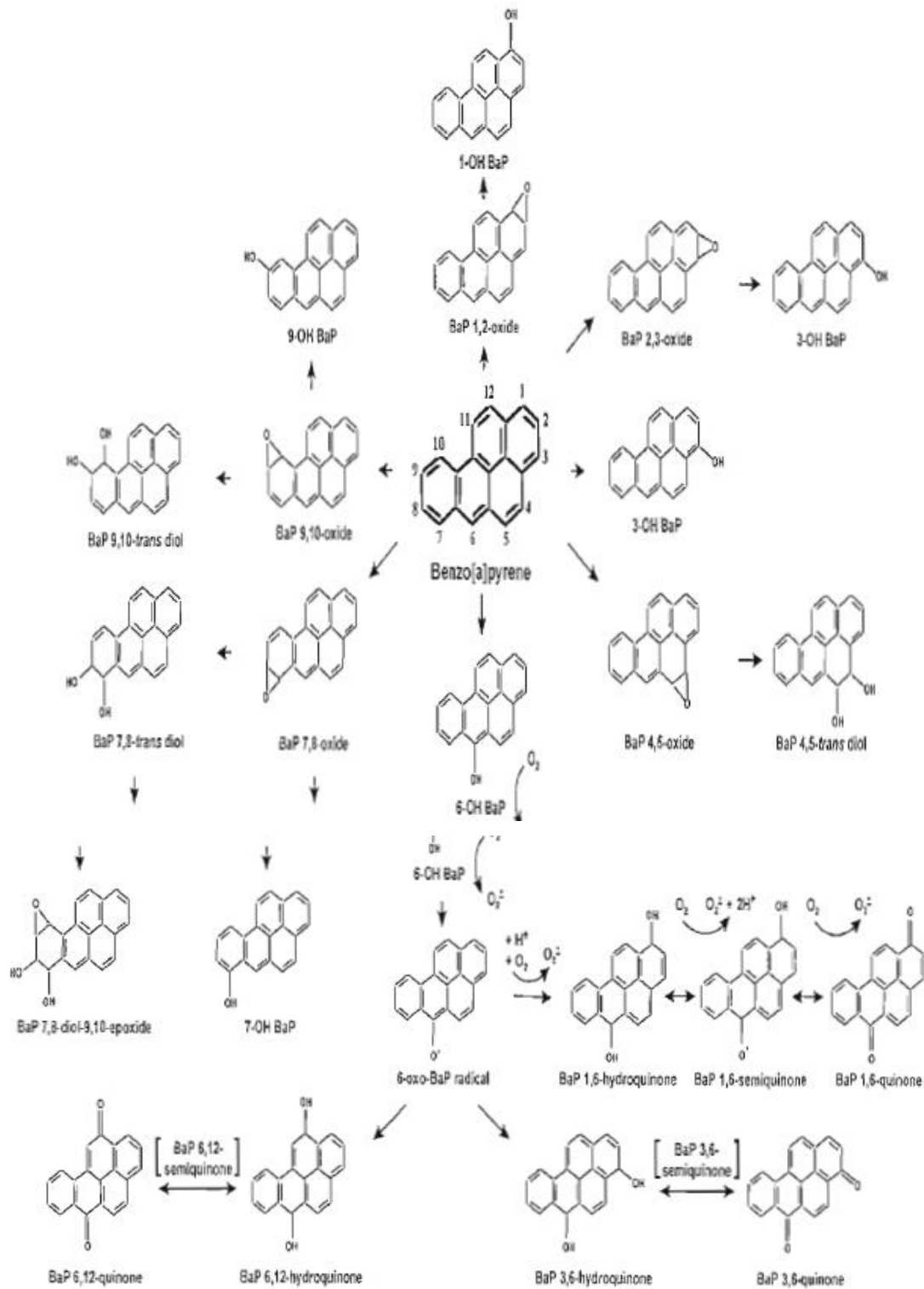


Figure 16 : Métabolisme du B(a)P (Miller & Romos, 2001).

Les radicaux cations et les diol-époxydes vicinaux de la région baie du B(a)P (i.e., région entre les carbone 10 et 11 du B(a)P (Figure 2); sont formés respectivement par oxydation mono et biélectronique (**Cavaliere et al ., 1985**). La formation de radicaux cations se fait selon le potentiel d'ionisation du HAP (il faut qu'il soit inférieur à 7.35 eV). C'est la localisation de la haute charge du radical cation qui va déterminer la réactivité spécifique au nucléophile ainsi que, la sélectivité de la substitution nucléophile.

#### II.4.3.3.3.élimination

Dépendamment de la voie d'exposition, le système hépatobiliaire et le tractus gastrointestinal sont les principales voies d'élimination du B(a)P (**Bonard et al ., 2007**). Après une administration orale de 100 mg/kg de B(a)P chez le rat, 45% de la dose est excrétée dans les urines et les fèces après 24 h. Comparativement aux diols, un taux élevé de métabolites hydroxylés est détecté dans les urines et les fèces (**Ramesh et al ., 2001**). La majorité de métabolites sont éliminées dans les fèces (70 à 75% d'une dose sous-cutanée chez la souris), la voie d'excrétion urinaire est cependant mineure (**Ramesh et al ., 2001**). Les métabolites polaires et phénoliques représentent respectivement 60 et 20% de la radioactivité détectée dans les urines. Il est estimé que 80 % du B(a)P métabolisé (métabolites polaires et dérivés phénoliques) est éliminé par la voie urinaire. La forme non métabolisée de B(a)P reste cependant très faible (**Yamazaki & Kakiuchi , 1989**). L'élimination est moins rapide dans les tissus faiblement perfusés comparée à ceux richement perfusés (**Bartosek et al ., 1984**). Il n'y a pas d'élimination via l'air expiré (**Bonard et al ., 2007**).

#### II.4.3.4.Les effets du Benzo(a)pyrène

##### II.4.3.4.1 Benzo(a)pyrène et cancers

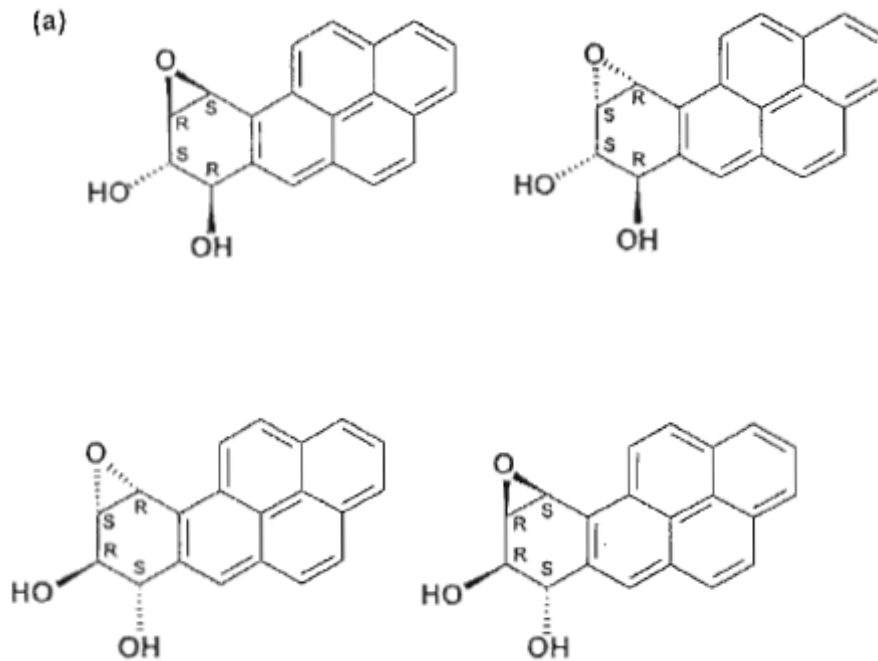
Au XVIII<sup>ème</sup> siècle, le cancer du scrotum des ramoneurs de Londres a été l'un des premiers cancers professionnels identifiés. Il était dû à l'absorption cutanée des HAPs se trouvant dans la suie. Les cancers de la vessie, des voies nasales ou du poumon surviennent après inhalation d'HAP provenant de la combustion incomplète de matériaux organiques.

On trouve plus fréquemment ce genre de cancers chez les pompiers, les travailleurs du secteur de la pétrochimie et de la sidérurgie. Une exposition par inhalation de  $45.6 \text{ mg/m}^3$  de B(a)P s'avère toxique et cancérigène (cancers du larynx, pharynx et oesophage) chez les hamsters (**Thyssen et al ., 1981**). Chez les travailleurs en aluminerie exposés aux HAP, un risque accru de décès par cancer (risque relatif de 6.9), en particulier broncho-pulmonaire, a été mis en évidence par des études épidémiologiques rétrospectives (**Bertrand et al ., 1987**).

#### II.4.3.4.2. Mode d'action du benzo(a)pyrène dans la cancérogénèse

Durant la phase I, les CYP1A1 et CYP1B1 oxydent le B(a)P et forment initialement les catabolites époxydes et les diol-époxydes du B(a)P dont certains sont des cancérigènes ultimes. Ceux-ci se lient de façon covalente aux sites nucléophiles de l'ADN, généralement au niveau du groupe 2-amino de la guanine pour former l'adduit (+)-trans-anti-BPDE-N2-dG responsable de mutations au niveau des bases G:C (**Nagalingam et al ., 2005**). La liaison covalente se fait aussi au niveau de l'adénine dans le groupement amino N6 (**Ling et al ., 2004**).

Les adduits à l'ADN du B(a)P peuvent conduire à des mutations qui provoquent le cancer. Parmi, les métabolites réactifs et mutagènes du B(a)P on retrouve les (+)-7R,8S,9S,10R-antibenzo(a)pyrène-7,8-dihydrodiol-9, 10-époxyde (BPDE), (+)-anti-BPDE et le H7S,8R,9R,10S énantiomère, H-anti-BPDE (**Miller & Romos, 2001**) (Figure 16). Les altérations de l'ADN se produisent par la liaison en position C10 de l'anti-BPDE et à la position N2 de la guanine. Ainsi, 4 stéréoisomères d'adduits sont formés: le 10S (+)-trans-anti-BPDE-N2-dG, le 10R (+)-cis-anti-BPDE-N2-dG, le 10R (-)-trans-anti-BPDE-N2-dG et le 10S (-)-cis-antiBPDE-N2-dG (**Zhao et al ., 2006**). Ces derniers compromettent la réplication de l'ADN en particulier le 10S (+)-trans-anti-BPDE-N2-dG qui perturbe la structure en double hélice et bloque les ADN polymérase induisant ainsi des mutations (**Ling et al ., 2004; Hsu et al ., 2005**). Cependant certaines ADN polymérase de la famille Y contournent l'adduit [BP]dG durant la réplication *in vitro* (**Hsu et al ., 2005**). Ce contournement peut être non mutagène ou mutagène selon le type de polymérase. La polymérase (Pol) K provoque une réplication fidèle après contournement de l'adduit BPDE-dG, alors que la Pol  $\epsilon$  induit une réplication infidèle en insérant un nucléotide à l'opposé de la lésion (enor-prone replication) (**Ling et al ., 2003 ; Zhao et al ., 2006**). La Pol  $\delta$  insert fidèlement le dTMP à l'opposé de l'adduit BPDE-dA mais requiert la Pol K pour mettre en place les amorces afin de compléter la réplication après la lésion (**Ling et al ., 2003**).



**Figure 17 :** Structure chimique des 4 stéréo-isomères d'adduits BPDE-ADN (Miller & Romos, 2001).

Concernant la formation d'adduits à l'ADN, il a été démontré que le métabolite diol époxyde (7,8 diol-9,10-époxyde) en est principalement responsable lors de traitement de cultures cellulaires d'embryons d'hamsters (Sims *et al.*, 1974) et de fibroblastes (Daudel *et al.*, 1975) au B(a)P. On a aussi observé la formation d'adduits avec les acides nucléiques au niveau de la peau de souris, des kératinocytes humains ainsi que les hépatocytes de rat, une réaction qui était principalement liée au métabolite 9-hydroxy-4,5-époxyde (Jernstrom *et al.*, 1978).

Les adduits sont aussi responsables de la formation de tumeurs chez la souris (Buening *et al.*, 1978). En plus des adduits, le BPDE-2 induit l'apoptose chez les cellules de type HepG2 (Chen *et al.*, 2003). Le (+)-trans-anti-BPDE-N2-dG résiste à la réparation par le NER (nucleotide excision repair) contrairement au (+)-cis-anti-BPDE-N2-dG qui lui est réparé par ce dernier (Jia *et al.*, 2009). La résistance à la réparation de l'ADN, ainsi qu'une synthèse translésionnelle à travers l'adduit volumineux provoque, une transversion (mutation qui engendre le remplacement d'une base purique par une base pyrimidique, ou vice versa) des bases G->T (Luch, 2005). Les transversions G->T sont associées au cancer du poumon chez les fumeurs.

D'autres mécanismes mutagènes peuvent être la cause de développement de cancers. En effet, les adduits formés par le B(a)P peuvent provoquer des mutations ou altérations au niveau des gènes suppresseurs de tumeurs ou d'oncogène comme le RAS (Luch, 2005). Ceci contribue à la transformation de cellules normales en cellules tumorales (Luch, 2005). Ce processus est appelé l'initiation tumorale en carcinogénèse. Le B(a)P agit aussi via un récepteur nucléaire (récepteur Aryl Hydrocarbon) qui favorise l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques et dans la prolifération cellulaire. Le B(a)P est aussi impliqué dans la promotion tumorale (Luch, 2005).

#### II.4.3.4.3. Mode d'action du B(a)P via le récepteur Aryl Hydrocarbon

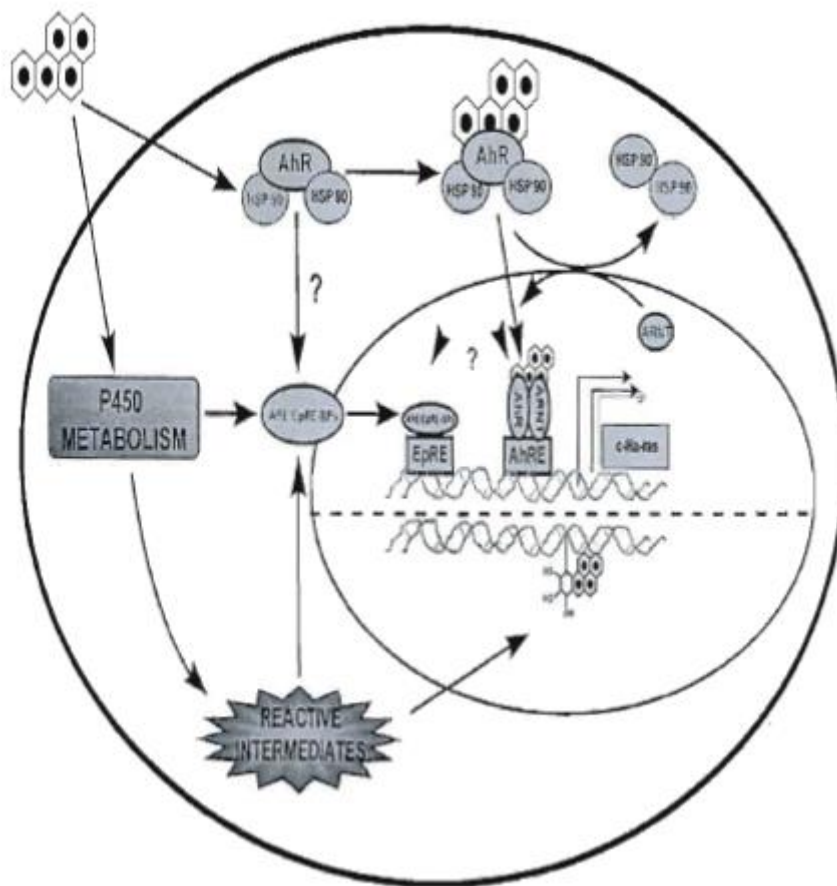
La présence de HAP dans le cytoplasme engendre une induction spécifique d'enzymes métabolisant les xénobiotiques. L'*Aryl hydrocarbon Receptor* (AhR), un récepteur cytoplasmique qui a une grande affinité pour le B(a)P (Figure 17), se lie à diverses protéines cytoplasmiques telles que les Heat shock protein 90 (Hsp90). La liaison de l'AhR à l'Hsp 90 permet au récepteur cytoplasmique de reconnaître de manière spécifique les HAP.

Dès son entrée dans la cellule, le B(a)P se lie à l'AhR. Ceci provoque le détachement du Hsp 90 et permet à l'AhR d'aller vers le noyau. Il en résulte ainsi une accumulation nucléaire du complexe B(a)P-AhR. Toujours dans le cytosol ce complexe se lie à l'*Aryl hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator* (ARNT) (Luch, 2005).

Ce nouveau complexe forme un hétérodimère qui joue dans le noyau le rôle de facteur de transcription. En se liant au récepteur XRE (xenobiotique response element), il induit l'expression de plusieurs enzymes dont la mono-oxygénase P450 de la famille IA et certains isoformes de la OST. Il affecte aussi l'expression de différents facteurs et gènes:

- ✓ Des facteurs impliqués dans la croissance et la différenciation cellulaire comme l'activateur et l'inhibiteur du plasminogène type 1 (PAI1), la métallothionéine II (MT-II), le HEF1 (human enhancer of filamentation 1), la OEF (guanine nucleotide exchange factor), la COT ou MAP3K8 (Mitogen-activated protein kinase 8) et l'oncogène KRAS (Luch, 2005) (Figure 17).
- ✓ Des facteurs proapoptotiques comme le TNF (tumor necrosis factor, (superfamilles 3, 6, 8, 9, 10)) et la HSP40 (heat-shock protein 40) sont réprimés (Luch, 2005) (Figure 17).
- ✓ Des gènes jouant un rôle dans le cycle cellulaire des cellules sont surexprimés (ex: cycline B2) ou réprimés (ex: la NEK2). L'initiation tumorale se fait après la formation

d'adduit à l'ADN qui engendre des altérations au niveau du gène suppresseur de tumeur TP53 (tumor protein 53) ou de l'oncogène RAS (Luch, 2005) (Figure 18).



