

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة المسيلة

UNIVERSITE DE M'SILA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION:ANALYSES BIOCHIMIQUES

Présenté par

FELLAK Housam

Thème :

**ETUDE DE L'IMMUNOTOXICITE AIGUE DU BENZENE SUR
QUELQUES PARAMETRES IMMUNOLOGIQUES CHEZ LES LAPINS**

Oryctolagus cuniculus

DEVANT LE JURY :

SELLOUM Mounir

MAA

Président

BOUAOUICHE Abderrahmene

MCB

Encadreur

BENKHALED Abderahim

MAA

Examinateur

BOUDRISSA Abd el karim

MCB

Examinateur

Promotion : 2013-2014

Remerciements

Nous remercions le Bon Dieu et nous lui rendons grâce pour nous avoir donné force et volonté afin de mener à terme ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué, que soit de près ou de loin, chacun à sa manière, à l'élaboration de ce mémoire.

Nous remercions notre encadreur Dr Bouaouiche .A que nous devons respecte et gratitude pour nous avoir guidés afin de mener à bien élaboré cette mémoire.

Nous remercions le directeur et l'ensemble des enseignements du département de Microbiologie et Biochimie.

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail.

Et enfin nous remercions tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de ce travail.





DEDICACES

Je dédie ce travail

A Dieu

Le clément et Miséricordieux, pour sa grâce. Puisse Allah le tout puissant m'éclairer de sa lumière divine.

A mon père

Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour. Tu as su nous inculquer les règles de bonnes conduites. Je prie le tout puissant de te donner une longue vie et nous aider à être toujours ta fierté. Père, ce travail est le tien ...

A ma mère

*Tu as toujours été de cœur avec nous, Inné
Tu n'as économisé aucun effort pour la réussite de tes enfants. Nous ne saurons jamais te remercier assez.
Que Dieu te garde longtemps avec nous. Trouve à ce travail un début de récompense de tes sacrifices.*

A mes sœurs : et mon frères

Je vous remercie pour votre affection et la confiance que vous me porter.

A mes enseignants du fondamentale et du lycée

Merci pour la bonne formation de base que j'ai bénéficié auprès de vous.

A mes ami (es) du fondamentale, du lycée

Soyez assurer cher ami (es), l'expression de ma profonde gratitude.

Liste des figures

Figure (1): Le pourcentage des métabolites du benzène dans l'urine.....	05
Figure (2) : Métabolisme du benzène.....	08
Figure (3) : Le pourcentage de points soulevés (benzène) dans l'urine de lapin.....	10
Figure (4. A. B) : Le Mécanisme d'action de benzène sur l'ADN.....	12
Figure (5) : Illustre le métabolisme de l'hydroquinone au niveau du système phagocytaire (Macrophage)	14
Figure (6): L'impact d'hydroquinone sur les Macrophages.....	16
Figure (7): les cellules souches au cours du processus hématopoïétique.....	18
Figure (8) : Technique de frottis sanguin	22
Figure (9) : Schéma d'une lame de Malassez.....	23
Figure (10) : Schéma d'une grille de Malassez.....	24
Figure (11) : Observation au microscope d'un des 25 rectangles quadrillés de la cellule de Malassez utilisée (grossissement X400).....	24
Figure (12): Variation du taux de lymphocytes chez les lapins.....	28
Figure (13): Variation du taux Gammaglobulines (mg/l).....	31
Figure (14): Variation du taux protéine sériques $\alpha 1$ (mg/l).....	34
Figure (15): Variation du taux protéine sériques $\alpha 2$ (mg/l).....	34
Figure (16): Variation du taux de Tests Sédimentations d'érythrocytes (mm).....	35
Figure (17): Variation du taux Sédimentations d'Erythrocyte première heure (mm).....	36
Figure (18): Variation du taux Sédimentations d'Erythrocyte deuxième heure (mm).....	36
Figure (19): Variation du taux d'Eosinophile (mm^3).....	38

Abréviation

ADH : Alcool déshydrogénase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ALDH: Aldéhyde déshydrogénase.

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

BFU-E: Bone Forming Units érythrocyte.

Calpaine: Calcium activated neutral protéase.

CFC: Colony Forming Cells.

CFU-B: Basophilic colony forming unit culture.

CFU-E: Eosinophilic colony forming unit culture.

CFU-G: Granulocyte colony forming unit culture.

CFU-GM: Granulocyte macrophage colony forming unit.

CFU -MK: Colony Forming Units Megakaryocytes.

CFU-S: Cellule souche pluripotente (Colony Forming Unit Stimulating).

CIRC: Centre international de recherche sur le cancer.

CSF : Colony Stimulating Factor.

CYP 450: Cytochrome.

DHDD: Dihydrodiol dishydrogénase.

EH: Epoxyde hydrolase.

G 2: Gap2.

G-CSF: Granulocyte-Colony Stimulating Factor.

GR: Globule rouge.

CSH: cellules souches hématopoïétiques.

GTP: Guanine triphosphate.

IgA : Immunoglobuline A.

IgG : Immunoglobuline G.

IgM : Immunoglobuline M.

IL : Interleukine.

LPs : Lipopolysaccharide.

LT : Lymphocyte T.

LTF : fibroblastoides stromales.

M : Mitose.

MPO : Myéloperoxydase.

NQ01 : NADPH quinone oxydoréductase.

8-OHdG: 8- hydroxy Guanine.

PB: Polynucléaire basophile.

PE : Polynucléaire éosinophile.

PGG2: Hydroperoxidase.

PGH2: Hydro-Prostaglandine.

PHA : Prostaglandine-H-Synthetase.

PISC : Programme international sur la sécurité des substances chimiques.

Sommaire

Sommaire

Introduction	01
PARTIE 1 : Synthèse bibliographiques	
I. Les sources d'exposition au benzène.....	02
1.1. L'eau.....	02
1.2. L'air.....	02
1.3. Le sol.....	02
1.4. Les Aliments.....	02
1.5. Les produits de consommation.....	03
1.6. Dans le milieu professionnelle.....	03
1.6.1. Des métiers plus exposés.....	03
1.7. Le mouvement de benzène	04
1.7.1. Les différentes voies d'absorption du benzène.....	04
1.7.1.1. Travers les poumons	04
1.7.1.2. Voies oral	04
1.7.1.3. Travers la peau	06
1.7.1.4. La Distribution	06
1.7.1.5. Le Métabolisme du benzène	08
1.8.Effet du benzène sur les macromoléculaires.....	11
1.8.Effet du benzène sur l'ADN.....	11
1.10. Effet du benzène sur les protéines.....	13
1.11. Les variations des taux de la prostaglandine	13
1.12. Effet de benzène sur le système immunitaire.....	15
1.13. L'effet de benzène sur le tissu sanguin	17
PARTIE 2 : Matériels et Méthodes	
II. Animaux	19
II.1. Elevage.....	19
II.1.1. Lieu d'élevage	19
II.1.2. Conditions d'élevage.....	19
II.2. Traitement des Animaux.....	20
II.2.1. Traitement par le benzène.....	20
II.2.2. Traitement par la thyroglobuline.....	20

II.3. Prélèvements du sang.....	20
II.3.1. Sanguin	20
II.3.2. Protocole experimental.....	21
II.4. Analyse statistique des données.....	22
II.5. Frottis sanguins et coloration	22
II.5.1. Frottis sanguins	22
II.5.2. Coloration.....	23
II.5.3. Lecture.....	23
II.5.4. Observations et exploitations.....	23
II.5.4.1. Etude quantitative des lymphocyte et des éosinophiles.....	23
II.6. Dosage et séparation des protéines sérique $\alpha 1$ et $\alpha 2$ et gammaglobuline par électrophorèse sur acétate cellulose	25
II.6.1. Principe.....	25
II.6.2. Réactifs utilisés.....	25
II.6.3. Technique	25

PARTIE 3 : Résultats

III.1. Le rôle du système immunitaire.....	27
III.1.1. Étude de la réponse Immunitaire	27
III.1.1.1. Variation du taux lymphocytes.....	27
III.1.2. Variation du taux gammaglobulines.....	30
III.1.2. Étude de la réponse inflammatoire.....	33
III.2.1. Protéines immunitaires $\alpha 1$ et $\alpha 2$	33
III.2.2. Tests de sedimentations des érythrocytes.....	35
III.2.3. Variation du taux d'éosinophile.....	37
III.4. Résultats des frottis.....	39

PARTIE 4 : Discussion

IV. Discussion.....	41
Conclusion	44
Références bibliographiques	45

Annexe

Introduction

Introduction

Les maladies professionnelles caractérisées par la continuité de l'exposition aux substances nocives, en particulier celles utilisées dans l'industrie moderne, parmi les quelles composés aromatiques dont le plus important est le benzène étendue à une échelle commerciale et en raison de la formule chimique active qui lui permet de basculer facilement vers le matériel nécessaire au niveau mondial.