**Figure 18:** Mode d'action du B(a)P via le récepteur *Aryl Hydrocarbon* (Miller & Romos, 2001).

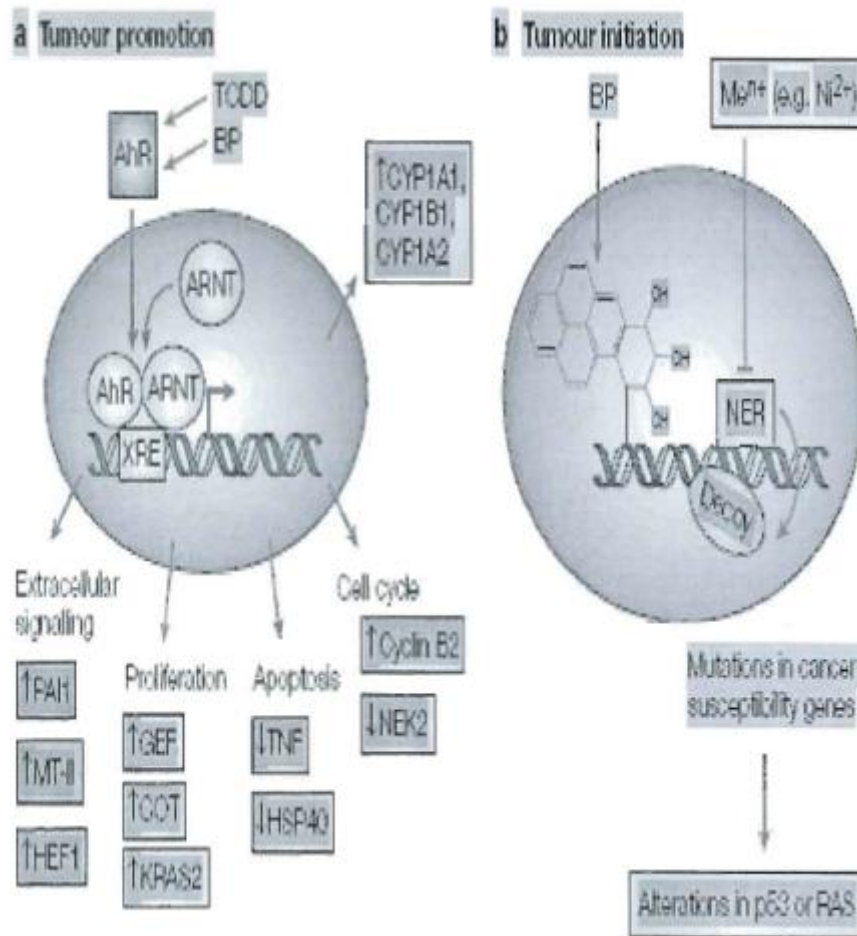


Figure 19 : Mécanisme d'action du B(a)P (Luch, 2005).

#### II.4.3.4.4. Autres effets pathologiques du benzo(a)pyrène

Dépendamment de la voie d'exposition, le B(a)P provoque différentes pathologies. Il peut causer des lésions au niveau du rein ainsi que des perturbations sur les profils sériques immunologiques (p.ex. : réduction d'immunoglobines sérique IgG, IgA, IgM et augmentation de IgE sérique) (Szczeklik *et al.*, 1994). De fortes doses orales (120 mg/kg/jour chez la souris) provoquent des altérations au niveau de la muqueuse gastro-intestinale par réduction de l'activité de la carboxylestérase (Nousiainen *et al.*, 1984), des effets hématopoïétiques sévères, de la néphrotoxicité et des effets sur la reproduction (Nousiainen *et al.*, 1984).

## II.5. Les effets du tabac sur l'organisme

Au delà de ses conséquences mortelles à long terme largement connues le tabac a des effets néfastes sur l'organisme. Il limite nos capacités physiques et peut nous empêcher de vivre pleinement une vie active (**Godon & Col, 1987**). Le tabagisme affecte notamment le système respiratoire, le système cardio-vasculaire, les muscles mais aussi le cerveau.

### II.5.1. Les effets du tabac sur le système respiratoire

Adaptation de la respiration à l'effort physique. Lors d'exercices physiques, les muscles consomment beaucoup plus d'oxygène qu'au repos. Cette demande supplémentaire d'oxygène est satisfaite de deux manières complémentaires:

- une accélération du rythme respiratoire associée à une augmentation du volume de l'air qui passe dans les poumons.
- une augmentation du volume du sang qui parcourt d'une part les poumons, d'autre part les muscles en fonctionnement. Ce dernier phénomène est assuré par l'adaptation du système capillaire et par l'augmentation du débit cardiaque, c'est-à-dire de la quantité de sang éjecté par le cœur chaque minute (**Godon & Col, 1987**).

Elle est elle même obtenue grâce à une accélération du rythme cardiaque proportionnelle à l'intensité de l'effort (cette accélération pouvant atteindre 190 battements à la minute constitue le mécanisme le plus important) et à une augmentation de la quantité de sang éjecté à chaque contraction (**Mariebe , 1993**).

### II.5. 2. Les effets du tabac sur la capacité respiratoire

Inhaler la fumée de cigarette expose en premier lieu les voies respiratoires. Au passage de la fumée, les irritants comme l'acétone attaquent les muqueuses respiratoires et les goudrons qui comprennent des substances cancérigènes ont un effet toxique sur les tissus et les muqueuses. Cette combinaison entraîne la toux et enflamme les bronches c'est la bronchite aiguë (**Perna et al ., 1999**). La nicotine s'associe à ces effets en provoquant à chaque inhalation une constriction des voies respiratoires et une altération des alvéoles pulmonaires ce qui diminue la capacité respiratoire d'autant plus que le monoxyde de carbone se combine à l'hémoglobine dans le sang au détriment de l'oxygène. Il en résulte un manque d'oxygène au niveau des poumons et de l'organisme entier qui ne peuvent plus fonctionner efficacement c'est l'hypoxie. Ces divers effets de la fumée de cigarette se traduisent par une augmentation

de la fréquence respiratoire au repos et un essoufflement plus rapide à l'effort (**Dautzenberg B, 2000**).

En comparant les performances lors des courses à pied une étude a montré que la capacité d'endurance des fumeurs est bien moins grande que celle des non fumeurs. Les fumeurs s'épuisent plus rapidement et courent significativement plus lentement que les non fumeurs (**Song & Coll, 1998**).

### **II.5.3. Action du tabac sur le revêtement bronchique**

Dès les premières bouffées de tabac, les cils bronchiques se paralysent. L'ascenseur muco-ciliaire devient incapable de faire remonter les particules et les sécrétions bronchiques vers la bouche pour y être éliminées. En cas de prolongation du tabagisme, les cils disparaissent progressivement rendant ces cellules incapables de jouer leur rôle dans l'évacuation des sécrétions et de toutes les particules polluantes contenues dans l'air inspiré. La toux devient le seul recours pour éliminer mucus et particules (**Dautzenberg , 2000**).

Parallèlement sous l'effet de la fumée du tabac, les cellules glandulaires bronchiques sécrètent des quantités excessives de mucus. En fin de nuit, au moment du réveil l'amoncellement de sécrétions dans le poumon durant la nuit obligera le fumeur à tousser durant quelques minutes pour assurer l'évacuation des crachats permettant une « toilette bronchique ». Cette toilette bronchique matinale évite l'encombrement, si le fumeur prend soin de bien cracher en toussant (**Dautzenberg , 2000**).

La poursuite de l'irritation va transformer profondément le revêtement muqueux bronchique et provoquer une transformation dite « métaplasie » de la muqueuse. Les cellules au lieu de rester sur une seule couche, vont s'empiler. Cette métaplasie fait le lit du cancer des bronches (le plus souvent appelé cancer du poumon). La métaplasie met plus d'un an pour disparaître après l'arrêt total du tabac. Cependant les rétinoïdes à fortes doses peuvent accélérer cette réparation (**Dautzenberg , 2000**).

**II.5.4. Action du tabac sur la fonction respiratoire**

L'encombrement des bronches par les sécrétions du fumeur participe à gêner l'écoulement d'air dans les bronches. L'arrêt du tabagisme, même pour une période courte de 48 heures, diminue parfois très rapidement et de façon importante les sécrétions qui obstruent les voies respiratoires. Cette diminution des sécrétions est facilement observable lors d'un examen par endoscopie bronchique, même après seulement 24 heures d'un arrêt du tabac. Les dix ou quinze premières années du tabagisme, la fonction respiratoire reste proche de la normale. Des examens respiratoires fins, comme la mesure de la partie terminale de la courbe expiratoire débit/volume, mesurée au cours d'un spiromètre peuvent cependant déceler des anomalies. Après une dizaine d'années de tabagisme, s'installe une atteinte plus importante des petites bronches que l'on peut déceler par un simple examen spirométrique, en particulier par la mesure de la baisse du volume expiratoire maximum expiré en une seconde (VEMS). Le fumeur commence à se rendre compte par lui même de cette perte du souffle. Cette atteinte des petites bronches responsable de la perte du souffle n'est pas toujours parallèle à l'atteinte des grosses bronches responsables de l'augmentation des sécrétions. Elle peut parfois être révélatrice. A ce stade, la perte de la fonction respiratoire n'est plus réversible, c'est le stade de bronchite chronique obstructive (**Koning & Letac , 1985 ; Dautzenberg , 2000**). L'arrêt du tabagisme stabilise la fonction respiratoire à un stade d'autant moins dégradé que l'on s'est arrêté de fumer tôt. A un stade de plus, l'obstruction chronique des petites bronches provoque un emphysème de type Centro-lobulaire : les centres des lobules pulmonaires sont soufflés. Les parois des alvéoles disparaissent diminuant le volume d'air qui peut être inspiré (la capacité vitale) au profit d'une augmentation de la quantité d'air qui reste en fin d'expiration dans le poumon (le volume résiduel) l'essoufflement va devenir de plus en plus intense, gênant le moindre effort, puis vont apparaître les signes de retentissement sur le cœur droit (cœur pulmonaire chronique) liés à la difficulté des cavités droites du cœur à chasser le sang à travers le poumon malade (**Dautzenberg , 2000**). En cas de bronchite chronique tabagique, l'obstruction bronchique, quand elle survient, altère d'abord les débits expiratoires de fin d'expiration (**Vickery & Pucher, 1929**).

**II.5.5. Les effets du tabac sur le cœur et les vaisseaux**

Si le lien entre tabac et cancer est bien connu, en revanche les risques de maladies cardiovasculaires associées au tabagisme sont souvent ignorés ou minimisés. Pourtant, le tabac constitue bel et bien l'un des plus importants facteurs de risque cardiaque (**Gauthier et al ., 1972**). Parmi les 5 millions de décès prématurés attribuables au tabagisme en 2000 dans le monde, on compte deux fois plus de morts par accident cardiovasculaire que par cancer du poumon (**Ezzati & Lopez , 2003**).

Le tabagisme est souvent le responsable essentiel des infarctus du myocarde du sujet jeune et, parmi les sujets de moins de 45 ans victimes d'un infarctus, plus de 80% sont fumeurs (**Mariebe , 1993**).

**Le tabac agit par 3 mécanismes sur les vaisseaux**

- ✓ par facilitation de l'atteinte de la paroi artérielle par athérosclérose,
- ✓ par facilitation des spasmes artériels,
- ✓ par facilitation des phénomènes de thrombose.

Pour tenter de compenser l'hypoxie produite par le monoxyde de carbone, l'organisme augmente le débit circulatoire. Cependant avant même d'effectuer un effort physique, la fréquence cardiaque augmente et cet effet peut être mesuré après avoir fumé deux cigarettes, mais aussi le tabac augmente la pression artérielle systémique par l'intermédiaire d'une libération de catécholamines, mais également par action directe sur les parois des artères. (L'athérosclérose favorise également l'Hypertension artérielle et les cardiopathies hypertensives) (**Cohen et al ., 1989**).

Les atteintes vasculaires, et en particulier l'artérite des membres inférieurs sont aussi très liées au tabagisme : en cas de sevrage l'artérite s'arrête d'évoluer, en cas de poursuite de l'intoxication, la maladie continue d'évoluer pouvant nécessiter des pontages ou conduisant même à des risques d'amputations (**Cohen et al ., 1989**).

- **L'évolution se déroule en 3 degrés d'aggravation**

D'abord des crampes et des douleurs à la marche, limitant le périmètre de marche.  
Puis des douleurs survenant en position couchée (douleurs dites de décubitus).

Enfin gangrène conduisant à l'amputation (**Gauthier et al ., 1972**).

Le tabac agit sur les artères coronaires par dépôt d'athérome, par action sur la musculature artérielle coronaire. Les spasmes coronaires sont bien visibles en coronarographie lors de la consommation d'une cigarette ou l'absorption de nicotine (test de détection). Alors on constate que le fumeur atteint donc plus rapidement qu'un non fumeur un rythme cardiaque très élevé et sa capacité de récupération est bien moindre de même sa performance maximale est altérée (**Congres, 1995**).

### **II.5.6. Les effets du tabac sur le système nerveux**

Un certain nombre de substances présentes ou produites secondairement par la combustion du tabac est capable de passer à travers la membrane qui sépare le sang et le liquide céphalo-rachidien qui baigne le cerveau (**Godon & Col, 1987**).

Des recherches récentes ont montré que la fumée du tabac contient aussi des produits qui bloquent la dégradation de neuromédiateurs comme la dopamine, la sérotonine et la noradrénaline. La dépendance au tabac serait donc due à un effet synergique entre le blocage de la dégradation de ces neuromédiateurs et l'action de la nicotine qui agit en imitant l'action d'un neuromédiateur naturel, l'acétylcholine qui se lie aux récepteurs nicotiniques. Celui-ci change d'abord de conformation, ce qui ouvre le canal ionique qui lui est associé pendant quelques millisecondes. Ceci entraîne l'entrée des ions sodium qui vont dépolariser la membrane et exciter le neurone. Puis, le canal se referme et le récepteur nicotinique devient transitoirement réfractaire à tout neurotransmetteur (**Godon & Col, 1987**). C'est cet état de désensibilisation qui va être artificiellement allongé par l'exposition continue à la nicotine.

La dépendance au tabac, qui se développe très rapidement par la suite, vient du fait que les récepteurs nicotiniques sont présents sur les neurones de l'aire tegmentale ventrale qui projettent leurs terminaisons dans le noyau accumbens. Les stimulations nicotiniques répétées chez les fumeurs augmentent donc la libération de dopamine dans le noyau accumbens. Cependant, le fumeur chronique maintient, entre chaque cigarette, une concentration de nicotine suffisante pour désactiver les récepteurs et pour ralentir leur renouvellement. D'où la tolérance et la réduction du plaisir ressenti avec l'accoutumance (**Landers & Deba, 1992**).

Après une brève période d'abstinence la concentration basale de nicotine redescend et permet à une partie des récepteurs de retrouver leur sensibilité. Le retour de tous ces

récepteurs à un état fonctionnel hausse la neurotransmission cholinergique à un niveau anormal affectant l'ensemble des voies cholinergiques du cerveau. Le fumeur éprouve alors de l'agitation et de l'inconfort qui le conduit à fumer une nouvelle cigarette (**Perna et al ., 1999**).

Une autre substance encore mal identifiée de la fumée du tabac inhibe la monoamine oxydase B (MAO B), une enzyme chargée de dégrader la dopamine recapturée. D'où une concentration plus élevée de dopamine dans le circuit de la récompense qui contribue aussi à la dépendance du fumeur (**Godon & Col, 1987**).

- **A court terme**, le tabac provoque:

-une certaine excitation et parfois des céphalées.

-coupe partiellement l'appétit. Cet effet anorexigène du tabac explique en partie la prise de poids qui survient fréquemment quand on cesse l'intoxication tabagique. L'appétit redevenant normal, la tendance est de manger plus.

-des nausées (en particulier en début de tabagisme).

- **A long terme**, ce sont les artères du cerveau qui s'altèrent et s'obstruent progressivement. Ces altérations sont source d'accidents vasculaires cérébraux qui se caractérisent par:

-des troubles de conscience,

-des vertiges,

-des troubles de la parole,

-des troubles des sens,

-des paralysies diverses.

Ils peuvent ou non régresser en quelques jours ou quelques mois (**Godon & Col, 1987**).

**II.5.7. Les effets du tabac sur la fertilité**

Les conséquences spécifiques du tabac sur la reproduction féminine et masculine sont évaluées depuis une vingtaine d'années seulement et de ce fait peu diffusées à la population générale. Pourtant, plusieurs études ont mis en évidence des effets délétères de la fumée de cigarette pendant les périodes préeet post-conceptionnelles, chez la femme mais également chez l'homme, depuis les gamètes jusqu'aux enfants des fumeurs (**Hers , 2004**). Cet impact négatif du tabac est retrouvé aussi bien en reproduction naturelle qu'en Assistance médicale à la procréation.

Chez la femme, le taux de grossesses est diminué, le nombre de fausses couches augmenté, et la réserve ovarienne altérée.

Chez l'homme, les paramètres spermiologiques sont modifiés et la qualité nucléaire des spermatozoïdes est diminuée.

Le stress oxydatif généré par certains composants du tabac pourrait être un des mécanismes en cause. Les conséquences sur la descendance des fumeurs sont encore mal évaluées: pathologies de l'arbre respiratoire, mais aussi surmortalité, baisse de la fécondité et apparition de certains cancers dans les premières années de vie. Il paraît donc indispensable de proposer une prise en charge active des fumeurs (femmes et hommes) et de favoriser le sevrage tabagique avant tout projet parental (**Elsevier , 2006**).



### III. Matériels et méthodes

**III.1. Population étudiée :** Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital de kenchela.



**Photographie 01 :** Etablissement hospitalier 120 lits

**III.2. Prélèvement et préparation des échantillons :** Le prélèvement sanguin s'effectue par une ponction veineuse d'un sujet à jeun. Ce sang prélevé est placé dans des tubes secs sans anticoagulant ou des tubes héparines, puis centrifugés à 3000 tours par minutes. Les tubes sont numérotés et portent les noms des patients.



**Photographie 02 :** Recueil et transport des prélèvements sanguins

### III.3. Matériels utilisés

- Tubes de prélèvement avec K2 EDTA 5.4mg comme anticoagulant
- Tubes de prélèvements lithium héparine
- Aiguilles de prélèvements de marque
- Adaptateurs pour prélèvements
- Garrot
- Tampon d'alcool
- Portoirs
- Une centrifugeuse Mini sprint plus (Eppendorf)
- Deux Appareils (Automates) : un Beckman Coulter Ac T 10 d'hématologique, et Piccolo Abaxis pour la Biochimie.
- Spectrophotomètre;
- Micropipettes fixes de 500 µl et 1000 µl et 10 µl et de 50µl.
- Réactifs Pour le dosage des paramètres étudiés (cholestérol, créatinine et transaminase ; TG ; protéine total ;gly ; ),



**Photographie 03 : Centrifugation et dosage des échantillons**



**Photographie 04 : Spectrophotomètre**

### **III.4. Les Analyses biochimiques**

Il s'agit d'un ensemble de procédures chimiques permettant d'estimer les quantités des constituants des liquides biologiques (sang, urines, épanchements, sécrétions, etc..). La plupart des maladies ont en effet des répercussions sur leur composition et leur étude peut aider au diagnostic et au suivi de nombreuses maladies.

#### **III.4.1. Les transaminases hépatiques**

La fonctionnalité du foie peut être mesurée par les enzymes appelés transaminases (ASAT-ALAT) qui sont des enzymes importants de l'organisme dont le rôle est de transférer un groupe amine lors de nombreux processus chimiques se déroulant au niveau hépatique (**Tonhazy & White, 1950**).

Ils catalysent en présence d'une coenzyme, le pyridoxal-5-phosphate, le transfert des groupes d'alpha – aminés de l'acide - aspartique ou de l'alanine sur le groupe alpha-cétonique de l'acide - cétoglutarique pour produire l'acide oxaloacétique et l'acide pyruvique. Nous avons donc :

##### **III.4.1.1. L'Alanine Amino - transférase (ALAT) ou Glutamate Pyruvate transaminase**

Bien qu'abondant dans le foie, on le trouve dans le rein, le cœur, les muscles squelettiques, la rate, les poumons (**Tonhazy & White, 1950**).

Toute altération de ces organes libère des transaminases dont les valeurs normales se situent pour les ASAT entre 20 et 40 UI/l et pour les ALAT entre 20 et 40 UI/l (**Tonhazy & White, 1950**).

Une altération de la fonction hépatique résulte d'une augmentation de ces enzymes dans le sang. Les causes de l'élévation de ces enzymes peuvent être de plusieurs ordres puisque leurs origines sont nombreuses (**Tonhazy & White, 1950**).

➤ **Les causes hépatiques (avec élévation des ALAT)**

Les hépatites virales ou microbiennes, l'hépatite toxique ou médicamenteuse, alcoolique, l'insuffisance cardiaque et l'état de choc, les infiltrations hépatiques (tuberculose, sarcoïdose, lymphomes), l'obstruction veineuse (syndrome de Budd Chari), les stéatoses hépatiques aiguës (**Tonhazy & White, 1950**).

➤ **Les causes musculaires et cardiaques (avec élévation des ASAT)**

Il s'agit de l'infarctus du myocarde, les myocardites, l'arrêt cardiaque (en particulier si massage cardiaque), la chirurgie cardiaque, les injections intra musculaires répétées, les polymyosites, les dermatomyosites, l'hypothyroïdie, l'hyperthermie maligne (**Tonhazy & White, 1950**).

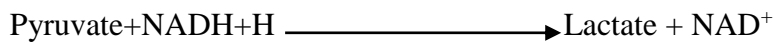
#### **III.4.1.1.1. Méthodes de dosages de l'ALAT**

L'alanine amino transférase (ALAT) est mesurée à l'aide de trois méthodes.

Deux de ces méthodes, la technique de dinitrophénylhydralazine colorimétrique (**Tonhazy & White, 1950 ; Reitman & Frankel, 1957**) et le dosage enzymatique fluorescent sont rarement utilisées (**Murray, 1989**). Une 3<sup>ème</sup> méthode enzymatique basée sur l'oeuvre de Wróbleswski et La Due (**Wróblewski & LaDue, 1956**) est la technique la plus fréquemment utilisée pour déterminer les concentrations de l'ALAT dans le sérum. Une procédure modifiée de Wróbleswski et La Due ont été proposées comme procédure recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC) (**Bergmeyer & Horder, 1980**).

La méthode développée afin d'être utilisée avec l'analyseur Piccolo Abaxis est une modification de la procédure recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC). Dans cette réaction, l'ALAT catalyse le transfert d'un groupe amine de L-alanine en

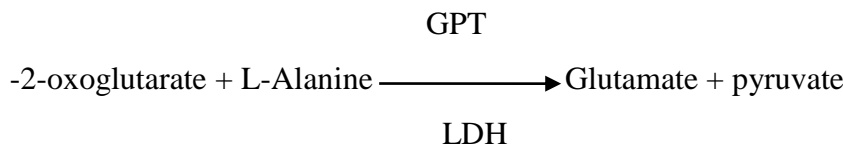
$\alpha$ -cétoglutarate afin de former du L-glutamate et du pyruvate. Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, la NADH est oxydée en NAD<sup>+</sup>, tel qu'illustré dans le plan de réaction suivant.



Le taux de variation de la différence d'absorbance entre 340 nm et 405 nm est causé par la conversion de NADH en NAD<sup>+</sup> et est directement proportionnel à la quantité d'ALAT présente dans l'échantillon.

➤ **Principe**

Détermination cinétique de l'activité Alanine-Aminotransférase. Le schéma réactionnel est le suivant :



-Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

➤ **Echantillon** : sérum.

➤ **Réactifs utilisés**

Les réactifs	Composition	Concentration
<b>R1 solution tampon</b>	Tampon Tris pH 7.5 à 30C° Alanine	100 m mol/l 500 m mol/l
<b>R2 substrat et enzymes</b>	NADH LDH Oxoglutarate	0.18 m mol/l 1200 U/l 15 m mol/l

➤ **Préparation de réactif de travail et stabilité :**

-Reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1. Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8 C°  
24 heures à 20-25 C°.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

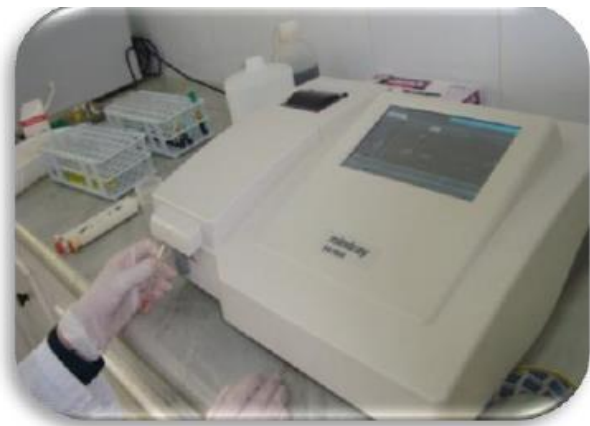
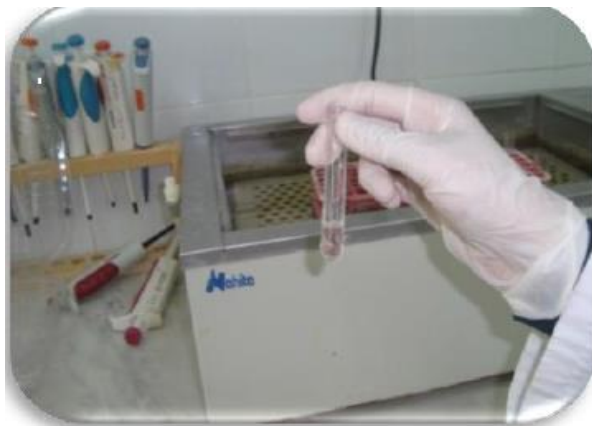
**Tableau III** : Dosage du L'ALAT

<b>Solution de travail</b>	<b>3 ml</b>
Préincuber à la température 37C°	
<b>Echantillon</b>	<b>50µl</b>
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

Activité (ALAT/GPT) UI/l =  $\Delta DO \times 1750$



**Photographie 05** : Dosage de l'ALAT.



**Photographie 06** : Lecture de l'absorbance de l'échantillon par spectrophotomètre.

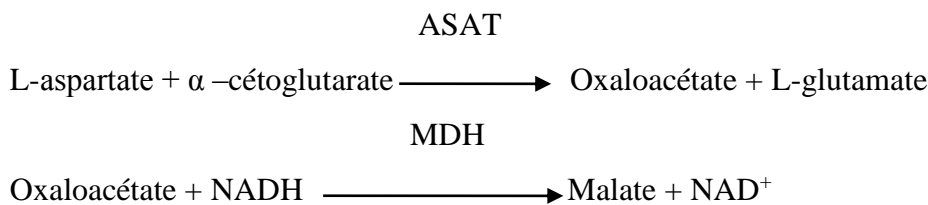
**III.4.1.2.L'Asparagine Amino-Transférase (ASAT)** ou Glutamate Oxaloacétique transaminase. Il se retrouve dans le cœur, le foie, les muscles squelettique, le rein, le pancréas, la rate, les poumons, les globules rouges.

**III.4.1.2.1.Méthodes de dosage de l'ASAT**

Le test de l'aspartate aminotransférase (ASAT) se base sur la méthode de dosage de Karmen (**Karmen , 1955**), telle que modifiée par Bergmeyer (**Bergmer, 1977**). La méthode de Référence de la Fédération internationale de chimie clinique (FICC) utilise la technique Karmen /Bergmeyer de couplage de malate déshydrogénase (MDH) et nicotinamide dinucléotide réduite (NADH) dans la détection de l'ASAT dans le sérum (**Bergmer, 1977 ; Bergmer, 1978**). Le lactate déshydrogénase (LDH) est ajouté à la réaction dans le but de réduire l'interférence causée par le pyruvate endogène.

L'ASAT catalyse la réaction de L-aspartate et  $\alpha$  -cétoglutarate en oxalate et Lglutamate.

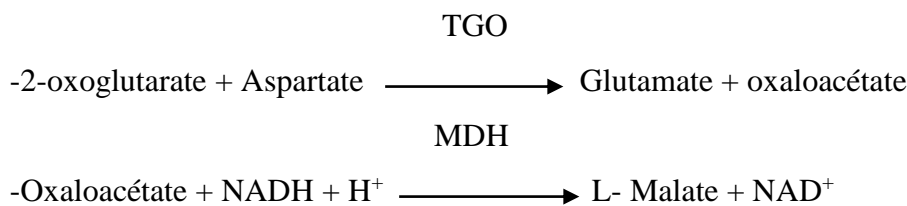
L'oxaloacétate est converti en malate et en NADH est oxydée en NAD<sup>+</sup> par le catalyste MDH (**Bergmer, 1978**).



Le taux de variation d'absorbance à 340nm/405nm causé par la conversion de NADH en NAD<sup>+</sup> est directement proportionnel à la quantité de l'ASAT présente dans l'échantillon.

➤ **Principe**

Détermination cinétique de l'activité Aspartate Aminotransférase. Le schéma réactionnel est la suivante :



-Le taux de la diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à L'activité Aspartate-Aminotransférase dans l'échantillon.

➤ **Echantillon** : sérum

➤ **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
<b>R1 solution tampon</b>	Tampon Tris pH 7.8 à 30C°	80 m mol/l
	L-Asperate	200 m mol/l
<b>R2 substrat et enzymes</b>	NADH	0.18 m mol/l
	LDH	800 U/l
	MDH	600 U/l
	Oxoglutarate	12 m mol/l

➤ **Préparation de réactif de travail et stabilité**

- Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
- Agiter bien et doucement jusqu'à elle devient homogène.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau IV : Dosage du L'ASAT**

<b>Solution de travail</b>	<b>3 ml</b>
Préincuber à la température 37C°	
<b>Echantillon</b>	50µl
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

Activité (ASAT/TGO) UI/l =  $\Delta DO$  x 175

$\Delta DO$  : C est la valeur moyenne des trois lectures

### III.4.2.L'albumine

L'albumine représente en fait plusieurs molécules qui ont des propriétés identiques. Elle représente plus de la moitié des protéines de l'organisme. C'est elle qui permet par son pouvoir oncotique de retenir l'eau dans le secteur intra vasculaire (dans le sang). Les valeurs normales de l'albumine sont comprises entre 35 et 50 g/l. Le taux d'albumine est augmenté dans tous les états de déshydratation par perte d'eau de l'organisme : diabète insipide, pertes rénales, pertes digestives, pertes cutanées (hypersudation). Il est diminué dans tous les excès d'eau de l'organisme (hyperhydratation), toutes les hémodilutions. Les diminutions de synthèse de l'albumine, se voient dans les maladies du foie (cirrhoses, hépatites aiguës), les syndromes inflammatoires importants, les dénutritions importantes. Aussi les pertes d'albumine se voient dans diverses causes de pathologies comme les glomérulonéphrites, et le syndrome néphrotique observés lors des altérations de la fonction rénale, les entéropathies exsudatives, et le syndrome de malabsorption au cours des pertes digestives, et les causes cutanées de brûlures et dermatites exfoliantes (**Webster, 1953**).

#### III.4.2.1.Méthodes de dosages de l'albumine

Les premières méthodes utilisées pour mesurer l'albumine comprennent les techniques de fractionnement et la teneur en tryptophane des globulines. Ces méthodes sont très compliquées à effectuer et n'ont pas une haute spécificité.

Deux techniques immunochimiques sont considérées comme des méthodes de référence mais elles sont coûteuses et longues. Les procédures Piccolo Abaxis basées sur les techniques de fixation de colorant sont les plus utilisées pour mesurer l'albumine. Le vert de bromocrésol (BCG) est la méthode de fixation de colorant la plus utilisée mais elle risque de surestimer la concentration d'albumine, surtout à l'extrémité inférieure de la gamme normale (**Webster, 1953**). Le pourpre de bromocréol (BCP) est le plus spécifique des colorants utilisés (**Louaderback et al ., 1914 ; Pinnel & Northam , 1978** ).

Le pourpre de bromocréol, lorsque lié à l'albumine, vire du jaune au bleu.

L'absorbance maximale varie en fonction du changement de couleur.

Surfactants

BPC+ Albumine  $\longrightarrow$  Complexe BPC-Albumine

L'albumine liée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon.

Il s'agit d'une réaction en point final mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 600 nm et 550 nm. Pinnel A E, Northam B E 1978

➤ **Principe** : Selon la fiche technique Elitech.

A pH 4.20, le vert de bromocrésol se fixe sélectivement sur l'albumine en donnant une coloration bleue.

pH 4.20

Albumine +BCG  $\longrightarrow$  complexe albumine BCG

- **Echantillon** : sérum
- **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Concentration</i>
<b>Réactif</b>	Tampon succinate, pH 4.20 Vert de bromocrésol Brij 35	87 m mol/l 0.2 m mol/l 7.35 m mol/l
<b>Etalon</b>	Albumine bovine	5 g/dl

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau V:** Dosage de L'albumine

	<i>Blanc</i>	<i>Etalon</i>	<i>Echantillon</i>
<b>Réactif (ml)</b>	310	310	310
<b>Eau distillée (µl)</b>	2	.....	.....
<b>Standard</b>	.....	2	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	2

-Mélanger et lire l'absorbance (A) après 25 secondes d'incubation, à 660 nm

➤ **Calcule :**

$$\text{Albumine (g/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ échantillon}}{(\text{A}) \text{ étalon}} \times 5$$

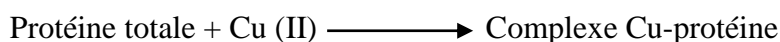
- La concentration de l'étalon = 5 g/dl

### **III.4.3. Protéine totale une protéine**

Ou aussi appelé protide, est une macromolécule composée par une chaîne (ou séquence) d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. En général, on parle de protéine lorsque la chaîne contient 100 acides aminés. Dans le cas contraire, on parle de peptides et polypeptides. Les protéines remplissent des fonctions très diverses : de catalyse, transport, communication, signalisation, reconnaissance (**Lubert et al ., 2003**). La détermination de sa valeur peut orienter les médecins à diagnostiquer les troubles suivants : Maladies du foie, des reins et de la moelle osseuse ; troubles métaboliques et nutritionnels.

#### **III.4.3.1. Méthodes de dosages de la PT**

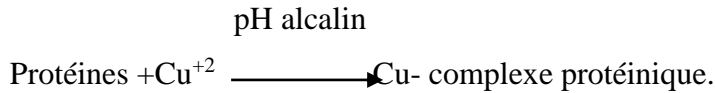
La méthode de protéine totale est une modification de la réaction de Biuret connue pour sa précision, son exactitude et sa spécificité (**Koller & Kaplin , 1989**). Développée au départ par Riegler (**Reigler , 1914**) et modifiée par Weichselbaum (**Weichselbaum , 1946 ; Doumas , 1981**) ; ont proposé une réaction du biuret comme choix de méthode de référence de protéine totale. Dans la réaction de biuret, la solution protéique est traitée à l'aide d'ions de cuivre {Cu (II) dans un milieu très alcalin. Du tartrate de sodium et de potassium et de l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher respectivement la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto - réduction du cuivre (**Wayne & Necls, 1992**). Les ions Cu (II) réagissent créant des liens peptides entre les atomes d'oxygène carbonyle et d'azote amidé afin de former un complexe coloré Cu-protéine.



La quantité de protéine totale présente dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du complexe Cu-protéine. Le test de protéine totale est une réaction en point final et l'absorbance est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550nm et 850nm (**Wayne & Necls, 1992**).