Les résultats de l'exposition continue à des quantités infimes de benzène à une lésion tissulaire provoquent l'anémie (maladie de sang) et souvent des anémies hémolytiques (Snyder & Kocsis, 1975).

Pour cette raison, de nombreuses études sont réalisées pour déterminer l'effet de benzène sur les composants du sang et compte tenu de la gravité de cette maladie qui se tient actuellement des études approfondies sur l'impact du métabolisme de cette substance sur le tissu sanguin et le système immunitaire (Richard, 1981 ; Kalf & Snyder, 1995).

Le travail se vent comme buts étude des effets du benzène sur certains composants du sang (globules rouges, globules blancs) et quelques-uns des facteurs du système immunitaire (gammaglobulines et les ganglions lymphatiques) grâce à trois types d'études: étude sérologique, étude biochimique et étude histologique.

La sollicitation de son inhibition aux augmentations de système immunitaire a été faites par application de deux doses différentes de benzène et la thyroglobuline.

Les facteurs suivants ont été mesurés :

- Variation du taux Gammaglobulines;
- Prolifération lymphocytaire et éosinophile (taux de lymphocytes) ;
- Production d'anticorps (δ globuline) ;
- Production des protéines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ (taux des protéines sériques) ;
- Tests Sédimentations d'érythrocytes ;
- Frottis sanguins.

Partie 1

Synthèse Bibliographiques

I. Les sources d'exposition au benzène

Le principale source d'exposition au benzène est l'air ambiant (98 à 99 %) et une faible partie de l'exposition se fait par l'eau potable (1 à 2 %).

Les volcans, le pétrole brut, les feux de forêts et certaines espèces végétales qui produisent des composés volatils comptent parmi les sources naturelles de benzène (Graedel, 1978; CIRC, 1982).

Le benzène est présent dans certains aliments et une certaine exposition peut découler d'activités liées à l'automobile. Les fumeurs peuvent être exposés chaque jour à ces concentrations de benzène beaucoup plus élevées qu'un non-fumeur, soit environ 10 fois plus.

I.1. L'eau

Les eaux souterraines peuvent contenir du benzène libéré par des roches pétrolifères

I.2. L'air

En général, les concentrations moyennes de benzène dans l'air ambiant sont plus élevées là où il y a exposition à des sources industrielles et dans les régions urbaines; elles sont plus basses dans les régions rurales et dans les banlieues (Environnement Canada, 2001).

Les concentrations de benzène dans l'air sont généralement plus élevées à l'intérieur qu'à l'extérieur (Zhu *et al.*, 2005). Les sources de benzène dans l'air intérieur comprennent les colles, les peintures, les cires à meubles et certains détergents.

I.3. Le sol

La contamination du sol par le benzène résulte généralement du déversement ou de fuites d'essence ou d'autres produits du pétrole contenant du benzène à partir des réservoirs de stockage par exemple les réservoirs souterrains.

La contamination du sol n'est pas directement à l'origine d'une exposition humaine importante au benzène car ce dernier s'évapore rapidement du sol (Pisc, 1993).

I.4. Les Aliments

Le benzène a été détecté dans divers aliments notamment : les produits laitiers , la viande , le poisson , les desserts , les produits de boulangerie , les noix , les produits à base de noix, les fruits , les légumes et les oeufs.

Les concentrations de benzène dans les aliments variaient généralement de 1 à 190 µg/kg par exemple le boeuf haché en contenait de 9 à 190 µg/kg, les bananes de 11 à 132 µg/kg, les colas gazéifiés de 1 à 138 µg/kg et la salade de chou avec vinaigrette de 11 à 102 µg/kg (Fleming-Jones & Smith, 2003).

I.5. Les produits de consommation

La population générale peut aussi être exposée au benzène en raison d'activités liées à l'automobile ou à cause du tabagisme. Un fumeur moyen (qui fume quotidiennement 32 cigarettes ayant un contenu moyen en goudron) inhale environ 1.8 mg de benzène par jour ce qui représente environ 10 fois la dose quotidienne d'un non-fumeur de plus la fumée de tabac présente dans l'environnement peut causer une augmentation mesurable de la dose de benzène inhalée (Wallace, 1989b, 1996; Thomas *et al.*, 1993).

Les activités liées à l'automobile peuvent contribuer à augmenter la dose de benzène absorbée par l'inhalation de vapeurs d'essence et de gaz d'échappement. Une exposition accrue au benzène a été associée à la durée de la conduite automobile, au remplissage des réservoirs d'essence et à l'inhalation de l'air intérieur des résidences ayant un garage attenant (Wallace, 1989b).

I.6. Dans le milieu professionnelle

Dans les pays occidentaux, 90 % du benzène est utilisé comme réactif de base dans la production de plusieurs substances chimiques tels que l'éthylbenzène, le cumène et le cyclohexane.

Plus loin dans la chaîne, ces produits secondaires sont employés dans la production de styrène, de phénol, d'acétone, de résines de nylon... etc. Jusqu'à tout récemment, le benzène était employé dans l'industrie de la chaussure, du cuir et du vêtement, de la rotogravure, du caoutchouc et des pneus comme composant de la colle utilisée.

I.6.1. Des métiers plus exposés

Certaines professions sont à surveiller puisqu'elles peuvent être exposées quotidiennement aux effets toxiques du benzène :

- Ø Les citernistes lors des phases de chargement dans les camions citernes (chargement en vrac ou par le dessus).
- Ø Les réparateurs de pompes à essence et mécaniciens garagistes ont été exposés lors du nettoyage de pièces mécaniques ou de vidange de cuves.
- Ø Les chauffeurs-livreurs et chauffeurs de taxi subissant les émanations de benzène de la circulation automobile (gaz d'échappement et réservoirs d'essence).
- Ø Les ouvriers de la maintenance et du nettoyage dans l'industrie chimique, lors d'interventions sur des équipements de synthèse chimique.
- Ø Les techniciens des laboratoires de contrôle et de recherche utilisant le benzène pur dans leurs protocoles .

Ø Les salariés de l'industrie des parfums ou du cuir .Outre les bûcherons, une étude récente a montré la nécessité d'améliorer les conditions de travail et du suivi médical chez les citernistes et les mécaniciens. 12% des citernistes et 3% des mécaniciens sont en effet exposés à une concentration de benzène supérieure à 1 ppm.

I.7. Le mouvement de benzène

I.7.1. Les différentes voies d'absorption du benzène

I.7.1.1. Travers les poumons

Elle est la voie de pénétration prépondérante avec un stockage pulmonaire variant de 30 à 80 % de la quantité inhalée. Le benzène passe auparavant par les voies pulmonaires supérieures où une absorption importante est souvent possible. Les parois des alvéoles et des capillaires sont très minces, la distance de diffusion est ainsi réduite en minimum donc le benzène atteint le sang assez facilement.

La solubilité du benzène dans le sang détermine le taux de transfert entre les alvéoles et le sang.

I.7.1.2. Voies oral

Cette voie est exceptionnelle et ne concerne que les ingestions accidentelles ou involontaires comme on dit dans l'air expiré tandis que le reste est métabolisé dans l'urine. Les proportions indiquées dans le tableau (1).

Tableau (1) : Le pourcentage des métabolites du benzène dans l'urine.

Substance	%
Phénol lié	34
Hydroquinone	8.4
Catéchols	2.7
Acide Muconique	1.3
acide phénylique Marcaptric	0.5
Quinone hydrox	0.3

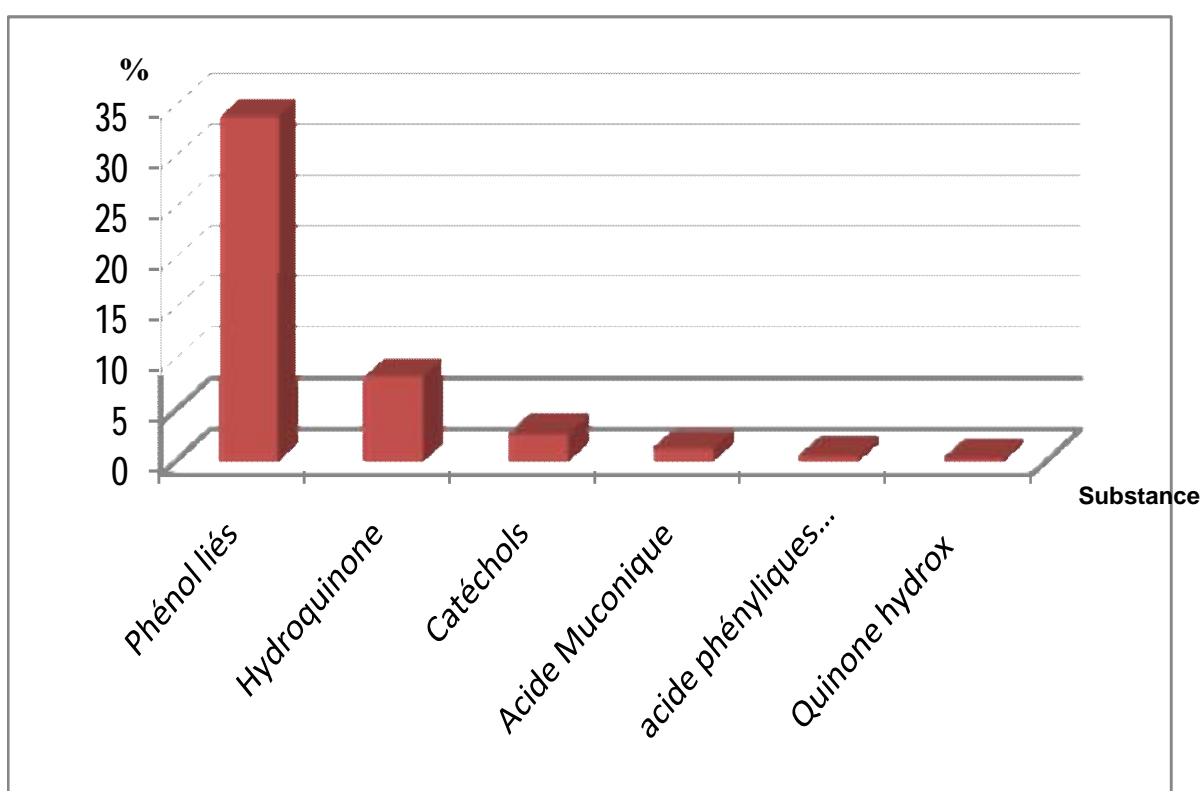


Figure (1): Le pourcentage des métabolites du benzène dans l'urine.

I.7.1.3. Travers la peau

Cette voie est loin d'être négligeable surtout quand le benzène entre en contact avec la peau par des vêtements souillés ou lors du trempage des mains nues dans le solvant. La peau est peu perméable offrant ainsi une barrière généralement très efficace mais certains toxiques tel que le benzène pourront être suffisamment absorbés par la peau pour produire des effets systémiques.

Pour traverser la peau le benzène doit traverser l'épiderme où suivent les appendices cutanés.

I.7.1.4. La Distribution

Le benzène absorbé par l'inhalation est distribué dans la plupart des organites mais il s'accumule principalement dans les tissus adipeux comme le cerveau (Rikert & Bakerts, 1979). Chez les souris qui avaient inhalé (500ppm) de benzène pendant six heures, le benzène est réparti comme suit (Rikert & Bakerts, 1979; Dowty *et al.*, 1976).

Sang	11.5mg/kg
La moelle osseuse.....	37.7mg/kg
Le tissu adipeux.....	164.0mg/kg

En dernier dans la rate, les reins, les poumons et le foie. Le pourcentage de benzène (0.004mg/m³) absorbé par la peau après 48 heures a été la suivante (Skowronski *et al.*, 1988).

Reins.....	0.026%.
Foie.....	0.013%.
La peau.....	0.11%.

I.7.1.5. Métabolisme du benzène

Le métabolisme du benzène a été beaucoup étudié mais les étapes conduisant à la toxicité du benzène ne sont pas encore complètement comprises. Les données concernant le métabolisme chez l'homme proviennent dans un premier temps d'études par inhalation. Qualitativement, le métabolisme et l'élimination du benzène apparaissent comme étant similaires chez l'homme et chez l'animal de laboratoire. Le benzène est métabolisé essentiellement dans le foie mais aussi dans d'autres tissus où il s'est fixé, notamment la moelle osseuse. Un schéma du métabolisme du benzène extrait du profil toxicologique du benzène publié par l'ATSDR en 2007 est présenté ci-après figure (2).

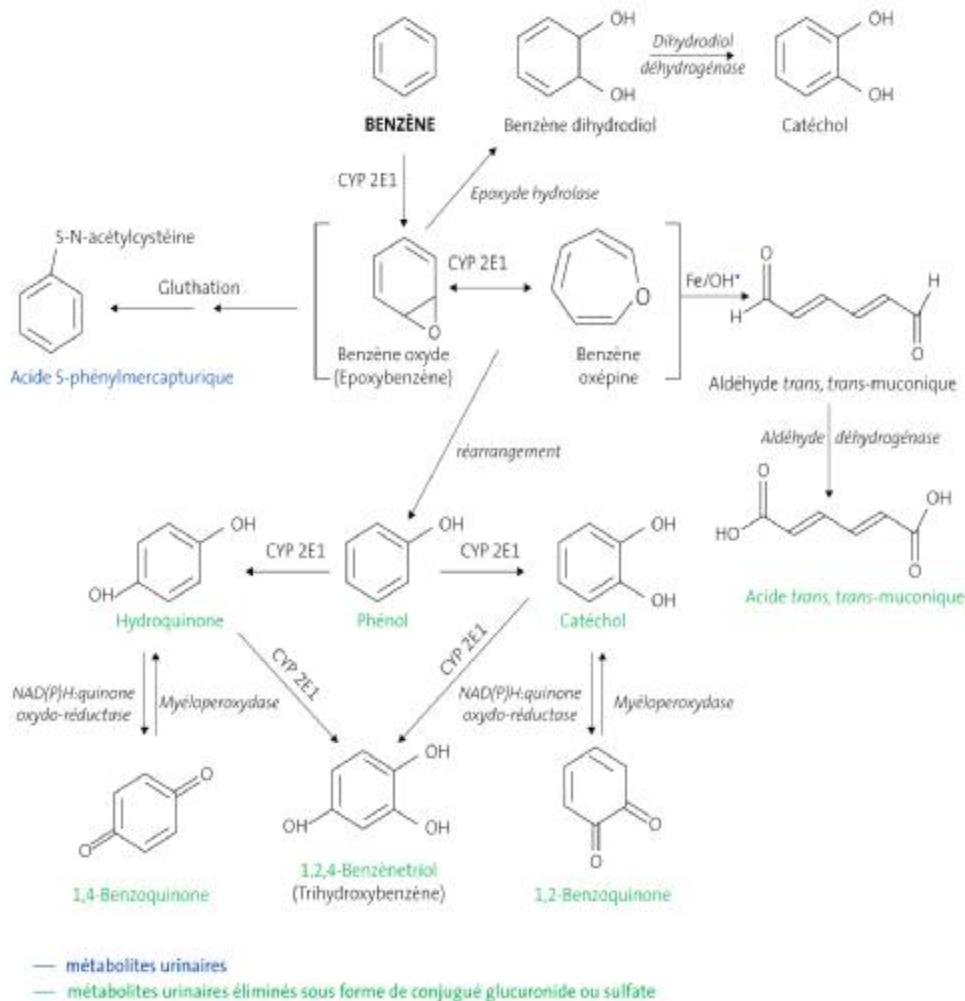
La première étape consiste en une oxydation du benzène en époxybenzène et en oxépine de benzène (formation en équilibre). Cette étape est catalysée par le CYP450 2E1 (Lindstrom *et al.*, 1997). Plusieurs voies sont ensuite impliquées dans le métabolisme de l'époxybenzène : la voie prédominante est un réarrangement non enzymatique conduisant à la formation de phénol (Jerina *et al.*, 1968). Le phénol est ensuite oxydé, en présence de CYP450 2E1, en catéchol et en hydroquinone qui sont respectivement oxydés en 1,2 et 1,4-benzoquinone via la myéloperoxydase (MPO) (Nebert *et al.*, 2002). Le catéchol et l'hydroquinone peuvent être métabolisés via le CYP450 2E1 en 1,2,3-benzènetriol. L'époxybenzène peut également former via l'époxyde hydrolase du dihydrodiol de benzène qui peut conduire à la formation de catéchol grâce à la dihydrodiol déhydrogénase (Nebert *et al.*, 2002 ; Snyder *et al.*, 1993a, 1999b). D'autres voies métaboliques de l'époxybenzène incluent :

- (1) Une réaction avec le glutathion afin de former l'acide S-phénylmercapturique (Nebert *et al.*, 2002; Sabourin *et al.*, 1988; Van Sittert *et al.*, 1993).
- (2) La formation d'acide trans, trans-muconique via le réactif intermédiaire trans, trans-muconaldéhyde (Nebert *et al.*, 2002; Ross, 2000). Les voies métaboliques responsables de la formation de métabolites présumés toxiques (benzoquinone et hexa-2,4-diènedial) correspondraient à un processus saturable à des doses relativement faibles (Hendersen *et al.*, 1989, 1990; Medinsky *et al.*, 1989).

Chaque métabolite phénolique du benzène (phénol, catéchol, hydroquinone et 1,2,4-benzènetriol) peut se glucuro ou se sulfo-conjuguer. Le phénol et l'hydroquinone ainsi conjugués sont les métabolites majeurs du benzène qui se retrouvent dans les urines après une exposition à des doses élevées de benzène (Sabourin *et al.*, 1998a ; Wells & Nerland, 1991).

Le métabolisme du benzène dans la moelle osseuse est complet et indépendant du métabolisme dans le foie (les concentrations de phénol dans la moelle sont plus élevées que le catéchol et l'hydroquinone). La concentration des métabolites dans la moelle osseuse excède celle du sang.