- **Principe** Selon la fiche technique Spinreact.

Les protéines de sérum forment dans un milieu alcalin avec les ions de cuivre, un complexe coloré en bleu, L intensité de couleur violette est proportionnelle à la quantité des protéines présentées dans l échantillon.



- **Echantillon** : sérum
- **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Concentration</i>
<b>Réactif de Biuret</b>	Sodium potassium tartrate	15 mol/l
	Sodium iodique	100 mol/l
	Potassium iodique	5 m mol/l
	Cuivre de sulfate	19 m mol/l
<b>Réactif Etalon</b>	Sérum bovine albumine	7 g/dl

- **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant

**Tableau VI** : Dosage de la PT

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>R (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	.....	25	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	25

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25C°.

-Mesurer l absorbance (A) de l échantillon à 540 nm et de l étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

$$\text{Concentration des protéines (g/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ échantillon}}{(\text{A}) \text{ étalon}} \times 7$$

La concentration de l étalon = 7 (g/d

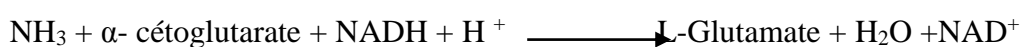
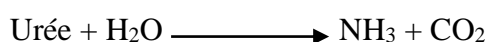
### III.4.4. L'urée

Le dosage de l'urée est l'un des dosages les plus fréquemment effectués. Il permet en une première approximation de rechercher une insuffisance rénale avec le dosage concomitant de la créatinine. Mais il existe des interférences avec l'anabolisme ou le catabolisme du patient. Les résultats normaux sont compris entre 0,15 et 0,4 g/l ou 2,1 à 6,6 mmol/l. Le taux de l'urée peut être augmenté en cas de régime riche en protéine, d'augmentation du catabolisme (fièvre, malnutrition, jeûn, effort, période post opératoire, néoplasie), d'insuffisance rénale quelle que soit son origine, chez le sujet âgé. Le taux de l'urée peut être bas en cas d'hémodilution, d'insuffisance hépatique sévère, de dénutrition ou de jeûn prolongé ( **Fles , 1982**).

#### III.4.4.1. Méthodes de dosages de l'urée

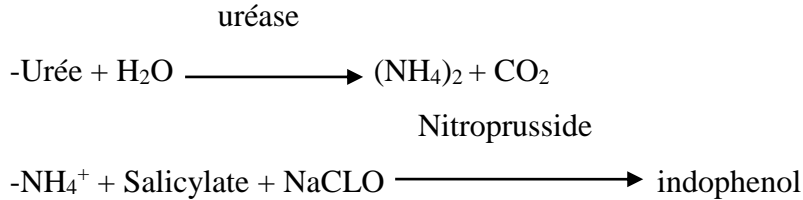
L'Urée peut être mesurée de façon directe ou indirecte. La réaction de diacétyle monoxime, l'unique méthode directe permettant de mesurer l'urée, est couramment employée, mais utilise des réactifs dangereux ( **Fles , 1982**). Des méthodes indirectes mesurent l'ammoniac crée à partir de l'urée ; l'utilisation de l'enzyme urease a augmenté la spécificité de ces tests ( **Van Slyke, 1914**). L'ammoniac est quantifié par diverses méthodes, y compris la nesslerisation (titrage par les acides), la technique de Berthelot ( **Fawcett , 1913 ; Chaney, 1962**) et des réactions enzymatiques couplées ( **Talke , 1965 ; Hallett, 1971**). Toute fois les procédures de Berthelot catalysées sont imprévisibles lors de la mesure de l'ammoniac ( **Patton, 1977**). Les réactions enzymatiques couplées sont rapides, ont une haute spécificité à l'ammoniac et sont couramment utilisées. Une de ces réactions a été proposée comme méthode de référence admissible ( **Sampson , 1980**).

Dans la réaction enzymique couplée, l'uréase hydrolyse l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone. Lors de la combinaison d'ammoniac et de 2-oxoglutarate ainsi que de nicotinamide-adénine-dinucléotide réduite (NADH), l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH) oxyde la NADH en NAD<sup>+</sup> ( **Sampson , 1980**).



➤ **Principe**

-La technique utilisée pour la détermination du taux de l urée est la méthode enzymatique utilisant l uréase selon la réaction suivante :



Les ions d ammonium peuvent réagir avec le salicylate et di hypochlorite de sodium pour donner un complexe coloré en vert, L intensité de couleur est proportionnelle à la concentration de l urée présentée dans l échantillon.

➤ **Echantillon** : sérum

➤ **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Concentration</i>
<b>R1 tampon</b>	phosphate EDTA Salicylate de sodium Nitroprusside de sodium	50 mol/l 2 m mol/l 60 m mol/l 3.2m mol/l
<b>R2 NaClO</b>	Hypochlorite de sodium Hydroxyde de sodium	140 m mol/l 150 m mol/l
<b>R3 Enzyme</b>	Uréase	3000 U/l
<b>R4 Etalon</b>	Etalon de l urée aqueux primaire	50 mg/dl

➤ **Préparation de réactif de travail (RT)**

-Dissoudre un comprimé de R3 Enzyme dans la fiole de R1.

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 4 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25C°.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau VII : Dosage de l'urée**

	<i>Blanc</i>	<i>Etalon</i>	<i>Echantillon</i>
<b>R (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	.....	10	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	10
<b>Mélanger et incuber pendant 5 min à 37C°, ou 10 min températures de 25C°</b>			
<b>R2 NaCLO (ml)</b>	1.0	1.0	1.0

-Mélanger et incuber pendant 5 min à 37C°, ou 10 min températures de 25C°.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 580 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min à 15-25C°.

➤ **Calcule** : La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration de l'urée (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ échantillon}}{(\text{A}) \text{ étalon}} \times 50$$

-La concentration de l'étalon = 50 mg/dl.

### III.4.5. La Créatinine (créatininémie)

La créatinine dans l'organisme provient de la dégradation de la créatine qui est d'une part contenue dans l'alimentation d'autre part produite par l'organisme (principalement localisée dans les muscles). La créatinine est exclusivement éliminée par les reins, ce qui en fait un très bon marqueur de la fonction rénale (**Knoll, 1970**).

Les valeurs normales sont de 7 à 13 mg/l (62 à 115 mmol/l) chez l'homme et de 5 à 10 mg/l (44 - 88 mmol/l) chez la femme. Les normes dépendent aussi du poids du patient. Le véritable marqueur de la fonction rénale est la clairance de la créatinine qui se calcule à partir de la créatininémie, du poids, et du sexe. La formule de Cockcroft :  $F_x (140 - \hat{\text{âge}}) \times \text{poids (kg)} / \text{créatinine plasmatique}$  est utilisé, F= 1,04 pour la femme et 1,23 pour l'homme.

Le taux de la créatinine peut être diminué (en cas d'hémodilution, de dénutrition sévère, dans certains cas de myopathie). Le taux de la créatinine s'élève par accumulation

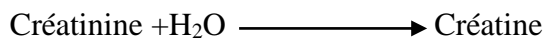
dans toutes les infiltrations rénales, par augmentation de production dans les cas de rhabdomyolyse ou de crush syndrome (**Haeckel, 1980**).

### **III.4.5.1.Méthodes de dosages de la créatinine**

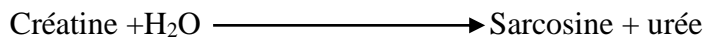
La méthode de Jaffé, introduite en 1886, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les niveaux de créatinine dans le sang. La méthode de référence actuelle combine l'utilisation de la terre à foulon (floridine) et la technique de Jaffé afin d'accroître la spécificité de la réaction (**Knoll, 1970 ; Haeckel, 1980**).

Il existe des méthodes enzymatiques qui sont plus spécifiques pour la créatine que les diverses modifications de la techniques de Jaffé (**Moss, 1975 ; Jaynes , 1982 ; Fossati , 1983**). Les méthodes qui utilisent l'enzyme créatine amidohydrolase éliminent le problème de l'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatine iminohydrolase (**Whelton, 1994**).

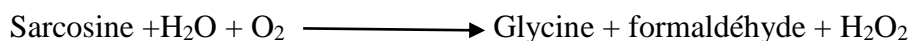
Créatinine –amidohydrolase



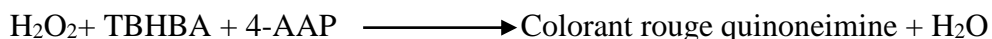
Créatine - aminohydrolase



Srcosine - oxydase



Peroxydase



Deux cuvettes sont utilisées pour déterminer la concentration de créatinine dans l'échantillon. La créatine endogène est mesurée dans la réaction de blanc, qui est soustraite de la combinaison de la créatine endogène et de la créatine formée à partir des réactions enzymatiques dans la cuvette d'essai. Lorsque la créatine endogène est éliminée des calculs, la concentration de créatinine est proportionnelle à l'intensité de la couleur rouge produite. La

réaction au point final est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550nm et 630 nm (Whelton , 1994).

➤ **Principe**

La créatinine présente dans le sérum forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide principal. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine.

- **Echantillon** : sérum
- **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Concentration</i>
<b>R1</b>	Acide picrique	17.5 mol/l
<b>R2</b>	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/l
<b>R3</b>	Etalon de la créatinine aqueux primaire	2 mg/dl

➤ **Préparation et stabilité**

- Les réactifs sont peut être à l'emploi, stable à température ambiante.
- Réactif du travail : mélanger à parts égales R1 et R2.
- Stabilité : 10 jours à 15-25 C°.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau VIII : Dosage de la créatinine**

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	.....	100	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	100

- Mélanger et lire la densité optique DO1 après 30 sec, à 492 nm.
- Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.

➤ **Calcul** : calculé pour  $\Delta DO = DO2 - DO1$  le standard et les échantillons

- La concentration de l'étalon = 2 mg/dl.
- Facture de conversion : mg/dl x 88.4 = µ mol/l.

$$\text{Concentration de la créatinine (mg/dl)} = \frac{\Delta DO \text{ Echantillon}}{\Delta DO \text{ Standard}} \times 2$$

### III.4.6. Le Glucose

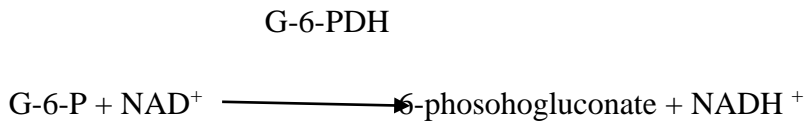
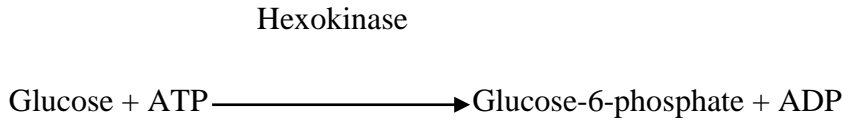
Le glucose est le principal sucre de l'organisme. C'est lui qui apporte l'énergie à la plupart des cellules. Il obéit à une régulation très précise qui fait que sa concentration reste constante alors même que les apports alimentaires sont discontinus et sa consommation variable dépendant pour une bonne part des efforts du patient. Cette régulation très précise peut être altérée au cours de certaines maladies. La glycémie à jeun permet le dépistage du diabète. Chez l'adulte les valeurs normales sont entre 0,6 et 1,10 g/l soit 3,3 à 6,16 mmol/l. On parle de diabète quand deux glycémies à jeûn sont retrouvées supérieures à 1,26g/l. Le déficit de fonction de l'insuline conduit généralement au diabète. Les hyperglycémies > 1,26 g/l sont dues, au diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant, les maladies pancréatiques (pancréatite aiguë ou chronique), les maladies endocriniennes (le phéochromocytome, l'hypercorticisme, la corticothérapie, et l'hypothyroïdie). Les hypoglycémies de 1,10g/l sont dues à un surdosage de médicaments hypoglycémisants chez le diabétique, la malnutrition ou un jeûne prolongé, une sécrétion par l'organisme d'un excès d'insuline (insulinome, polyadénomatose), l'insuffisance endocrinienne (surrénale, hypophysaire), et à un trouble hépatique (hépatite aiguë, intoxication alcoolique aiguë) (**Folin, 1919**).

#### III.4.6.1. Méthodes de dosages du glucose :

Les premières mesures de concentration de glucose ont été effectuées à l'aide de méthode de réduction du cuivre (**Folin, 1919 ; Somogyi, 1937 ; Nelson, 1944**). Le manque de spécificité des techniques de réduction du cuivre a conduit au développement de procédures quantitatives qui utilisent les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le test au glucose incorporé au disque de réactif au Méthyle 8 est une version modifiée de la méthode hexokinase qui a été proposée comme base pour la méthode de référence en glucose (**Kaplan, 1989**).

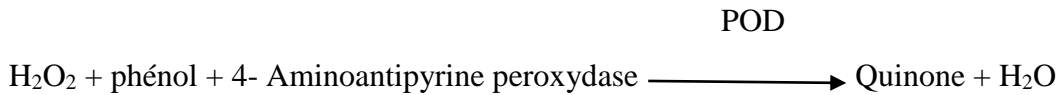
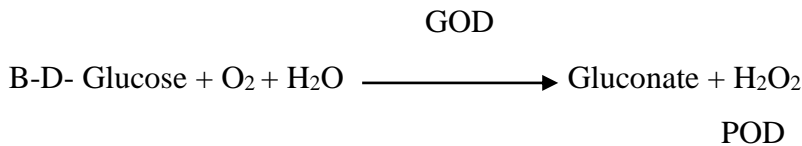
La réaction de glucose avec l'adénosine triphosphate (ATP), catalysée par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glucose -6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de G-6-P en

6-phosphogluconate et la réduction de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD<sup>+</sup>) en NADH (Kaplan, 1989).



➤ **Principe**

Le glucose subit des réactions couplées décrites ci-dessous pour donner un complexe coloré, qui peut être mesuré à la spectrométrie.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

➤ **Echantillon:** Sérum

➤ **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Concentration</i>
<b>R1 tampon</b>	Tris pH 7.4 phénol	92 m mol/l 0.3 m mol/l
<b>R2 enzymes</b>	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4- Aminophenazone (4-AP)	15000 U/l 1000 U/l 0.6 m mol/l
<b>Glucose cal</b>	Etalon de glucose aqueux primaire	100 mg/dl

➤ **Préparation du réactif de travail (RT)**

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Mélanger bien doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 4 mois à 2-8 C°, ou 40 jours à 15-25 C°.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau IX : Dosage du glucose**

	<i>Blanc</i>	<i>Etalon</i>	<i>Echantillon</i>
<b>RT (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	.....	1.0	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	1.0

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37° C.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

➤ **Calcule** : la concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ étalon}} \times 100$$

-La concentration de l'étalon = 100 mg/dl

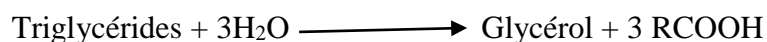
-Facture de conversion : mg/dl x 0.055 = m mol/l

### III.4.7. Dosage des triglycérides

La méthode de dosage décrite ci-après repose sur les travaux de Wahlefeld qui fait appel, à l'hydrolyse rapide et complète des triglycérides en glycérol et acides gras, par une lipoprotéine lipase de micro-organismes (**Kaplan, 1989**).

Le glycérol formé est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate, puis oxydé en dihydroxy acétone-phosphate avec formation d'eau oxygénée. En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit, dans une réaction selon Trinder, avec l' amino-4 phénazone et le chloro-4 phénol pour former un dérivé coloré rouge (**Kaplan, 1989**).

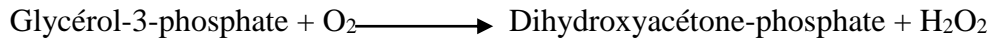
Lipase



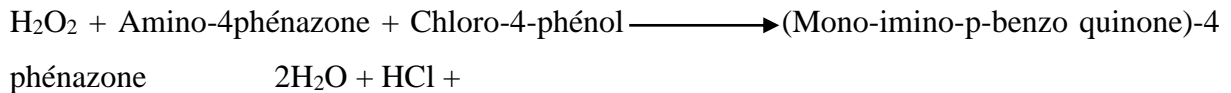
Glycérate kinase



GP oxydase



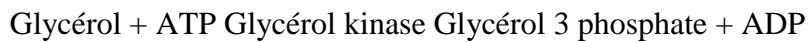
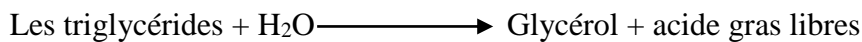
Peroxydase



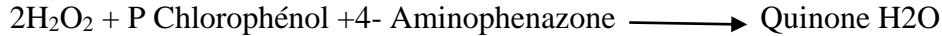
➤ **Principe**

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :

lipoprotéine lipase



peroxydase



-L' intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

- **Echantillon** : sérum
- **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Composition Concentration</i>
<b>R1 tampon</b>	GOOD PH 7.5 P-Chlorophénol	50 m mol/l 2 m mol/l
<b>R2 enzymes</b>	Lipoprotéine lipase Glycéról kinase Glycéról 3 phosphate Peroxydase (POD) 4-Amin antipyrine (4-AP) ATP	15000 U/l 500 U /l 2500 m mol/l 440 U/l m mol/l 0.1 m mol/l
<b>Triglycérides cal</b>	Etalon de Triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl

➤ **Préparation de réactif de travail (RT)**

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25 C°.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau X : Dosage des triglycérides**

	<i>Blanc</i>	<i>Etalon</i>	<i>Echantillon</i>
<b>RL (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µl)</b>	.....	10	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	10

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C°.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

➤ **Calcule**

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 200$$

-La concentration de l'étalon = 200 mg/dl

-Facture de conversion : mg/dl x 0.011 = m mol/l

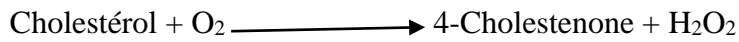
**III.4.8. Dosage du cholestérol**

Le cholestérol et ses esters sont libérés des lipoprotéines par des détergents. L'estérase de cholestérol hydrolyse les esters et, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est formé dans l'oxydation enzymatique suivante du cholestérol par la cholestérol-oxydase selon les équations suivantes. Dans la dernière réaction, un composant coloré rouge se forme. La production du quinonimine rouge est mesurée à 505 nm et est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (**Haeckel , 1980**).