Les données disponibles chez l'homme à la suite d'une exposition par inhalation au benzène ont montré que la principale voie d'élimination du benzène non métabolisé est l'exhalation. Le benzène absorbé est également excrété via le métabolisme du phénol et de l'acide muconique. Ainsi, les dérivés conjugués (sulfates et glucuronides) sont excrétés dans les urines (Kok & Ong, 1994; Lagorio *et al.*, 1994). Ces dérivés peuvent être utilisés comme biomarqueurs de l'exposition au benzène.



Myéloperoxydase ;NQO1 :NAD(P)H :quinone oxydoréductase

Figure (2) : Métabolisme du benzène, issu de ATSDR, 2007: adapté de (Nebert *et al.*,2002; Ross,2000).

I.7.1.6. Elimination

Après inhalation, ingestion ou application cutanée, le benzène se retrouve principalement tel que dans l'air expiré et sous forme métabolisée dans les urines.

Chez la souris après ingestion de faibles quantités, 90% de la dose est excrétée dans les urines alors que pour des doses plus élevées, une proportion plus importante est exhalée sous forme non métabolisée ce qui indique une saturation du métabolisme du benzène.

Lors d'une exposition chronique, l'élimination pulmonaire varie entre 10 et 50% de la quantité absorbée ; elle se poursuit au moins 24 heures après l'arrêt de l'exposition. Les phénols urinaires correspondent au métabolisme de 30 à 40% du benzène et sont à 90% sous forme sulfo-conjuguée. Les métabolites conjugués de l'hydroquinone, du catéchol et l'acide

muconique sont également présents dans l'urine .La quantité urinaire de benzène non métabolisé représente moins de 1 % de benzène administré .L'élimination urinaire se poursuit pendant 24 à 36 heures .Une faible quantité de métabolites glucuroconjugués peut également être retrouvée dans les fèces après passage dans la bile.

Willams et Park (1953) rejetée le benzène saturée de concentration (34 mg / kg) chez le lapin par la bouche, et a noté que 43 % de benzène non transformé peut flotter dans l'air expiré, alors que le pourcentage estimé de la moins urinaires produits contenant métabolisé par 33 % divisé ce rapport en tant que dans le tableau (2).

Tableau (2) : Le pourcentage de points soulevés dans l'urine de lapin.

substance	%
Phénol liés	23.5
Hydroquinone	4.8
Catéchols	2.2
Acide Muconique	1.3
acide phényliques Marcaptric	0.5

Remarquez aussi le reste des produits métabolisé, mais en petites quantités comme Catéchols, benzotriol, Hydroquinone.

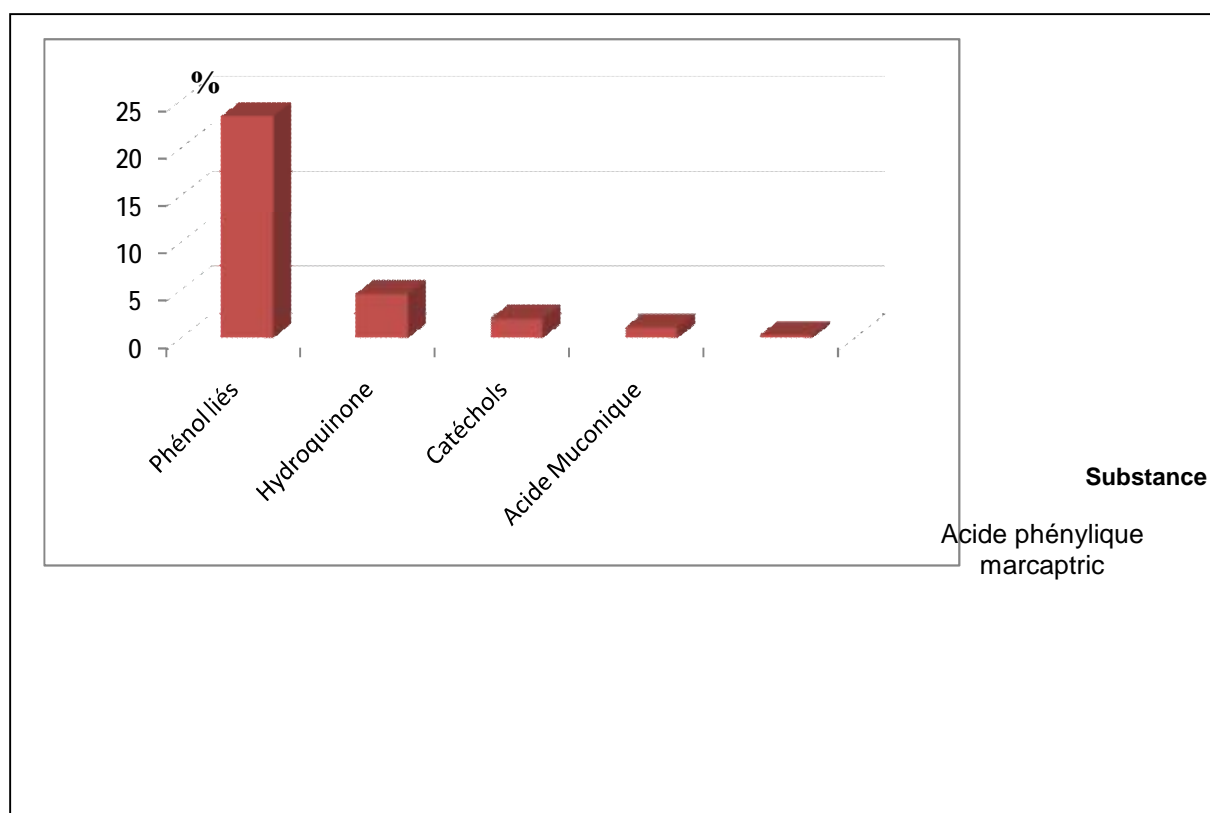


Figure (3) : Le pourcentage de points soulevés (benzène) dans l'urine de lapin.

I.8. Effet du benzène sur les macromoléculaires

Il y a nombreuses études pour démontrer les molécules et les cellules ciblées par le benzène et leurs dérivés.

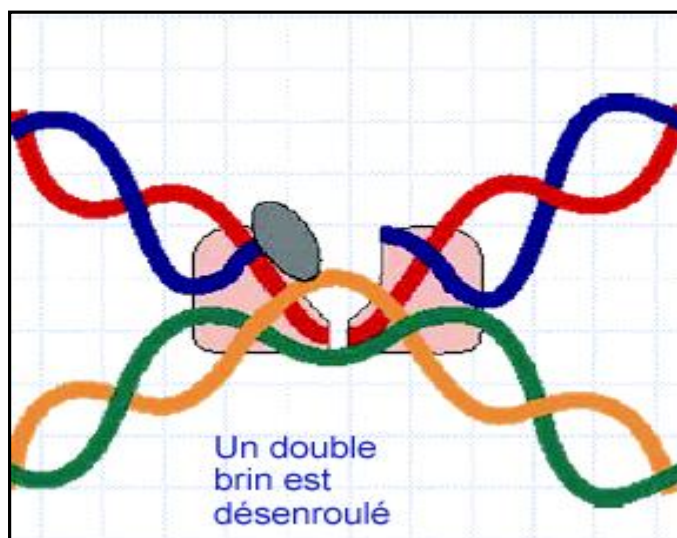
La plupart des études ont porté sur l'impact de 1-4 Benzoquinone et des produits du métabolisme phénolique parce que ces composés possèdent des caractéristiques particulières qui interviennent dans le processus de Myelotoxicité et disponibles sur le marché commercial.

I.9. Effet du benzène sur l'ADN

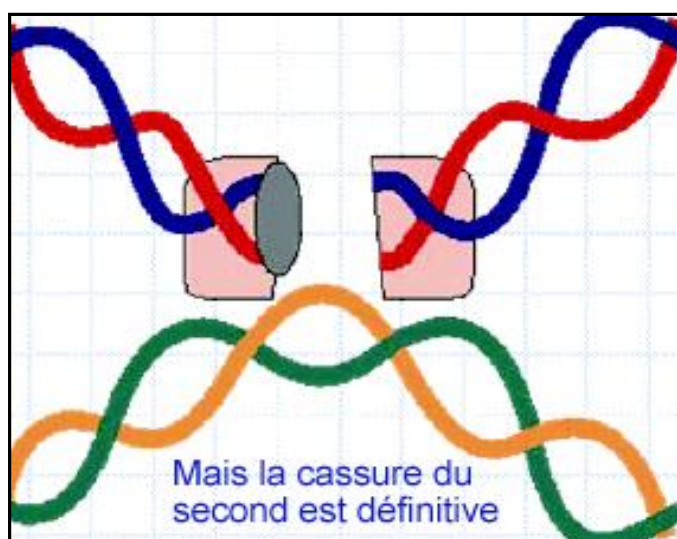
Après l'oxydation de l'hydroquinone par le Prostaglandine-H-Synthetase vers 1,4 Benzoquinone (Michael *et al.*, 1989 ; Richard *et al.*, 1982). Celle-ci produit une interruption similaires au niveau des ADN et inhibe le processus de duplication la figure (4.A.B) (Pellack & Blumer ,1986 ; Michael *et al.*, 1990 ; Kalf *et al.*, 1989). Conduisant à la formation de Micronucleaire au niveau des globules rouges (Polychromatique) situé dans le sang périphérique (Shimada & Satoand ,1988 ; Suzane *et al.*, 1989 ; Ciranni *et al.*,1988 ; Morimoto, 1983 ; Kreike ,1972).

Beaucoup des chercheurs ont montré que la nature des ADN a été déformé (Vangala *et al.*,1990 ; Yamasaki *et al.*,1977 ; Jowa., 1986 ; Norpoth *et al.*, 1988 ; Truchmore ,1984). Type de N7-phényl guanine8-Hydroxyguanine (8-OHdG), Deoxyguanosine1, N2 3-OH Benzophénol (Christine *et al.*, 1990 ; Snyder *et al.*, 1989 ; Haseltine *et al.*, 1983).

A ce jour il a été prouvé que la forme de l'ADN est déformée mais n'a pas des modifications apportées sur le nombre des chromosomes.



A : Un double brin est désenroulé



B : Mais la cassure du second est définitive

Figure (4. A. B) : Le Mécanisme d'action de benzène sur l'ADN (Vangala *et al.*, 1990).

I.10. Effet du benzène sur les protéines

De nombreuses études modernes ont montré que le peroxydase des Macrophages possède un processus actif de transformation d'Hydroquinone en 1,4 Benzoquinone, celui-ci associé rapidement avec des groupes sulfate de la protéine de cystéine (Schlosser & Kalf, 1989 ; Lunte & Kissinger, 1983).

Actuellement, il a été trouvé que l'hydroquinone inhibe la tubuline en raison de sa liaison avec GTP-Tubuline par totaux d'oxydation du sulfate, résultant l'arrêt de la division cellulaire au cours de la phase G2 et M chez les animaux, conduire à des interruptions au niveau de la piscine micro- filetée (Richard & Douglas, 1980 ; Mann *et al.*, 1974 ; Pflieger & Richard, 1983 ; Richard *et al.*, 1981 ; Richard & Douglas, 1980).

L'hydroquinone et le phénol ont un effet inhibitrice sur le processus de doublement en raison de l'impact direct sur DNA polymérase Gamma et Topoisomérase II (Schwartz *et al.*, 1986 ; Hangwei & David, 1995).

I.11. Les variations des taux de la prostaglandine

Récemment, Rhogani *et al.* (1987) ont montré que le benzène peut activer la protéine Kinase C de cerveau et aussi les enzymes des plaquettes. Les activateurs de Kinase C augmentent la libération de l'acide Arachidonique des phospholipides des plaquettes (Halenda *et al.*, 1985), et des macrophages (Pfankuche *et al.*, 1986).

Alternativement, une grande partie des métabolites réactives comme le P-benzoquinone interagit avec ces activateurs et endommage les composants de la membrane, causant le turnover des phospholipides et la libération d'acide Arachidonique (Smith & Borgeat, 1985). L'acide Arachidonique doit être transformé par le cycloxygénase (composant de la synthase de prostaglandine) en hydroperoxyde (PGG₂). L'hydroperoxyde active l'endoperoxydase. La cooxydation d'hydroquinone ou phénol durant la conversion de PGG₂ en PGH₂ (molécule précurseur de prostaglandine) par le peroxydase conduit à une augmentation du taux de prostaglandine (figure 5)). La cooxydation d'hydroquinone aboutit à la formation de P-benzoquinone qui cause la cassure d'ADN (Pellack *et al.*, 1986). Inhibe sa réplication (Pellack *et al.*, 1985 ; Schwartz *et al.*, 1986). Interagit avec les groupes du sulfhydryl des tubulines.

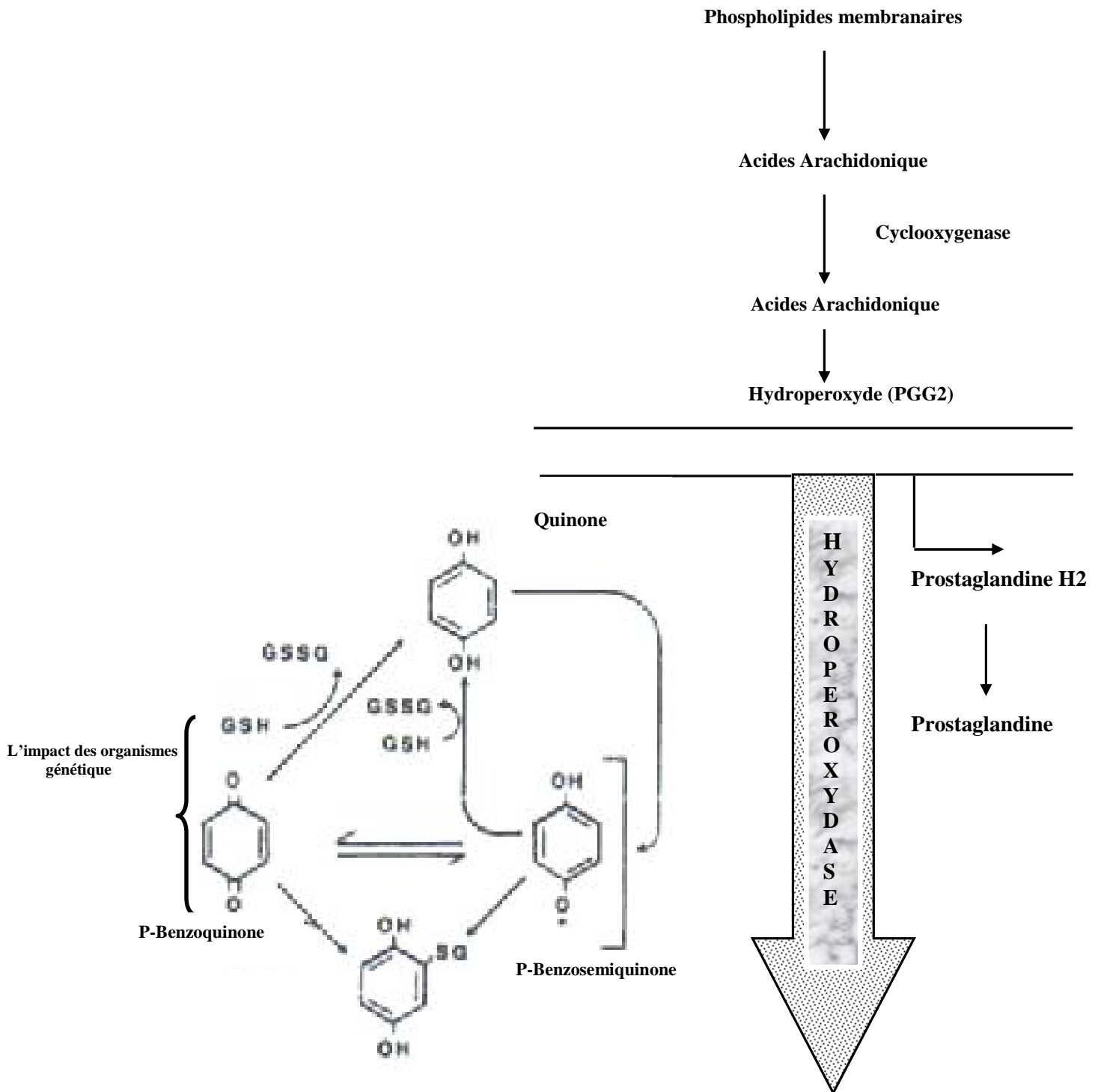


Figure (5) : Illustre le métabolisme de l'hydroquinone au niveau du système phagocytaire (Macrophage) selon (Lau & Monks, 1987).

I.12. Effet de benzène sur le système immunitaire

Beaucoup de médicaments et produits chimiques industriels sont des substances toxiques sur le système immunitaire, ont des préjudices différents: le manque de poids des éléments de la lymphe (ganglions lymphatiques, la rate) coïncide avec un manque de résistance aux blessures infection (Paul-p *et al.*, 1990). En outre, il y a des composés qui l'inhibent, tels que: Benzopyrène (Urso *et al.*, 1986), benzidine (Luster *et al.*, 1985), Biphenyl (Bekesi *et al.*, 1978), et l' inhalation de benzène (Rosenthal & Snyder ,1985 ; Aoyama ,1986 ; Snyder & Spivack , 1979). La moelle osseuse est un organe des lymphocytes primaires responsable de la composition initiale des cellules mères des lymphocytes B et T et se compose principalement de:

- Macrophages.
- Les cellules fibroblastoides stromales (LTF).