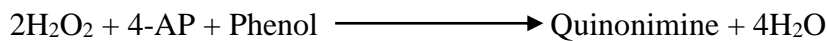
Cholestérol- estérase



Cholestérol-oxydase



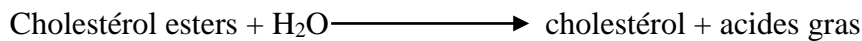
POD



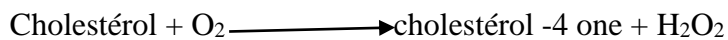
➤ **Principe**

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante

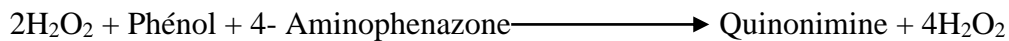
Cholestérol estérase



Cholestérol oxydase



Peroxydase



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

➤ **Echantillon** : sérum

➤ **Réactifs utilisés**

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>Concentration</i>
<b>R1 tampon</b>	PIPES PH 6.9 Phénol	90 m mol/l 26 m mol/l
<b>R2 enzymes</b>	Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4- Aminophenazone (4- AP)	300 U/l 300 U /l 1250 m mol/l 0.4 m mol/l
<b>Cholestérol cal</b>	Etalon de cholestérol aqueux primaire	200 mg/dl

➤ **Préparation de réactif de travail (RT)**

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8 C° à l'abri de la lumière.

➤ **Mode opératoire**

Placer les réactifs de travail à température ambiante puis pipeter dans des tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau XI** : Dosage du cholestérol

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>H2SO4 (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Étalon (µl)</b>	.....	10	.....
<b>Echantillon (µl)</b>	.....	.....	10

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C°.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 60 min.

➤ **Calcul**

$$\text{Concentration du cholestérol (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ échantillon}}{(\text{A}) \text{ étalon}} \times 200$$

-La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.

-Facture de conversion : mg/dl x 0.025 = m mol/l.

### **III.5. Les Analyses hématologiques**

#### **III.5.1.Hémogramme**

##### **III.5.1.1. Définition**

L'hémogramme est aussi appelé numération formule sanguine. Le premier terme est le plus approprié à l'analyse réalisée, car les deux versants quantitatifs et qualitatifs de l'étude sont inclus dans la terminologie « hémogramme ». En effet, l'hémogramme a pour but de quantifier (numération) et de qualifier (frottis sanguin érythrocytaire) les éléments figurés du sang. L'hémogramme est de plus en plus réalisé par des automates (**Bernard *et al.* , 1996**).

Le sang est une suspension de cellules contenues dans un liquide : le plasma. Celui-ci est constitué d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum. La réalisation d'un hémogramme est un examen simple, peu coûteux, standardisé et automatique. Son interprétation fine nécessite parfois l'appel à l'oeil du cyto – hématologiste (**Bernard *et al.* , 1996**).

##### **III.5.1.2. Principes de fonctionnement des automates**

Deux procédés sont utilisés par les appareils de mesure :

- ✓ La détection du volume des particules par variation d'impédance cette technique a été mise au point par COULTER. Le principe repose sur la détection de la charge électrique spécifique à chaque type de cellule. Les cellules sont mises en suspension dans un conducteur fluide. A leur passage à travers un orifice, elles provoquent des vibrations mesurables. Le nombre de vibrations indique le nombre de particules. Chaque particule est identifiée puisque l'amplitude de chaque vibration est proportionnelle au volume de la particule (**Pottron *et al.* , 1990**).
- ✓ La détection optique consiste à faire passer le sang dans un micro canal dont le très faible diamètre contraint les cellules à passer une par une. Ce micro canal est traversé transversalement par un faisceau lumineux. L'interaction comporte également une diffusion et une diffraction de la lumière dépendant de plusieurs paramètres dont la taille et la forme de la cellule. La lumière est essentiellement recueillie par une cellule photoélectrique et chaque variation d'intensité lumineuse est convertie en signal électrique (**Pottron *et al.* , 1990**).

### **III.5.1.3. Les paramètres de l'hémogramme**

L'hémogramme permet de mesurer le nombre absolu de cellules contenues par unité de volume de sang (**Bernard et al ., 1996**).

#### **III.5. 1.3.1. Analyses quantitatives de globules rouges**

Pour les mesures quantitatives sur les globules rouges et leur contenu, la quantité de globules rouges présente dans un échantillon de sang peut être appréciée par trois mesures; celle du nombre de globules rouges, celle de l'hématocrite et celle du taux d'hémoglobine (**Bernard J et al ., 1996**).

##### **III.5.1.3.1.1. Nombre normal de globules rouges**

Les globules rouges ou hématies sont des cellules anucléées, sans organites, contenant de l'hémoglobine. Le globule rouge normal a la forme d'un disque biconcave, de couleur rose vif ou orangée avec une dépression claire au centre lorsqu'il est coloré par la technique de May Grunwald Giemsa (MGG). Les globules rouges assurent le transport de l'oxygène dans l'organisme (**Bernard et al ., 1996**).

A l'état normal, tous les globules rouges ont sensiblement la même taille, la même forme, la même coloration et ne contiennent pas d'inclusion intra cytoplasmique. Toute modification de ces critères traduit un phénomène pathologique. Le nombre de globules rouges varie de (**Bernard et al ., 1996**) :

- 4,5 à 6,2.10<sup>12</sup>/l chez l'homme,
- 4 à 5,4.10<sup>12</sup> /l chez la femme et l'enfant jusqu'à la puberté,
- 3,6 à 5.10<sup>12</sup> /l chez l'enfant à partir de 1 an,
- 5 à 6.10<sup>12</sup>/l chez le nouveau-né.

### **III.5.1.3.1.2. L'hématocrite**

Il représente le volume occupé par les globules rouges dans un volume sanguin donné, prélevé sur anticoagulant. Il est obtenu manuellement par centrifugation rapide. Sa valeur est calculée de plus en plus par les automates à partir du volume globulaire moyen (**Bernard J et al ., 1996**).L'hématocrite varie en fonction de l'âge et du sexe, les valeurs usuelles se situent entre:

- 40% à 54% chez l'homme,
- 35% à 47% chez la femme,
- 36% à 44 chez l'enfant à partir de 1 an
- 44% à 62% chez le nouveau-né (**Bernard et al ., 1996**).

### **III.5.1.3.1.3. Taux d'hémoglobine**

On dose l'hémoglobine dans un échantillon de sang par diverses méthodes, notamment celle du cyanméthémoglobine dans laquelle l'hémoglobine et tous ses dérivés sont transformés par un réactif à base d'acide cyanhydrique en cyanméthémoglobine qui est dosée sur un spectrophotomètre à 540 nm. Les résultats sont exprimés par 100 ml de sang (**Bernard et al ., 1996**).

- 13 à 18g/100 ml chez l'homme,
- 12 à 16 g/100 ml chez la femme
- 12 à 16 g/100 ml chez l'enfant (> 2 ans)
- 14 à 20 g/100 ml chez le nouveau-né.

### **III.5.1.3.2. Numération quantitative des globules blancs**

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules mobiles possédant tous des organites fondamentaux des cellules animales et qui jouent le rôle de défense de l'organisme. Le comptage des globules blancs est fait sur le même prélèvement que les globules rouges et par le même appareil. Les valeurs normales sont 4000 à 10000/mm<sup>3</sup> chez l'adulte (**Bernard et al ., 1996**).

### **III.5 .1.3.3. Numération quantitative des plaquettes**

Ce sont des petites cellules de 2 à 4  $\mu\text{m}$  de diamètre anucléées dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. Les plaquettes sont les principaux acteurs de l'hémostase primaire. Les compteurs électroniques les plus perfectionnés assurent simultanément sur le même prélèvement des comptes de globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. L'intervalle de variation normale est très large 150000 à 450000 par m (**Bernard et al ., 1996**).

### **III.5.1.3.4.Vitesse de Sédimentation (Vs):**

Elle est déterminée en maintenant le sang dans un tube et suivre la distance parcourue par le concentré globulaire pendant au moins deux heures de temps (**Bernard et al ., 1996**).

La distance parcourue pendant la première heure est notée et celle de la deuxième heure aussi; ce qui fait qu'il y'a deux valeurs dans l'interprétation de la vitesse de sédimentation. Les valeurs normales sont de 6 mm pour la première heure et 12 mm pour la seconde heure (**Bernard et al ., 1996**).

### **III.5.1.3.5.Analyse qualitative**

Elle est réalisée en étalant une fine goutte de sang sur une lame de verre et en l'examinant au microscope après coloration. Le colorant le plus utilisé est le May Grunwald Giemsa (MGG). Cet examen au microscope permet d'étudier la morphologie des hématies et de faire «la formule sanguine». Elle permet en outre de différencier les lymphocytes, les polynucléaires neutrophiles, basophiles et éosinophiles et les cellules immatures éventuelles. Cette technique est communément appelée "frottis mince" (**Bernard et al ., 1996**).

### **III.6. Techniques de laboratoire utilisées**

#### **III.6.1. Collecte des échantillons**

- **Au CNTS :** Après l'obtention du consentement et l'examen clinique, chaque donneur de sang a bénéficié d'un prélèvement sanguin de 2-3 ml de sang total respectivement sur tube EDTA pour l'hémogramme et de l'héparine lithium pour la biochimie après ponction veineuse.
  
- **Au LBMA :**

Les patients ont été examinés par les médecins de l'unité bioclinique. Après consentement, chaque patient a bénéficié d'un prélèvement sanguin de 2-3 ml de sang total sur tube à héparine lithium pour la biochimie et sur tube EDTA pour l'hémogramme.

#### **III.6.2. Traitement des échantillons de sang**

- **Biochimie :** Les échantillons ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 mn pour récupérer le sérum à l'aide d'une centrifugeuse de type Mini sprin Les sérum ont été recueillis et conservés à moins quatre vingt degré Celsius en attendant les dosages biochimiques qui ont été faits sur l'analyseur Piccolo Abaxis.
- **Hémogramme :** 12 - 15ml de sang sont prélevé par la machine (Beckman) pour l'analyse.

### **III.7. Modes opératoires :**

- ✓ **Biochimie :** pour sa réalisation, nous avons utilisé un automate Abaxis Piccolo.
- Allumer la machine en position "power On"
- Après les tests contrôle (Normal)
- Appuyer sur open le tiroir de l'analyseur s'ouvre,
- Prélever 120ml de sérum à l'aide de micropipette calibré à 200µl
- Puis l'introduire dans le disque de réactif de la machine et déposé dans le tiroir de l'analyseur Piccolo en suite appuyer de nouveau sur close et le tiroir se referme dès lors l'analyseur commence.

L'analyseur calcule et imprime automatiquement les concentrations du mélange à analyser.

Au terme de l'analyse quand apparaît <<Print>> sur l'écran de la machine introduire la carte et appuyer sur Print.

✓ **Hémogramme** : Elle a été réalisée à l'aide d'un automate d'hématologie de type Beckman Coulter Ac T 10.

- Allumer la machine en position "power On" ;
- Tester la machine avec les tests contrôle (Normal) ;
- Agiter doucement le tube pour bien homogénéiser le sang (mouvement répété de retournement) avant de l'introduire dans le Coulter ;
- Introduire le tube dans la machine ;
- Lancer l'analyse en appuyant sur OK ;
- Attendre l'affichage de " print" sur l'écran de lecture ;
- Cliquer sur print pour imprimer le résultat à la fin de l'analyse.



**Photographie 07:** Automate d'hématologie Beckman



## IV. Résultat et Discussion

### IV.I .Résultat et interprétations

Les résultats sont présente dans des histogrammes on fonction de : les années, les périodes. Est sont traité par l'analyse de variance AV1par logiciel MINITAB 13.

#### IV.1. Les paramètres hématologiques

##### IV.1.1. Taux des globules rouges sanguin

Les résultats concernant le nombre des globules rouges (RBC) chez les hommes fumeurs avec des années des fumé »es ( $f1 < 10$  :  $f2 > 10$ ) présentent un augmentation significatif par rapport au témoin, et cette augmentation est très élevé dans le groupe F2.

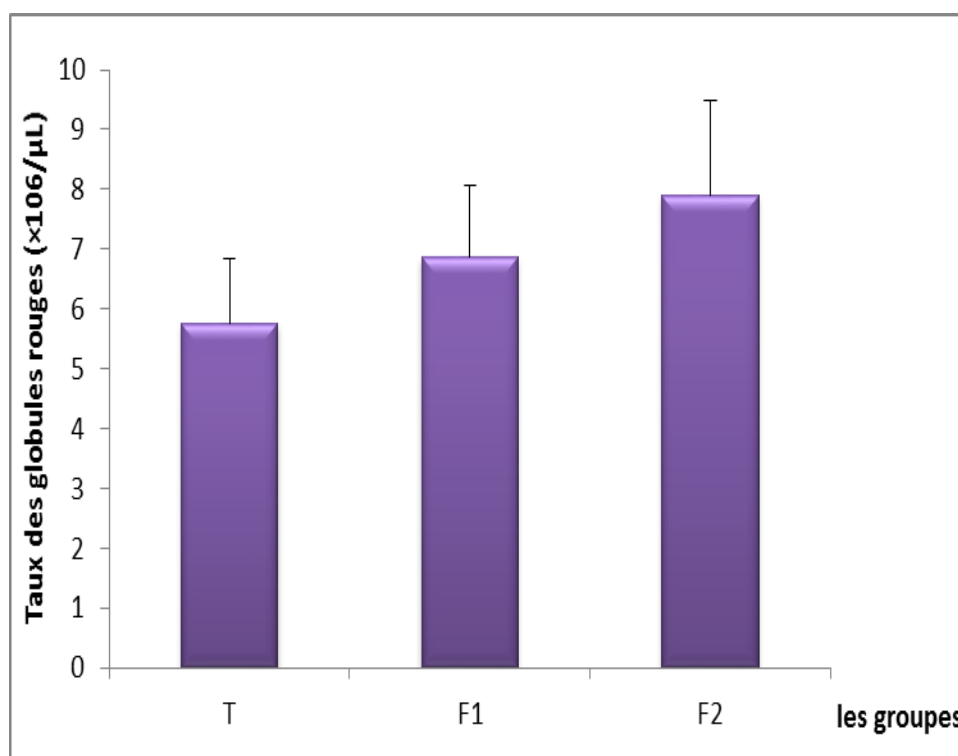
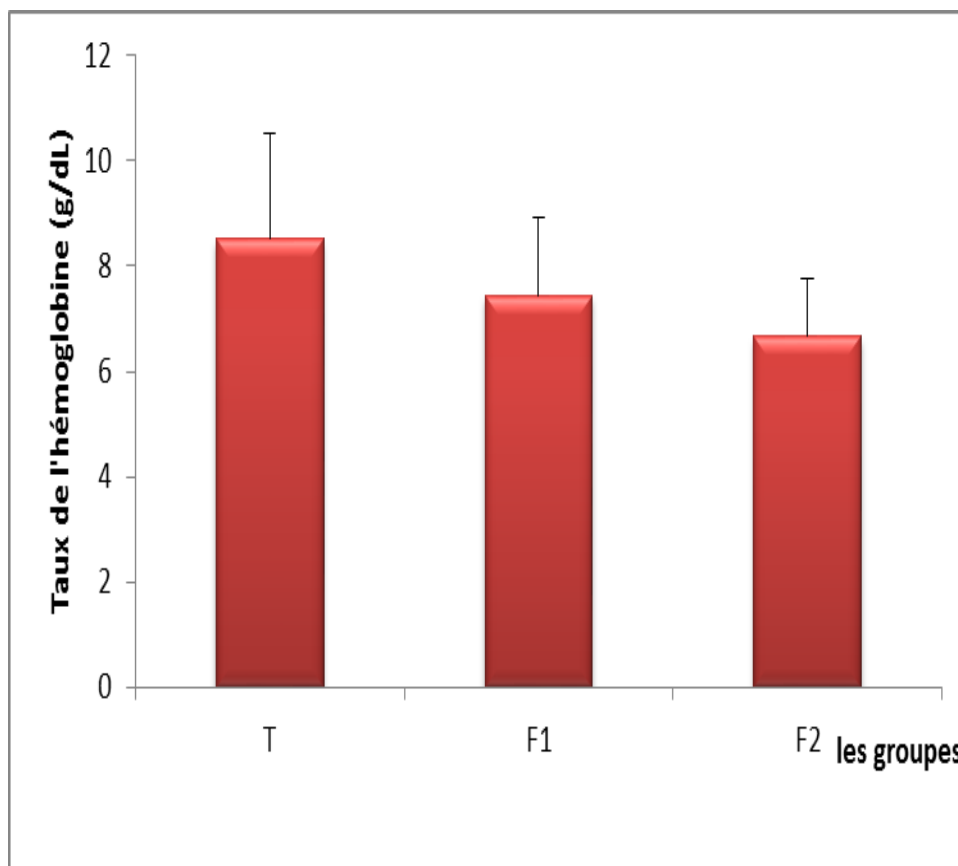


Figure 20 : de taux des globules rouge chez les patients significatif.

#### IV.1.2. concentration de l'hémoglobine

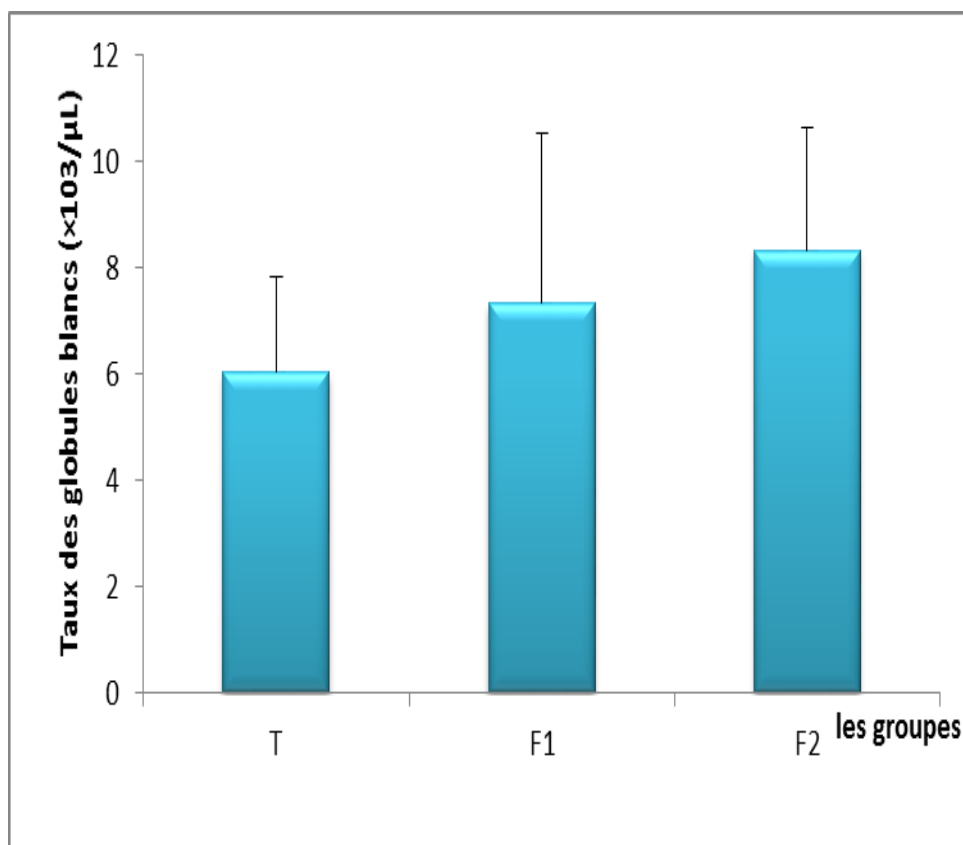
Les résultats concernant la concentration de l'hémoglobine révèlent que le taux de hémoglobine significativement diminue chez les groupes F1 ; F2 par rapport au témoin.



**Figure 21 :** Variation de concentration de l'hémoglobine chez les patients (significatifs).

### IV.1.3. Le nombre des globules blanc

Les résultats concernant le nombre des globules blanc (hématocrite) chez les hommes fumeurs avec des années des fumées ( $f1 < 10$  :  $f2 > 10$  ) présentent un augmentation significatif para pour au témoin, et cette augmentation est très élevé dans le groupe F2.

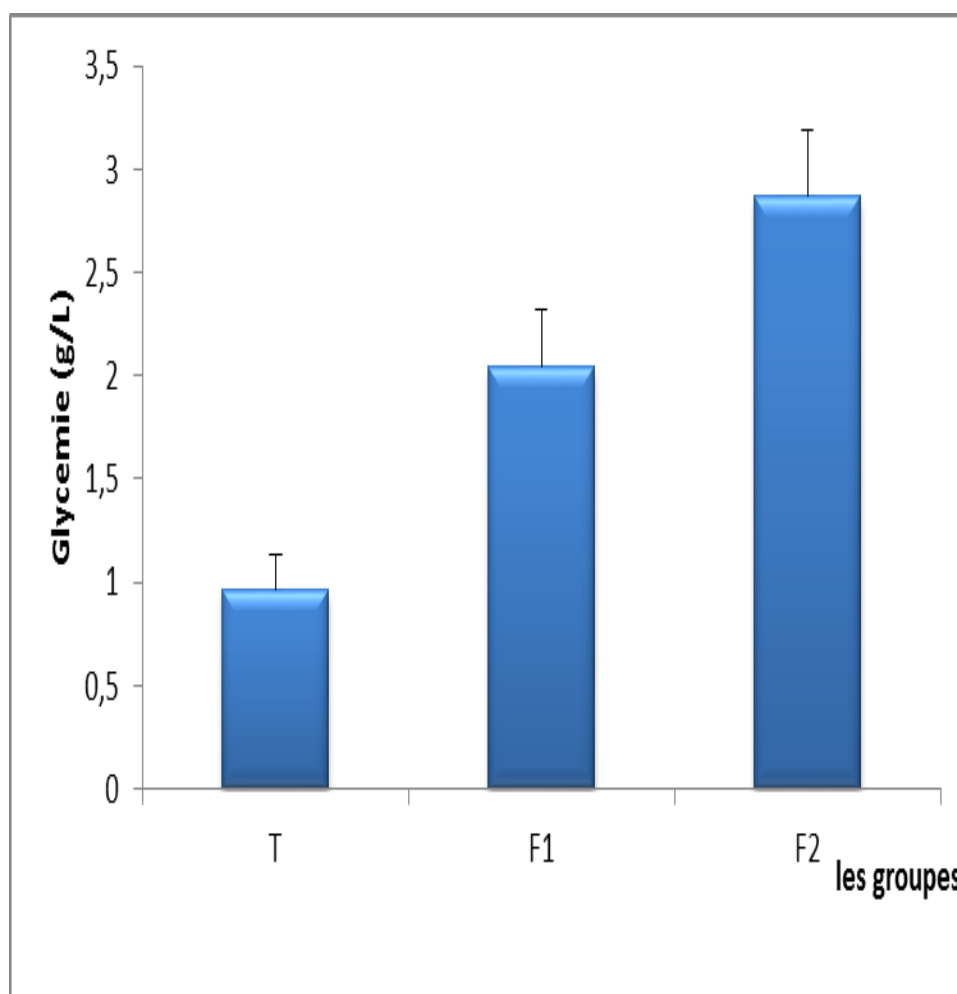


**Figure 22** : de taux des globules blanc chez les patients (significatif).

## IV.2. Les paramètres biochimiques

### IV.2.1. Concentration du glucose plasmatique

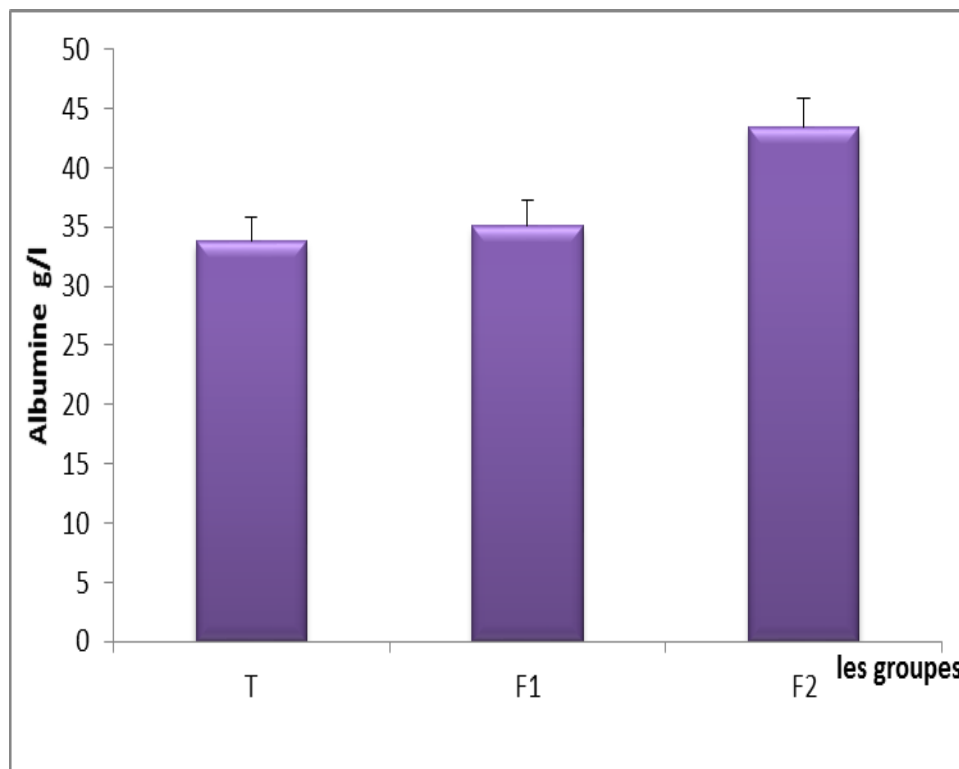
Les résultats de figure montrent une augmentation très hautement significatif dans les groupes F1, F2 par rapport aux témoins T.



**Figure 23** : variation de taux de glycémie chez les patients (hautement Significatif).

#### IV.2.2. Concentration d'albumine plasmatique

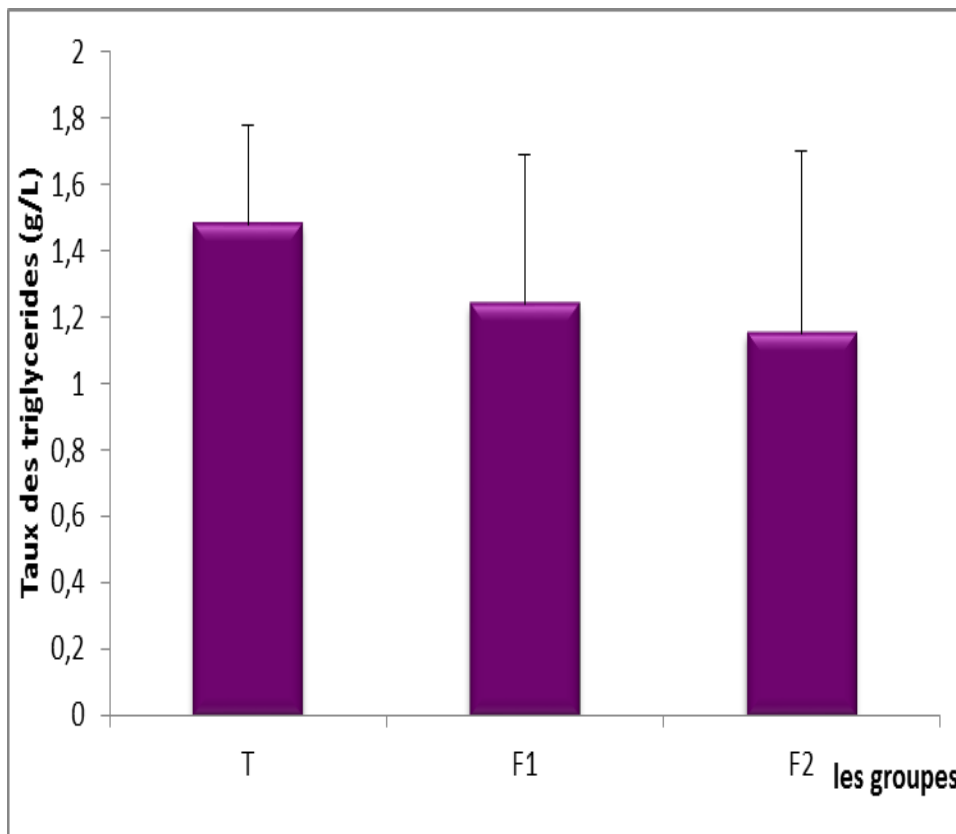
Les résultats ont révélé que le taux de l'albuminémie n'augmente pas de façon significative chez les groupes des fumeurs (F1, F2) par rapport au groupe témoin (Figure 5).



**Figure 24 :** variation de taux de l'albumine chez les patients (non Significatif).

#### IV.2.3. Concentration des triglycérides plasmatique

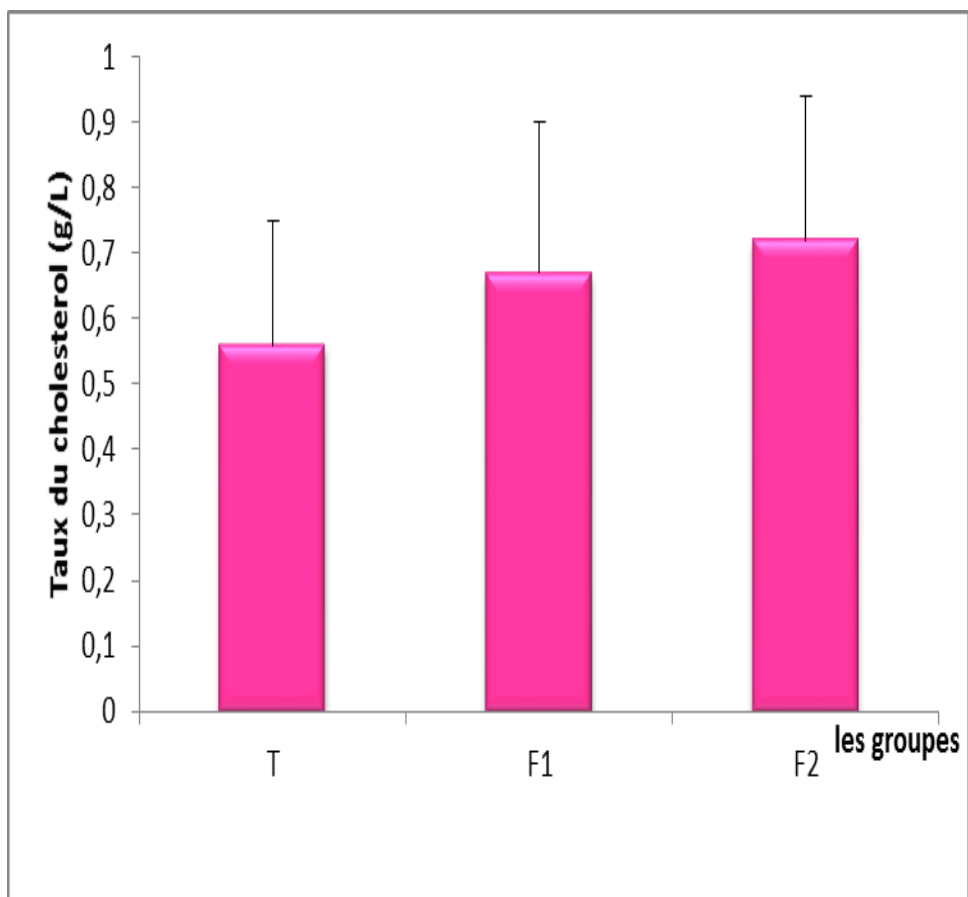
Les résultats obtenus montrent une diminution non significative du taux plasmatique des triglycérides chez le groupe des fumeurs (f1.f2).



**Figure 25** : variation de taux des triglycérides chez les patients (non Significatif).

#### IV.2.4. Concentration du cholestérol plasmatique

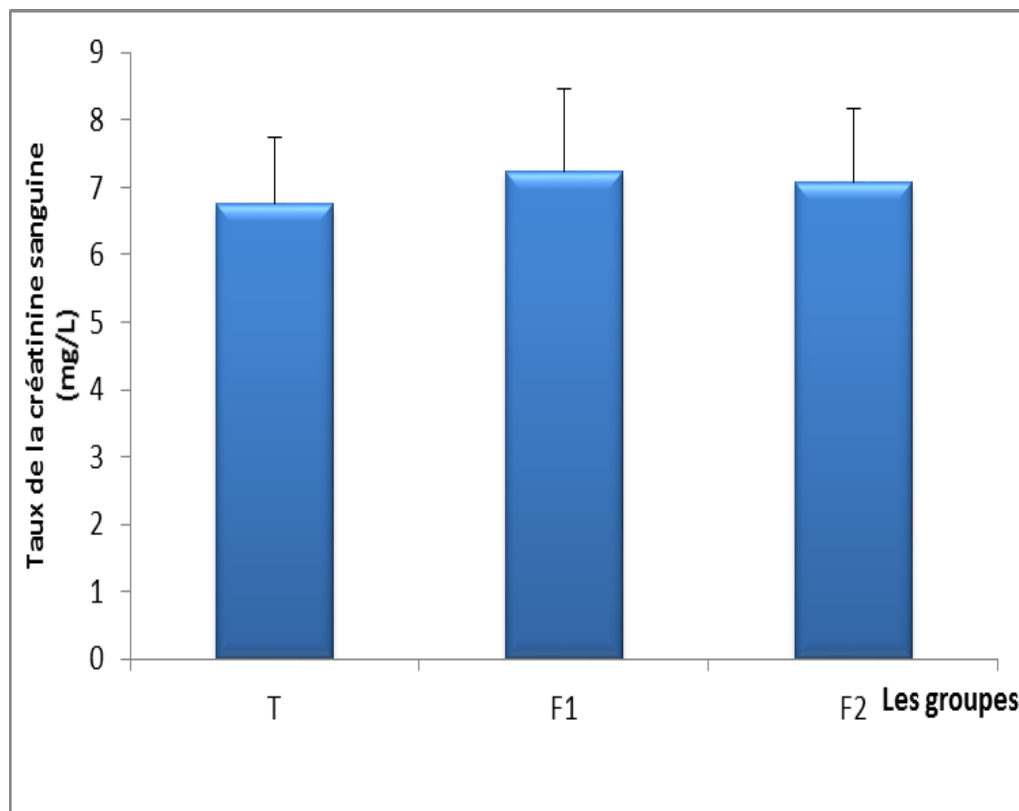
Les résultats obtenus montrent une augmentations non significative du taux plasmatique de cholestérol chez les fumeurs des groupes f1.f2. par rapport aux groupe témoin.