Il a été constaté que les macrophages sont plus sensibles que les (LTF) (Dori *et al.*, 1989). lorsqu'elles sont exposées au benzène; pour les raisons suivantes:

1. Les macrophages contiennent des enzymes Peroxydases qui travaillent sur la conversion d'hydroquinone à 1,4 benzoquinone en présence de peroxyde d'hydrogène (Lunte & Kissinger ,1983).

2. Les macrophages sont incapable d'éliminer l'effet toxique des benzoquinones car elles contiennent des quantités insuffisantes de l'enzyme DT-diaphorase qui est un enzyme protecteur contre l'impact de quinone (Gaido & Wierda ,1984 ; Betsy *et al.*,1995 ; Ross & Siegel ,1989), et cela a lié à benzoquinone avec des sites actifs (les totaux de soufre)qui sont destinés pour les enzymes Calpaine (Calcium activated neutral protease) et les transforme comme des sites inactifs entraînant l'inhibition de la transformation de l'Avant-interleukine1 α (34 KD) à interleukine1 maturé (17 KD) (Richard ,1981 ; Dori & David ,1988 ; John & Kalf ,1991), et dans ce cas, les cellules fibroblastoides inhibent la production de:

- CFS (Colony Stimulating Factor) est nécessaire pour générer des cellules dans les tissus sanguins.
- Interleukine 4: qui interfère dans le processus de maturation des lymphocytes B (Gaido & Wierda ,1984). C'est ce qui explique l'augmentation de ces cellules au niveau de la moelle osseuse (Suzane *et al.*, 1989 ; Michael & Snyder ,1985). Il y a une diminution du nombre de cellules Lymphocytes B (Daniel *et al.*, 1989 ; Andrew *et al.*,1987 ; Daniel & Richad ,1982), Figure (6).

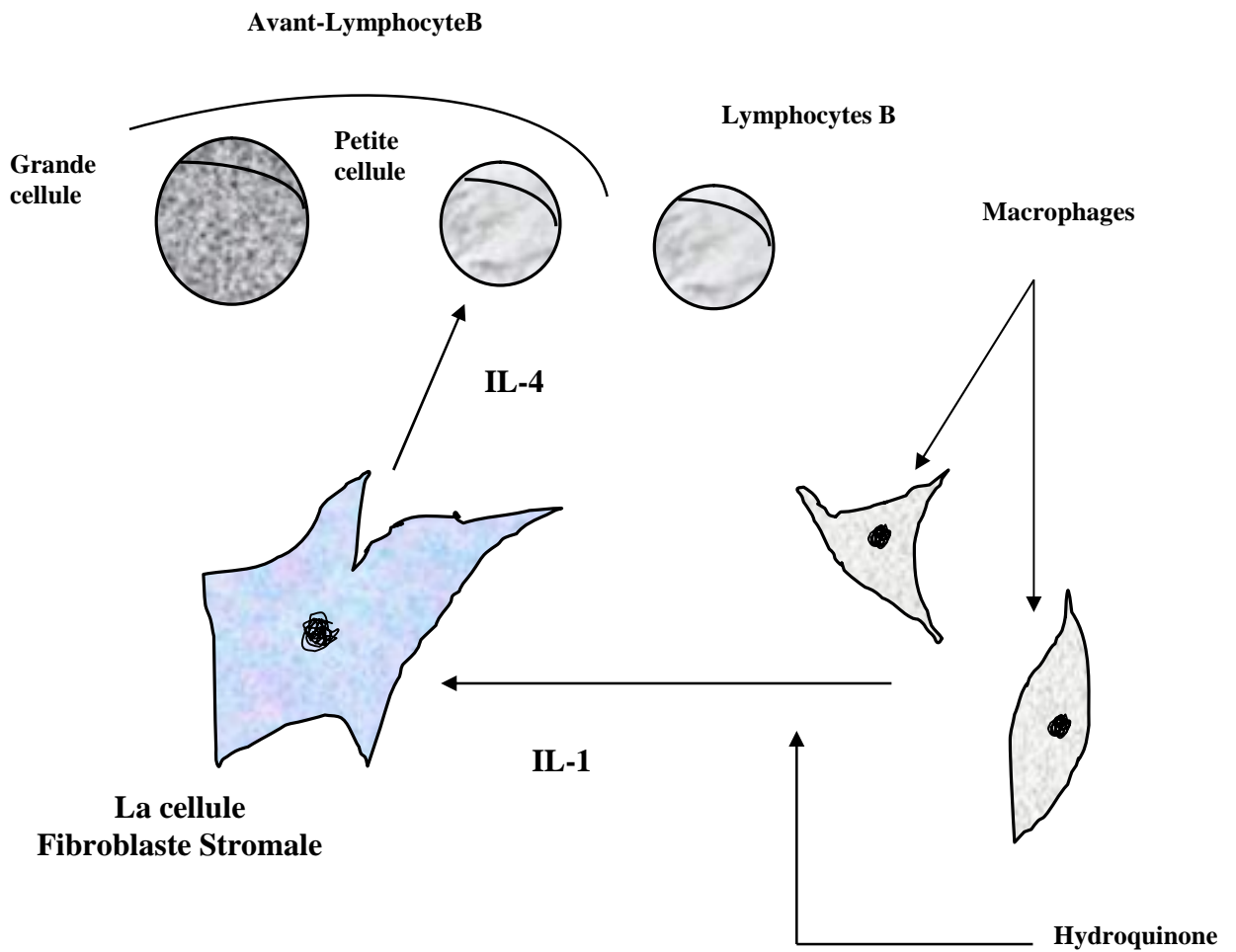


Figure (6): L'impact d'hydroquinone sur les Macrophages (Kalf *et al.*, 1989 ;Andrew *et al.*,1989).

La concanavaline a induit la production des lymphokines (interleukine-2) par les lymphocytes. Cette production est inhibée par le benzoquinone (Suzone *et al.*, 1989).

Une exposition continue au benzène entraîne un manque de mitogène comme lipopolysaccharides (LPS) et Phytohemmaglutunine (PHA) (Michael *et al.*, 1984).

Plusieurs études ont décrit l'augmentation de la tuberculose et pneumonia chez les lapins inhalés le benzène et la diminution de la réponse immunitaire (White & Gammon, 1914 ; Simonds & Jones, 1915). La dépression de la fonction immunitaire dépend de l'effet lymphocytotoxique.

Lange *et al.* (1973) ont étudié le sérum d'immunoglobuline chez les travailleurs exposés au benzène, toluène et xylène, ils ont noté une diminution des taux d'immunoglobuline A (IgA) et (IgG) chez les individus exposés chroniquement, alors que le taux d'IgM reste normal.

I.13.L'effet de benzène sur le tissu sanguin

Les premières étapes de l'effet toxique du benzène présumé des maladies de la moelle osseuse, l'émergence de ce qui suit: un manque des plaquettes sanguines, faible nombre des globules blancs, l'anémie aplasique (Sindey & Goldstein, 1988; Suzane & Snyder, 1996 ; Lowell & Rhods, 1939; Goldstein, 1989; Ronald *et al.*, 1993; Snyder *et al.*, 1980). L'anémie aplasique est un des effets hématologiques les plus sévères induit par inhalation de benzène et peut évoluer vers un syndrome myéloprolifératif puis vers une leucémie. Le processus de formation du tissu sanguin dans la moelle osseuse et la figure (7) illustre les différentes cellules souches sangunes et l'organisation de leur développement (Germaine, 1981).

Maintenant, les chercheurs Snyder et kalf (1994) ont prouvé que l'exposition chronique au benzène conduit à l'activation de la différenciation des cellules souches (myéloblastes) à des cellules matures (basophiles, neutrophiles, eosinophiles) (Infant & White, 1983 ; Seidel *et al.*, 1989). Au cours de cet étape de la différenciation, le benzène augmente la proportion de protéine kinase C, résultant de la phosphorylation P 53 excessive, un catalyseur de phase de la division cellulaire G1.

L'hématotoxicité provoqué par les métabolites du benzène est plus complexe qu'une toxicité directe.

Irons *et al.* (1992) ont montré comment les métabolites de benzène (hydroquinone) peuvent provoquer des altérations lors de différenciation dans la moelle osseuse.

Ross et Siegel (1989) ont montré que les métabolites de benzène provoquent l'apoptose des cellules progéniteurs. Ces deux effets causent la réduction des cellules souches de la moelle osseuse.

De plus le benzoquinone inhibe le processus de la formation finale des globule rouges (Uyeki *et al.*, 1977).