**Figure 26** : variation de taux du cholestérol chez les patients (non Significatif).

#### IV. 2.5. Concentrations de la créatinine plasmatique

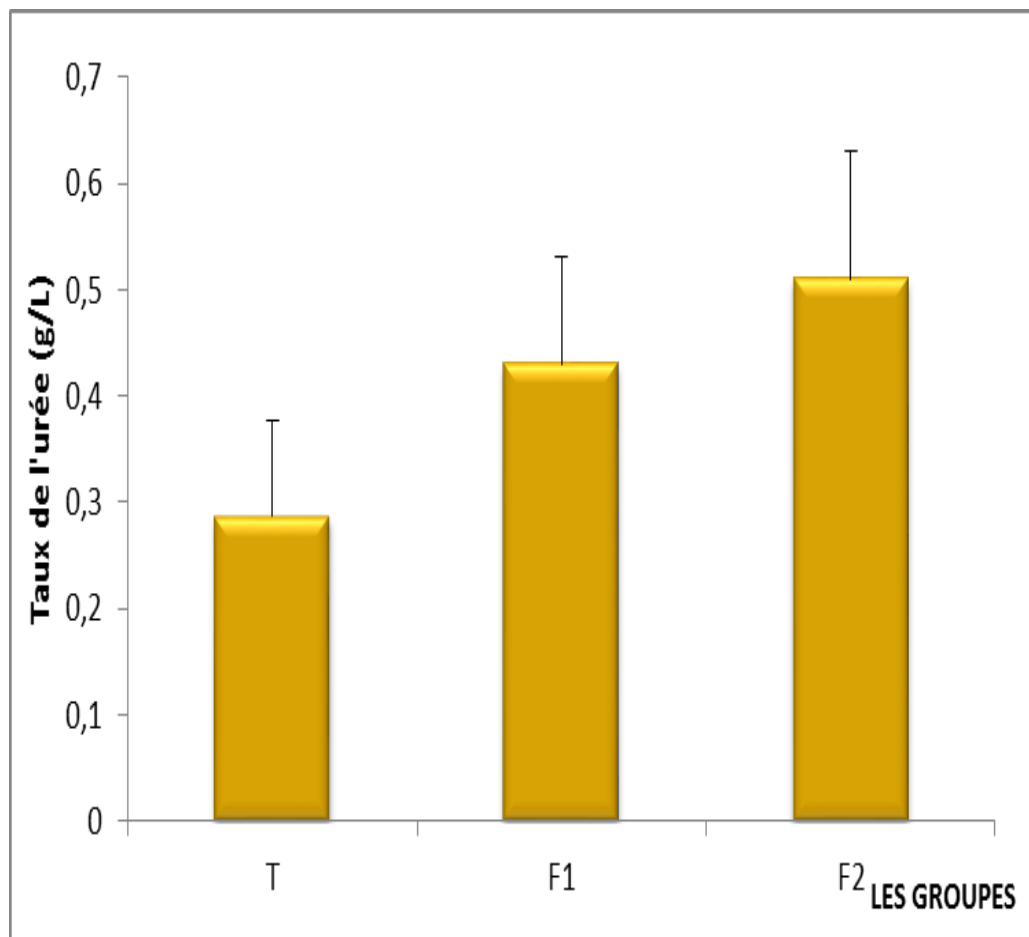
Les résultats de cette analyse montrent une augmentation non significative du taux plasmatique de créatinine chez les hommes fumeurs par rapport au groupe témoin.



**Figure 27** : variation du taux de créatinine chez les patients (non Significatif).

#### IV.2.6.Taux plasmatique de l'urée

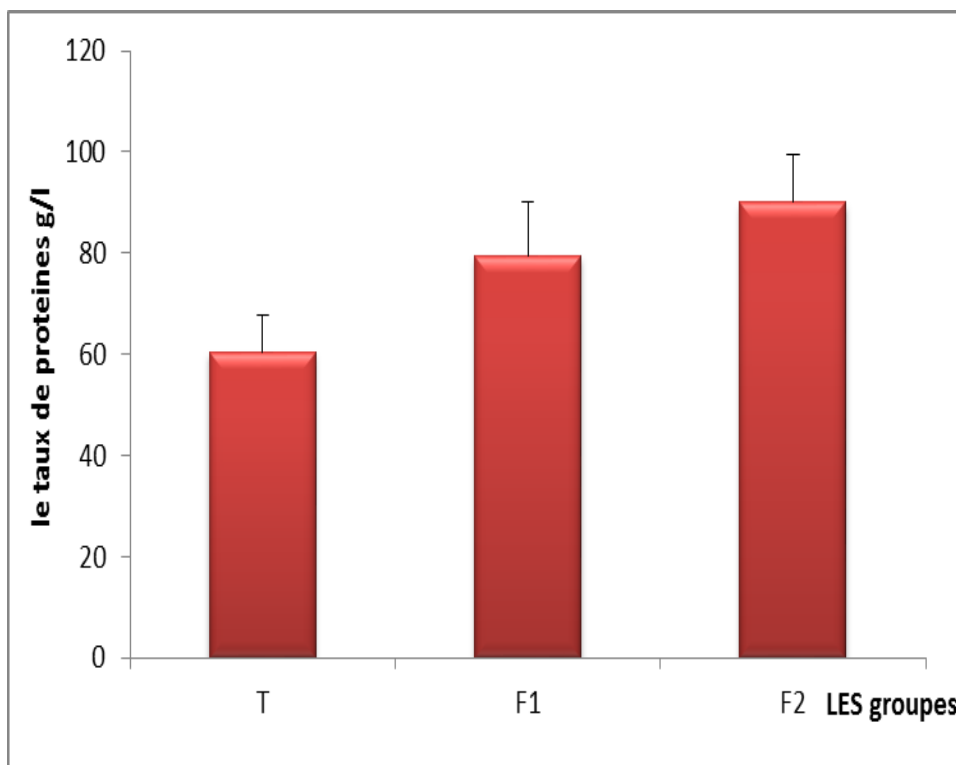
Le taux plasmatique de l'urée chez les groupes témoins est indiqué dans la Figure 22. Les résultats montrent une augmentation des taux plasmatique de l'urée chez deux Groupe f1.f2 par rapport au groupe témoin. Cette augmentation est hautement significative respectivement.



**Figure 28 :** variation de taux de l'urée plasmique chez les patients (hautement Significatif).

#### IV.2.7 .Taux plasmique des protéines

Les résultats de cette analyse montrent une augmentation significative du taux plasmatique des protéines chez les hommes fumeurs par rapport au groupe témoin.



**Figure 29 :** variation du taux plasmique des protéines totales chez les patients (Significatif).

## **II. Discussion**

Dans le cadre de l'étude de l'impact de fumer sur la santé humaine, et les effets de la cigarette sur quelques paramètres hématologiques et biochimiques, notre travail montre une perturbation dans tous les paramètres biochimiques, avec augmentation de probabilité de risque de cancer.

Sa consommation conduit souvent à des maladies du cœur et des poumons, et être fumeur représente un risque majeur pour les attaques cardiaques, AVC, broncho-pneumopathies chroniques obstructives, emphysème, et le cancer, en particulier cancer du poumon, cancer laryngé, cancer de la vessie. Cela cause aussi des maladies vasculaires périphériques (**Turner, 1998**).

Sur le plan biochimique ; nos résultats ont montré une perturbation niveau des paramètres biochimique.

L'analyse de nos résultats montre une augmentation du taux de cholestérol, albumine et protéines totales. Par contre le taux de triglycéride, et créatinine diminuent. Ces variations peuvent être expliquées par l'effet de fumer sur l'activité des enzymes: peptidase, protéase et lipase et certainement sur le métabolisme et la synthèse de ces paramètres (**Robert, 1999**).

Et nous avons remarqué l'augmentation du taux de glucose dans le sang du fumeur qui peut être expliquée par une perturbation dans la fonction du pancréas. (**Alan & Thomas, 2008**).

Qui peut créer éventuellement un risque de cancer du pancréas, tumeur qui se forme principalement à partir des cellules glandulaires endocrines qui produisent les hormones chargées de réguler le taux de sucre dans le sang (**Sabine, 2013**).

Dans notre étude biochimique, nous avons entrepris l'analyse de TGO et TGP qui sont des enzymes hépatocytaires (originaires de foie), dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe amine d'un acide alpha aminé à un acide alpha cétonique.

L'augmentation de cette transaminase (TGP, TGO) peut être expliquée par une inflammation du foie.

La diminution de taux de triglycérides observé durant notre travail peut contribuer à l'augmentation du poids du foie.

Dans notre étude nous avons entrepris l'analyse aussi de l'urée qui est constitué la majeure partie azotée de l'urine. Sa production se déroule essentiellement dans le foie et une faible partie est produite par les reins.

L'augmentation du taux d'urée dans le sang est généralement liée à une altération rénale.

Sur le plan hématologie nous remarquons une augmentation du taux des globules rouge, de même pour l'hémoglobine, le taux de l'hématocrite et le taux des plaquettes.

L'augmentation du taux de l'hématocrite peut correspondre à une inflammation ou beaucoup plus rarement à une leucémie causée par la cigarette.

Pour l'anomalie des plaquettes, elle est augmentée en cas d'inflammation et peut être également élevée en cas d'anémie.

Ce résultat, expliqué par les recherches de Krueger J and Rohrich R qui montre Le CO diminue le transport d'oxygène vers les tissus par inhibition compétitive sur le site de fixation de l'hémoglobine. Le déplacement vers la gauche de la courbe de dissociation de l'oxygène diminue la quantité d'oxygène délivrée aux tissus. La nicotine induit une vasoconstriction par un effet direct et indirect par la production de catécholamines, de thromboxane A<sub>2</sub>, et par inhibition de la sécrétion de prostaglandine I<sub>2</sub>. Elle favorise l'agrégation plaquettaire et agit sur la qualité de cicatrisation par la diminution de la production de collagène. D'autres produits dérivés de la fumée de tabac induisent une diminution de la déformabilité des érythrocytes, des lésions de l'endothélium vasculaire et le blocage des processus de réparation. Ils favorisent également l'agrégation plaquettaire et la libération de thromboxane A<sub>2</sub>. Enfin, certains toxiques inhibent la fonction leucocytaire impliquée dans les phénomènes inflammatoires. Tous ces éléments concourent au maintien d'une hypoxie tissulaire et favorisent le développement bactérien au niveau du site opératoire (**Krueger J & Rohrich R, 2001**).

Dans notre étude biochimique nous remarquons que la variation des différents paramètres biochimique et hématologique soit l'augmentation ou la diminution Par

apport au témoin de façon plus importante f2(les fumeurs à plus de 10ans) et plus importante pour le f1(les fumeurs à moins de 10ans) et explique le rôle de la toxicité par accumulation de dose et effet de cigarette sur la santé humaine. et crée un risque de détérioration de tous les organes de corps jusque la mort.

A partir de nos résultats on peut dire que les cigarettes peuvent causer plusieurs maladies chez les fumeurs comme

Le cancer (pancréatique, pulmonaire, rénal...)

Maladies de cœur.

Diabète de types 2.

Maladies de foie.

Maladie des reins.

Excès de cholestérol (**Mitchell , 1990**).

## **Conclusion**

Le tabagisme, épidémie des temps modernes, constitue la 1ère cause de mortalité prématurée dans le monde.

Les agents carcinogènes contenus dans le tabac ou ses produits de dégradation sont multiples, certains sont encore inconnus.

La quantité et le type de tabac consommé ainsi que la durée d'exposition tabagique jouent non seulement sur l'apparition de nouveaux cas de cancers, mais aussi sur leur la gravité, leur évolution et la réponse aux traitements existants.

Le lien de causalité entre la consommation de tabac et les cancers est bien établie, la corrélation dose réponse a été observée.

Les traitements actuels étant contraignants, pas forcément efficaces face à une maladie d'évolution imprévisible, la prévention par une information simple, de grande envergure du corps médical et surtout du grand public sur les cancers induits par le tabagisme est une priorité de santé publique.

Dans le cadre de l'étude de l'impact de fumer sur l'santé humaine, et les effets des cigarettes sur quelque paramètres hématologique et biochimique.

Les résultats montre un perturbation dans tous les paramètres biochimique avec augmentation du glucose, l'albumine, cholestérol, protéines, l'urée, et diminutions de triglycérides.

Les résultats révéle un perturbation dans tous les paramètres hématologique avec augmentation les globules rouges, globules blanc, et diminutions de l'hémoglobine par rapport aux témoin (les patient non fumé).

## Références Bibliographiques

1. **Alan Rodgman et Thomas A. (2008).** Perfetti, The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke, CRC Press.
2. **Ambrose J et Barua R. (2004).** The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update, J Am Coll Cardiol.
3. **Audrey Vautherot. (2008).** Historique du tabac. [http://www.psychomedia.qc.ca/toxicomanies/2008\(20,04,2012\)](http://www.psychomedia.qc.ca/toxicomanies/2008(20,04,2012)).
4. **Audrey Vautherot.(2011).** Tabac . <http://www.didier-pol.net/tabac.htm> (21,04,2012).
5. **Bartosek I., Guaitani A., Modica R., Fiume M., Urso R. (1984).** Comparative kinetics of oral benz(a)anthracene, chrysene and triphenylene in rats: study with hydrocarbon mixtures. Toxicology Letters 23(3).PP:333-339.
6. **Batarekh K et Teherani D.(1987).**Determination of polonium-210 in cigarette from Syria, Journal of Radioanalytical Nuclear Chemistry Letters 117 (2).pp :75-80.
7. **Beck F., Legleye S., Spilka S., Briffault X., Gautier A., Lamboy B., Leon C., Wilquin JL. (2005).** nicotine. hett
8. **Benit Forget.(2007).** Effet de nicotine ,thésepdf.[http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/47/68/16/PDF/2009\\_PEST0039\\_0\\_0.pdf](http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/47/68/16/PDF/2009_PEST0039_0_0.pdf)(14,05,2012).
9. **Benowitz N.L. (1996).**nicotine.<http://fr.wikipedia.org/wiki/Nicotine>(30,05,2012).
10. **Benowitz N.L., Jacob P , Savanapridi C. (1987).** Determinants of nicotine intake while chewing nicotine polyacrilex gum. Clin. Pharmacol. Therap.Chap (41).PP: 467-473
11. **Bergmer. (1977).** Provisional recommendation on IFCC method for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem .Chap(23).PP: 887-889 .
12. **Bergmer. (1978).** Provisional recommendation on IFCC method for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem.Chap(24).PP : 720-721.

- 13. Bergmeyer H.U et Horder M.(1980).** IFCC method for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem.*Chap(18).PP:521-534.
- 14. Bernard J., Levret B., Clauvel J.P., Rain J.D., Sultany.(1996).** *Hématologie*, 8<sup>ème</sup> édition. Paris : Masson,
- 15. Bertrand J.P., Chau N., Patris A., Mur J.M., Pham Q.T., Moulin J.J., Morviller P., Auburtin G., Figueredo A., Martin J. (1987).** Mortality due to respiratory cancers in the coke oven plants of the Lorraine coalmining industry (Houillères du Bassin de Lorraine). *British Journal of Industrial Medicine* 44(8).PP:559-565.
- 16. Bisson M., Diderich R., Dujardin R., Hulot C., Lacroix G., Lamy M.H., Lefevre J.P., Leveque S., Magaud H., Tissot S. (2006).** Benzo(a)pyrène. INERIS -Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques version .PP :2-3.
- 17. Bonnard M., Brondeau M.T., Clavel T., Falcy M., Jargot D., Lafontaine M., Reynier M., Schneider . (2007).** Benzo(a)pyrène. INRS fiche toxicologique FT.PP : 144.
- 18. Borgerding M et Klus H. (2005).** Analysis of complex mixtures-cigarette smoke, *Exp Toxicol Pathol* .
- 19. Buening I.K., Wislocki P.G., Levin W., Vagi H., Thakker D.R., Akagi H., Koreeda M., Jerina D.M., Conney A.H. (1978).** Tumorigenicity of the optical enantiomers of the diastereomeric benzo[a]pyrene 7,8-diol-9,10-epoxides in newborn mice: exceptional activity of (+)-7beta,8alpha-dihydroxy-9alpha,10alpha-epoxy-7,8,9,10tetrahydrobenzo[a]pyrene. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 75(11):5358-5361.
- 20. Burnie G., Forrester S., Grieg D., Guest S., Harmony M., Silk J.(2003).** *Botanica*, encyclopédie de botanique et d'horticulture.
- 21. Busbee D.L., Norman J.O., Ziprin R.L. (1990).** Comparative uptake, vascular transport, and cellular internalization of aflatoxin-B 1 and benzo(a)pyrene. *Archives of Toxicology* 64(4).PP:285-290.
- 22. Cavalieri E et Rogan E. (1985).** Role of radical cations in aromatic hydrocarbon carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives* .Chap(64).PP:69-84.

- 23.Chaney.(1962).**Urea and ammonia determinations.Clin Chem.chap(28).PP:130- 132.
- 24.Chen S., Nguyen N., Tamura K., Karin M., Tukey R.H. (2003).** The raie of the Ah receptor and p38 in benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10epoxide-induced apoptosis. The Journal of Biological Chemistry 278(21): 19526-33.
- 25.Chollat TetClaire. (1992).**Les femmes et le tabac, O.M.S. geneve . PP :1-137.
- 26.Cohen C., Molimard M., Le Houezec J., Molimard R. (1989).** Fumeurs de tabac brun et fumeurs de tabac blond. *Semaine Hôp. Paris*.Chap(65).PP : 2463-2465.
- 27.Congres.(1995).** Paris, France; Société française de phlébologie vol. 48, nO 4 Paris, France. Chap (58). PP :419-485 .
- 28.Daudel P., Duquesne M., Vigny P., Grover P.L., Sims P .(1975).** Fluorescence spectral evidence that benzo(a)pyrene-DNA products in mouse skin arise from diol-epoxides. FEBS Letters 57(3).PP:250-253.
- 29.Dautzenbg B.(2000).** Lutter contre le tabac en Entreprise . Ed : Le guide Editions Margaux Orange Paris.
- 30.Dautzenberg B.(2001).** Le tabagisme passif, Paris : La documentation française.
- 31.David Moyer B.(2005).** The tobacco Book. Guide of Facts Figures and Quotations about Tobacco, Edition 3.
- 32.Davis R.M., Wakefield M., Amos A., Gupta P.C.(2007).** The hitchhiker's guide to tobacco control.
- 33.Doumas B.T.(1081).** A candidate reference method for determination of protein in serum.I. development and validation Clin Chem .Chap(27).PP: 1642-1650.
- 34.Elsevier Masson.(2006).**Gynecologie Obstetrique et fertilité.Chap( 34).PP : 945- 949.
- 35.Ezzati M., Lopez A.D. (2003).**Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000 Lancet.Chap(362). PP: 47.
- 36.Ezzati M., Lopez A-D.(2004).** Regional, dis-ease specific patterns of smoking-attributable mortality in 2000. Tob Control .Chap(13).PP :388-395.