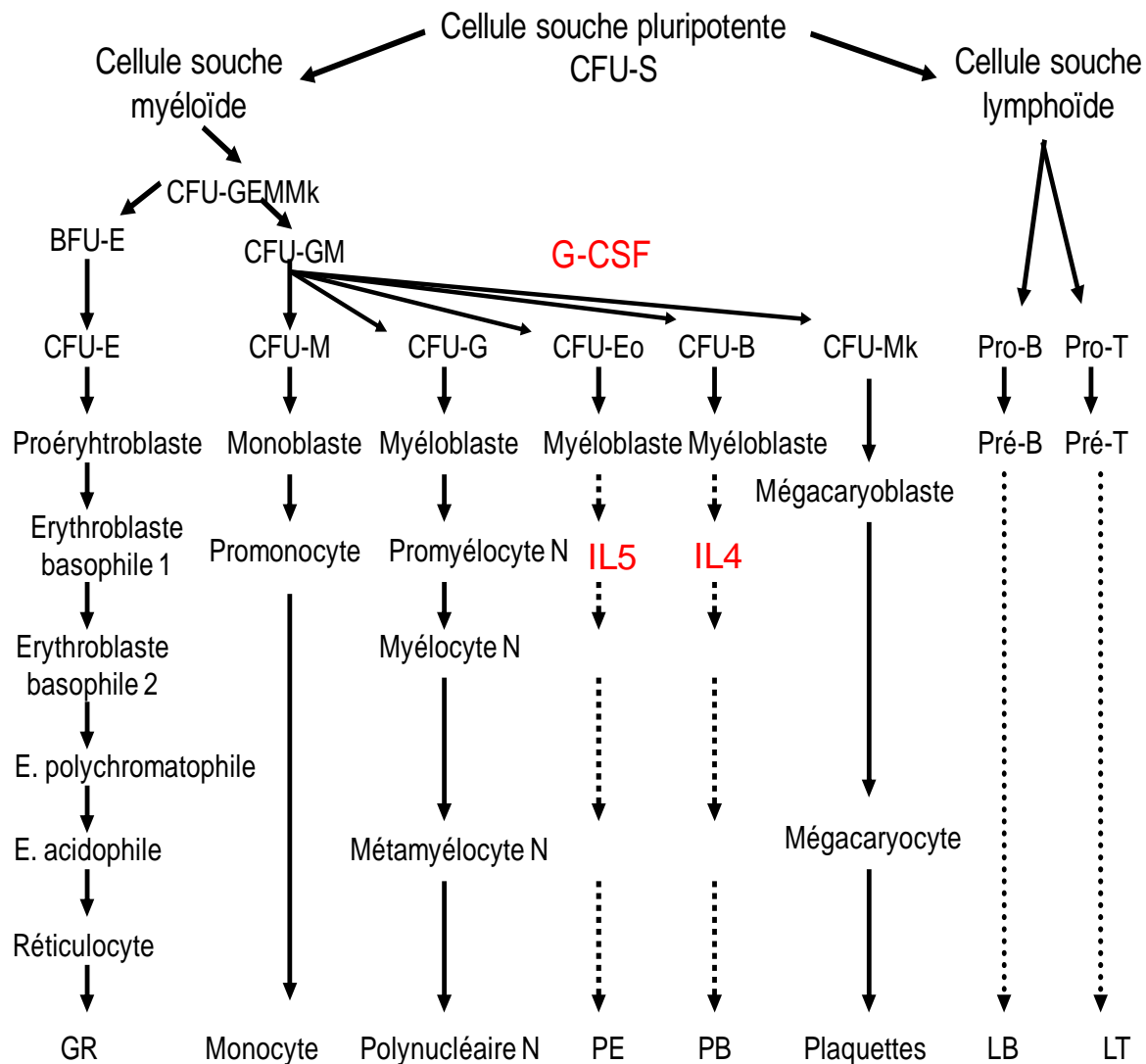


Figure (7): les cellules souches au cours du processus hématopoïétique (Germaine, 1981)

GR : Globule rouge.

PE : Polynucléaire éosinophile.

PB : Polynucléaire basophile.

LB : Lymphocyte B.

LT : Lymphocyte T.

BFU-E: Bone Forming Units érythrocyte.

CFU-E: Eosinophilic colony forming unit culture.

CFU-GM: IL: Granulocyte macrophage colony forming unit.

Partie2

Matériels et Méthodes

II. Animaux

II.1. Elevage

Notre travail a été effectué sur des lapins de souche (*Oryctolagus cuniculus*), vertébrées, Gnathostomes, tétrapodes appartenant à la classe des mammifères provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Au moment d'expérimentation les lapins ont été 50 à 1250g et sont âgés de 35 à 45 jours.

- Classification Lapin domestique

Règne : Animal

Embranchement : Chordé vertébré

Classe : Mammifère placentaire

Ordre : Lagomorphe

Famille : Léporidé

Genre : *Oryctolagus*

Espèce : *Oryctolagus cuniculus*

II.1.1. Lieu d'élevage

Les animaux sont placés dans de grandes cages métalliques adaptées de longueur 61cm, de largeur 51cm et de hauteur 51cm qui sont disposées sur deux rangées superposées. Ces cages sont dotées de mangeoires et d'abreuvoirs avec plateau mobile pour faciliter le nettoyage.

La température de l'animalerie est maintenue adéquate grâce à un radiateur électrique.

Les animaux sont dociles et faciles à manipuler ; ils sont répartis en quatre lots expérimentaux en raison de 05 animaux par cage.

- 01 : lot : Témoins basal
- 02 : lot : Traité au benzène.
- 03 : lot : Traité au thyroglobuline.
- 04 : lot : Traité au thyroglobuline et benzène.

II.1.2. Conditions d'élevage

Ces conditions sont caractérisées par une température qui varie entre 18 à 24°C et une photopériode variable. L'éclairage est fourni par une lampe de 60 watts, La lumière est répartie sur toute la surface de l'animalerie qui est de 10 m².

Les lapins reçoivent une alimentation composée de la salade, carotte, soja blé.

- L'eau est fournie quotidiennement et à volonté.

- Le nettoyage des cages est réalisé chaque jour pendant 15 jours dans l'animalerie de département de microbiologie et biochimie " M'sila ".
- Les animaux sont manipulés par le même expérimentateur afin d'éviter tout stress (DUNN *et al.*, 1973).

II.2. Traitement des Animaux

II.2.1. Traitement par du benzène

Le benzène, de formule brute C_6H_6 (la structure du benzène figure (2) page.8) (4 insaturations : 1 cycle et 3 doubles liaisons) fait partie des composés aromatiques, c'est-à-dire de composés cycliques plans, qui possèdent $4n+2$ électrons π ou non liants conjugués. Le terme d'aromatique provient du fait que la plupart de ces composés ont une odeur (parfois agréable, mais bien souvent désagréable) !

Il s'agit de composé particulièrement stable. On estime l'énergie de stabilisation ou énergie de résonance du benzène par rapport à un cyclohexatriène hypothétique à 150 kJ.mol^{-1} (cette énergie de stabilisation du benzène est évaluée à partir des enthalpies standard d'hydrogénation de cyclohexène, de cyclohexa-1,3-diène et du benzène).

II.2.2. Traitement par la thyroglobuline

La thyroglobuline (Tg) est synthétisée par les cellules thyroïdiennes et sécrétée dans la lumière folliculaire, où elle représente le constituant majeur de la colloïde. Elle est le précurseur des hormones thyroïdiennes (T3, T4), site à la fois de l'iodation des résidus tyrosyls, du couplage des iodotyrosines en iodothyronines et, après couplage dans la colloïde et recaptage par les cellules thyroïdiennes, de la libération par protéolyse des hormones thyroïdiennes T3 et T4. La synthèse et la protéolyse de la thyroglobuline sont sous l'influence de la thyroïdostimuline (TSH) (Gaillard, 1991).