- 37.Farnello S., Durand C., Bellanger J.C., Morel L., Cardinal S., Mouras Y.(1998).**Les pharmaciens d'officine et la prevention du tabagisme". Ed.Concours Medical.PP : 2694-2699.
- 38.Fawcett J.K.(1960).**A rapid and precise method for the determination of urea. J Clin Pathol.Chap(13).PP: 156-159.
- 39.Fles F.W.(1982).** Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. En:WR Faulkner and S Meites, comp., Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry.PP: 365- 373.
- 40.Folin O.(1919).**A system of blood analysis. J Biol Chem.Chap(38).PP : 81-110.
- 41.Fossati P.(1983).**Enzymatic Creatinine Assay: A New colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement.Chap(29).PP: 1494-1496.
- 42.Gauthier R., Vincent J., Zaouid.(1972).** physiologie, Paris: Vigot Frère.
- 43.Geronimi J.L. (2000).**Le monoxyde de carbone, Edition Tec & Doc. PP :170.
- 44.Godon Y et Col.(1987).** American journal of epydemiolgy .PP :125.
- 45.Gray Boyle N et Zatonski W.(1998).** Tar concentrations in cigarettes and carcinogen content. Lancet .
- 46.Guillaume Capus ., Etienne Ermond F ., Fernand Leulliot.(1979).**Le tabac. Société déditions géographiques , maritimes et coloniales.Univirsité de Correll.PP :418 .
- 47.Guilbertp., Gautier A., Beck F., Peretti Watel P.,Wilquin J.L., Leonc., Legleyes., Arwidsonp.(2004).**nicotine.http://www.ofdt.fr/ofdtdev/live/produits/tabac/conso.html(03,06, 2012).
- 48.Haeckel R.(1980).**Simplified Determination of the "True" Creatinine Concentration In Serum and Urine. J Cklin Chem Clin Biochem.Chap(18).PP : 385- 394.
- 49.Hallett.(1971).** Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta.Chap(35).PP: 33-37.
- 50.Hatsukami D.K., Stead L.F., Gupta P.C.(2008).** Tobacco addiction. Lancet .Chp(38). PP:371.

- 51.Henrieck G.A.(1864).**consommation de tabac.<http://fr.wikipedia.org/wiki/Tabagisme> (28,05,2012).
- 52.Hers Henri. (2004).**Gery erition mols.PP:59.
- 53.Hsu G.W., Huang X., Luneva N-P., Geacintov N.E., Beese L.S. (2005).** Structure of a high fidelity DNA polymerase bound to a benzo[a]pyrene adduct that blocks replication. The Journal of Biological Chemistry 280(5):3764-70.
- 54.IngebretsenBJ(1986).** Aerosol studies of cigarette smoke » *Rec Advan Tob Sci* 12.PP:54-142.
- 55.Jaynes P.K.(1982).** An Enzymatic, reaction-Rate Assay For serum creatinine With a centrifugal Analyzer.Chap (28).PP: 114-117. -
- 56.Jeanne Clement.(2011).** méthode d'extraction de nicotine. <http://tpe-tabagisme-causes.e-monsite.com/pages/fiches-syntheses/jeanne-clement.html>(28.05,2012)
- 57.Jernstrom B., Vadi H., Orrenius S. (1978).** Formation of DNA-binding products from isolated benzo[a]pyrene metabolites in rat liver nuclei. Chemical Biological Interactions .PP :311-321.
- 58.Jia L., Kropachev K., Ding S., Van Houten B., Geacintov N.E., Broyde S. (2009).** Exploring damage recognition models in prokaryotic nucleotide excision repair with a benzo[a]pyrene-derived lesion in UvrB. Biochemistry.48(38):8948-57.
- 59.Jiang H., Gelhaus S-L., Mangal D., Harvey R.G., Blair I.A., Penning T.M. (2007).** Metabolism of benzo[a]pyrene in human bronchoalveolar H358 cells using liquid chromatography-mass spectrometry. Chemical Research in Toxicology 20(9): 1331-41
- 60.Kaplan L.A.(1989).** Glucose. En: LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry : Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Compagny .PP: 850-856.
- 61.Karmen A. (1955).** A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxallicetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest.Chap(34).PP: 131-133.

- 62.Klesges R.C., Meyers A.W., Klesges L.M., Lavosque M.(1989).**« Smoking body weight and their affects on smoking beavior. A comprhnsive review of the literature”. Ed. Psychol Bull. PP:203-204.
- 63.Knoll VE.(1970).**Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem.Chap (8).PP: 582-587. -
- 64.Koller A et LA Kaplin.(1989).** Total serum protein. In: Clinical Chemistry: Theory, analysis and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, Eds. St. Louis: The C.V. Mosby Compagny.PP: 1057-1060.
- 65.Koning R et Letac B.(1985).** électrocardiographiques et circulatoires, E.M.C Coeur et vaisseaux, 11003 MIO.PP:8.
- 66.Krueger J.K et Rohrich R.J.(2001).** Clearing the smoke : the scientific rationale for tobacco abstention with plastic surgery. Plast Reconstr Surg; 108.PP: 1063-1073.
- 67.Kumra Vet Markoff B.(2000).** Who’s smoking now? The epidemiology of tobacco use in the United States and abroad. Clin Chest Med.Chap(21).PP:1–9.
- 68.Landers D.M et Debraj. (1992).**the effects of smokeless tobaco on performance and psychophysiological response. Med SCI. Sport Exerc, 24.Chap(8).PP : 895-903.
- 69.Laraqui et Chakib.(1998).**Vivre sans tabac, Les guides de la médecine.PP :1-103.
- 70.Larrenendy C., Diviné C., Asnafi-farang S., Lagrue G.(2004).**“Intérêts des different marqueurs biologiques dans l’valuation du tabagisme”. Ed.Pathologie biologique. PP :164-172.
- 71.Louaderback A., Mealey E.H., Taylor N.A. (1914).** A new dye-binding technic using bromcreol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem.Chap (14).PP: 793-794.
- 72.Ling H., Sayer J.M., Plosky B.S., Vagi H., Boudsocq F., Woodgate R., Jerina D.M., Yang W. (2004).** Crystal structure of a benzo[a]pyrene diol epoxide adduct in a ternary complex with a DNA polymerase. Proceeding of the National Academy of Sicences United States of America 101(8):2265.PP:9.
- 73.Lubert Stryer., Jeremy Mark Berg., John L.(2003).** Tymoczko (trad. Serge Weinman), *Biochimie*, Flammarion, « Médecine-Sciences », Paris, 5<sup>ème</sup> edition.

- 74.Luch A .(2005).** Nature and nurture -lessons [rom chemical carcinogenesis. Nature Review, Cancer 5(2).PP:113-125.
- 75.Mariebe E.N.(1993).** Anatomie et physiologie humaine; De Boeck Université Editeur .Physiologie Editions Pradel pour le laboratoire zeneca.
- 76.Martinet Y et Bohadana A.(2001).**Le tabagisme. De la prévention au sevrage, Paris : Masson. PP :50-58.
- 77.Michel Bounias. (1990).** Toxicologie. france : faculté des Science .PP :352.
- 78.Mitchell B.D., Hawthorne V.M., Vinik A.I.(1990).** Cigarette smoking and neuropathy in diabetic patients. *Diabetes Care* ; 13.PP: 434-437
- 79.Miller K.P et Ramos K.S.(2001).** Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo[a]pyrene and related hydrocarbons. *Drug Metab Rev.*;33(1):1-3S.
- 80.Moss G.A.(1975).**Kinetic Enzymatic method For determining serum creatinine.Chap (21).PP:1422-1426.
- 81.Mpower Package.(2008).** World Health Organization. Report on the global tobacco epidemic. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- 82.Murray R.L.(1989).** Alanine aminotransferase. In:Clinical chemistry:Theory,Analysis and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, Eds. St. Louis:The C.V. Mosby Company.PP: 895-898.
- 83.Nagalingam A., Seo K.Y., Loechler E.L. (2005).** Mutagenesis studies of the major benzo[a]pyrene N2-dG adduct in a S'-TG versus a S'-DG sequence: removal of the methyl group causes a modest decrease in the [G->T/G->A] mutational ratio. *Mutagenesis* 20(2): 105-10.
- 84.Nelson.(1944).** A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* PP : 375-380.
- 85.Nousiainen D., Torronen R., Hanninen . (1984).** Differential induction of varioLIS carboxylesterases by celtain polycyclic aromatic hydrocarbons in the rat. *Toxicology* 32(3).PP:243-251.

- 86.Patton.(1977).**Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammoniac. Anal Chem.Chap( 49).PP: 464-469.
- 87.Perna F.M., Perierre A., Klimas N.(1999).** Cardiopulmonary changes in response to exercise training in smokers. Med Sei Sports Exerc.Chap(31). PP : 973-977 .
- 88.Picard N. (2005).** Études In vitro et in vivo du métabolisme du mycophénolate et des interactions métaboliques entre médicaments immunosuppresseurs.
- 89.Pierrick Horde. (2002).**effets de nicotine .[http://sant-medecine.commentcamarche.net /contents/tabac/02\\_realiser-avant-tout-ce-que-contient-une-cigarette-une-cigarette-legere-le-cigare-le-narguile-les-bidies.php3\(02,06,2012\).](http://sant-medecine.commentcamarche.net /contents/tabac/02_realiser-avant-tout-ce-que-contient-une-cigarette-une-cigarette-legere-le-cigare-le-narguile-les-bidies.php3(02,06,2012).)
- 90.Pinnel A.E et Northam B.E.( 1978).**Nez automated dye-binding method for serum albumun determination with bromcreol purple. Clin Chem.Chap (24).PP: 80-86.
- 91.Potron G., Culioli Pickel B., Bechar C., Droule C., Nguven P., Adzizian J.C.(1990).** Automatisation en hématologie. Encycl. Med chir. (Paris- France). Sang, 13000 B 10.PP :19.
- 92.Provosr A.(2004).**Industrie du tabac .pp :350 .
- 93.Ramesh A., Inyang F., Hood D.B., Archibong A.B., Knuckles M.E., Nyanda A.M .(2001).** Metabolism, bioavailability, and toxicokinetics of benzo(alpha)pyrene in F-344 rats following oral administration. Experimental and Toxicologie Pathology.Chap(4).PP:275-290.
- 94.Reigler E.(1914).** Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z nal Chem (53).PP:242-245.
- 95.Reitman S ., Frankel S.(1957).** A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol .Chap(28).PP:56-63.
- 96.Robert F.S., Hugh M.M., Gordon A .(1998).**“Assessment of simple colorimetric procedures to detdrmine smoking status oe diabetic subjects”. Ed.Clin Chem .PP:275-280.
- 97.Robert N.(1999).** The Nazi war on cancer, Princeton, N.J., Princeton University Press. PP:380.
- 98.Rose J.E., Mukhin A.G., Lokitz S.J., Turkington T.J., Herskovic J., Behmb F.M., GargcS., Gargc P.K.(2010).** Kinetics of brain nicotine accumulation in dependent and

nondependent smokers assessed with PET and cigarettes containing <sup>11</sup>C-nicotine. Pnas. PP : 107.

**99.Rouquet R.M.(2009).** le tabac : données épidémiologiques récentes et bases du sevrage tabagique, Revue des maladies respiratoires Actualités, volume 1, Issue 4.PP :275-279.

**100.Sabine Jenny.(2013).** Le cancer du pancréas (Informations de la Ligue contre le cancer pour les personnes touchées et leurs proches).Ligue suisse contre le cancer, Berne : Willi R. Hess, dessinateur scientifique, Berne. PP :9-29.

**101.Sampson E.J. (1980).** A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea measuring urea in serum:optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem.Chap (26).PP: 816-826.

**102.Sims P et Grover P.L., Swaisland A., Pal K., Hewer A. (1974).** Metabolic activation of benzo(a)pyrene proceeds by a diol-epoxide. Nature 252(5481):326-8.

**103.Smith C et Fischer T. (2001).** Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction, Atherosclerosis.

**104.Solomon S.(1990).**“Les drogues et le cerveau”. Ed. L’univers des sciences.

**105.Somogyi M.(1937).** A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. Chap(17).PP : 771-776.

**106.Songe et Coll .(1998).**Medecine militaire vol portant sur une etude re 2635 fumeurs et non fumeurs 18 A 26 ANS.PP :163.

**107.Szczeklik A., Szczeklik J., Galuszka Z., Musial J., Kolarzyk E., Targosz D .(1994).** Humoral immunosuppression in men exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and related carcinogens in polluted environments. Environmental Health Perspectives Chap (3).PP:302-4.

**108.Talke H.(1965).** Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test Warburg. Klin Wochensh. PP:174-175.

**109.Thielen A., Klus H., Muller L.(2008).** Tobacco smoke: unraveling a controversials subject, Exp Toxicol Pathol .

- 110. Thyssen J., Althoff J., Kimmerle G., Mohr U. (1981).** Inhalation studies with benzo[a]pyrene in Syrian golden hamsters. *Journal of the National Cancer Institute* .PP :575-577.
- 111. Tonhazy N.E., White N.G., Umbreit W.W.(1950).** A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* .Chap(28).PP: 36-42.
- 112. Turner R.C., Millns H., Neil H.A., Stratton I.M., Manley S.E., Matthews D.R.(1998).** Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). *BMJ* ; 316.PP: 823-8.(
- 113. Van Slyke.(1914).** A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*.Chap(19).PP: 211-228.
- 114. Viala A.(1998).** *Eléments de toxicologie*, Edition Tec & Doc Lavoisier et édition médicales internationales.
- 115. Vickery H.B ., Pucher G.W.(1929).** The determination of "free nicotine" in tobacco: The apparent dissociation constants of nicotine. *J. Biol. Chemistry*.PP: 233-241.
- 116. Wayne P.A et NCCLS.(1992).** National Committee for Clinical Laboratory standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POLI-T2.
- 117. Webster D., Bignell A.H.C., Attwood E.C.(1953).** An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta*.Chap(53).PP:101-108.
- 118. Weichselbaum.(1946).**An accurate and rapid method for determination of total protein in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* .Chap(16).PP:40-49.
- 119. Whelton A.(1994).**Nitrogen Metabolites and renal Function. En: CA Burtis and ER Ashwood, comps., *Tietz Rexbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philidelphia: W.B. Saunders Compagny.PP:1513-1575.
- 120. Wróblewski F et LaDue J.S.(1956).**Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med*.Chap(91).PP: 569-571.

**121. Yamazaki H et Kakiuchi Y. (1989).** The uptake and distribution of benzo[a]pyrene in rat after continuous oral administration. *Toxicol Environ .Chap(24).PP:195-104.*

**122. Zhao B., Wang J., Geacintov N.E., Wang Z. (2006).** Poleta, Polzeta and Rev1 together are required for G to T transversion mutations induced by the (+)-and (-)-trans-anti-BPDEN2-dG DNA adducts in yeast cells. *Nucle Acids Research ;34(2).PP:417-425.*

## **Etude des effets de cigarette sur quelques paramètres biochimiques et hématologiques**

### **Résumé**

Le tabagisme est une épidémie des temps modernes, il représente la première cause de décès prématuré dans le monde, et c'est la cause de nombreuses maladies de cancers, et en raison de ses effets métaboliques, ce qui est toujours inconnu pour les scientifiques, et les fumeurs, il est également le type de cigarette et la durée de l'exposition à la fumée secondaire sont des facteurs essentiels dans l'apparition de tumeurs et de divers effets toxiques.

Et pour étudier l'impact du tabagisme sur les indicateurs du sang et du biochimique, on a diagnostiqué 12 personnes, on les a divisés en 3 groupes. un groupe qui contient 4 personnes non-fumeurs, un autre groupe F01 qui contient 4 personnes qui fument depuis 10 ans et un deuxième groupe qui fume plus que 10.

Les résultats qu'on a obtenus ont montré que l'analyse quantitative de quelques indicateurs du sang, on a inscrit : La diminution de la concentration de l'hémoglobine du sang et l'augmentation du nombre des globules rouges et blancs. Hors les indicateurs biochimiques qui représentent la diminution des triglycérides et l'augmentation de l'albumine et le cholestérol et la créatine et la protéine, il a clairement montré un grand changement entre les concentrations d'albumine enregistrées dans le groupe qui contient 4 personnes qui ne sont pas exposées à la fumée et les deux groupes F01 et F02 ce qui confirme leur exposition au risque de maladie dangereuse en raison de leur consommation excessive de tabac.

**Mots clés :** Tabac, cigarette, métabolisme, paramètres biochimiques, paramètres hématologiques

## **Study the impact of smoking on indicators of blood and biochemical diagnosis**

### **Summary**

Smoking is an epidemic of modern times, it is the first cause of premature death in the world, and this is the cause of many cancers disease, and due to its metabolism outputs, which is still unknown expensive scientists and smokers, it is also the type of cigarette and duration of exposure to secondhand smoke are critical factors in the development of tumors and various toxic effects.

And to study the impact of smoking on indicators of blood and biochemical diagnosis was 12 people, was the converse is 3 groups. a group which contains 4 non-smoking people, another group that contains 4 people who smoke and 10 and a second group who smoke more than 10.

The results we obtained showed that the quantitative analysis of a blood indicators was registered: The decreases in blood hemoglobin concentration and the increase in the number of red and white blood cells. Biochemical indicators represents the reduction in triglyceride and increased albumin and cholesterol creatine and protein, it clearly showed a big change between the idealism of concentration recorded in the group that contains 4 who are not exposed to the smoke and both F01 and F02 group is confirming their exposure to risk dangerous disease is due to excessive smoking.

**Met Keywords:** Tabacco, cigaretter, metabolism, biochemical parameters, hematological.