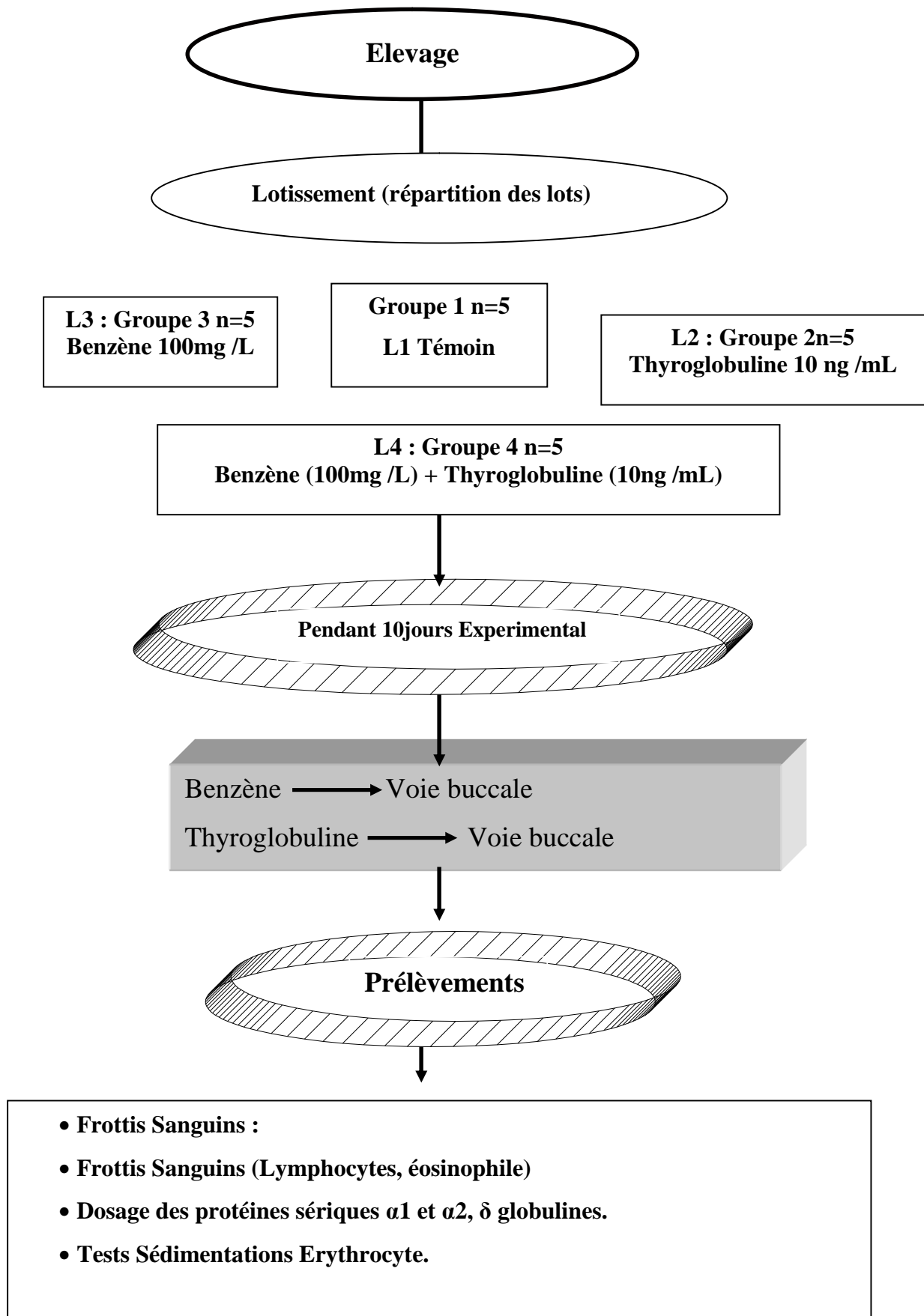
II.3. Prélèvements du Sang

II.3.1. Sanguin

Le prélèvement se fait à partir des oreilles des lapins, dans le troisième jour d'injection de produit.

Le sang est recueilli dans des tubes héparinés et a été rapidement centrifugé à 4000 tours/min pendant 15 minutes. Le plasma a été immédiatement congelé à -20°C jusqu'au moment de la réalisation des dosages des Gammaglobulines, protéines α_1 et α_2 et les lymphocytes et éosinophiles et dans des tubes hémato pour la confection des frottis sanguins (un échantillon par lot).

II.3.2. Protocole Experimentale



II.4. Analyse Statistique des Données

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes plus ou moins standard de déviation. Pour la comparaison des moyennes, nous avons utilisé le test de Student ($p < 0.05$).

II.5. Frottis Sanguins et Coloration

II.5.1. Frottis Sanguins

Une goutte de sang est mise sur le bord d'une lame (1cm) et est étalée sur toute sa surface avec une lamelle placée suivant un angle de 30° et on sèche rapidement à l'air.

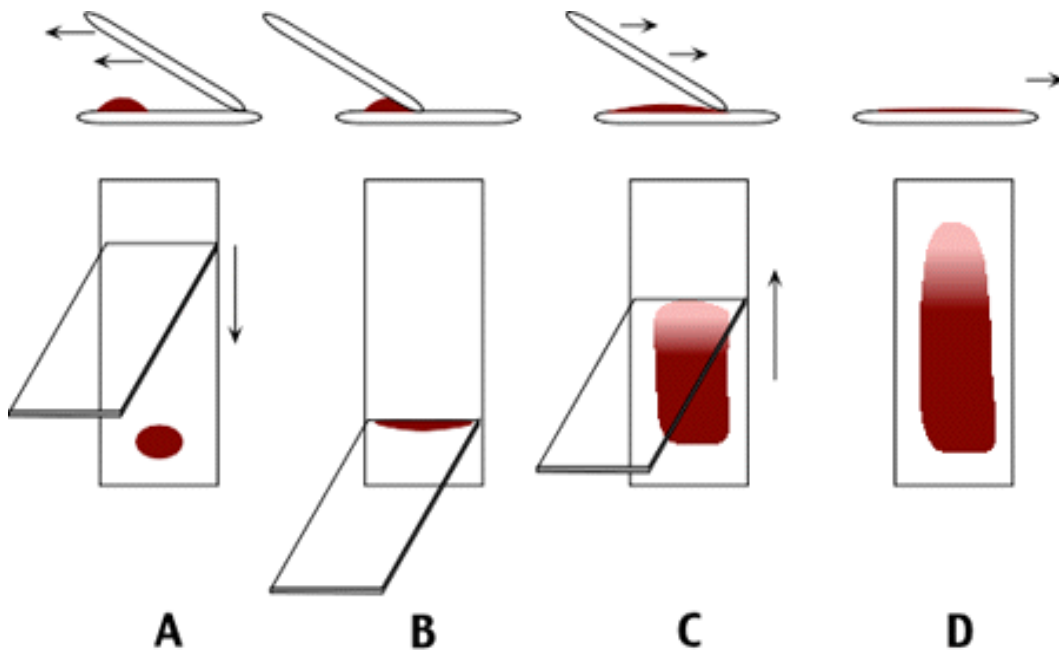


Figure (8) : Technique de frottis sanguin (WILD LIFE CONSERVATION SOCIETY, 2008)

Réalisation d'un frottis sanguin :

La technique de frottis est une technique particulière permettant un étalement homogène du sang sur une lame de verre.

Une petite goutte de sang est déposée à environ 1cm de l'extrémité d'une lame.

Une lamelle est approchée de cette goutte, inclinée à 45° par rapport à la lame et mise à son contact (A). Cette goutte adhère par capillarité tout du long de la base de la lamelle (B). La lamelle est alors poussée de manière rectiligne (A) de façon à étaler le sang en couche mince et uniforme (D).

Pour l'observation au microscope la coloration au May-Grunwald est nécessaire.

Celui-ci colore de manière différentielle les différentes zones d'une cellule sanguine en fonction de son caractère acidophile, basophile, neutrophile ou éosinophile.

II.5.2. Coloration

La méthode utilisée est celle de MAY-GRÜNWARD et GIEMSA.

– Le MAY-GRÜNWARD fixe le frottis par son alcool méthylique et colore surtout le cytoplasme et granulation neutrophiles, basophiles et acidophiles.

– Le GIEMSA, quand à lui, colore les noyaux et les granulations azurophiles.

En plaçons les lames sur support et versons un nombre suffisant de gouttes de MAY-GRÜNWARD pour recouvrir toute la surface et nous laissons en contacte 05 minutes.

Après 05 minutes, ajoutant autant de gouttes d'eau distillée et nous laissons en contacte 05 minutes. Puis égouttons et ajoutons de gouttes de Giemsa nous laissons agir 10 minutes.

Enfin rinçons sous un jet d'eau distillée et laissons sécher avant examen microscopique du frottis.

II.5.3. Lecture

Il s'agit d'établir le pourcentage en comptant 100 leucocytes (granulocytes, Lymphocytes, Monocytes) selon le schéma de Shiling qui consiste à balayer le champ d'observation (grossie 400 fois au microscope).

II.5.4. Observations et exploitations

II.5.4.1. Etude quantitative des lymphocyte et éosinophiles

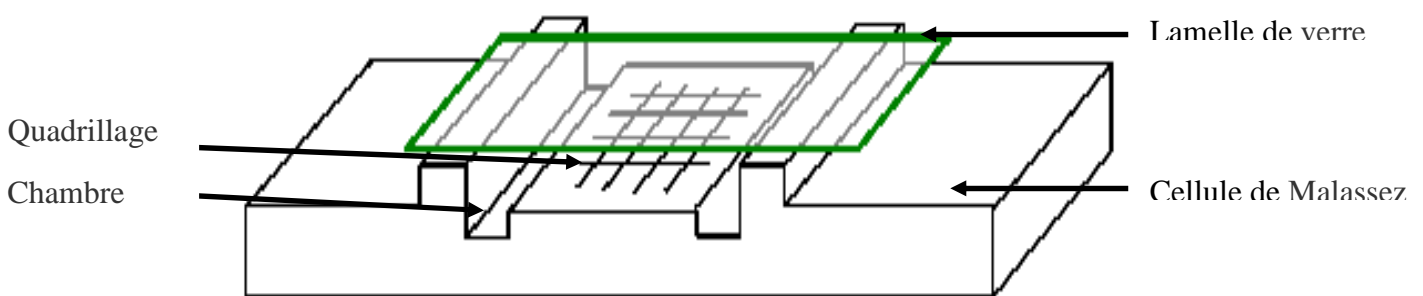


Figure (9) : Schéma d'une lame de Malassez.

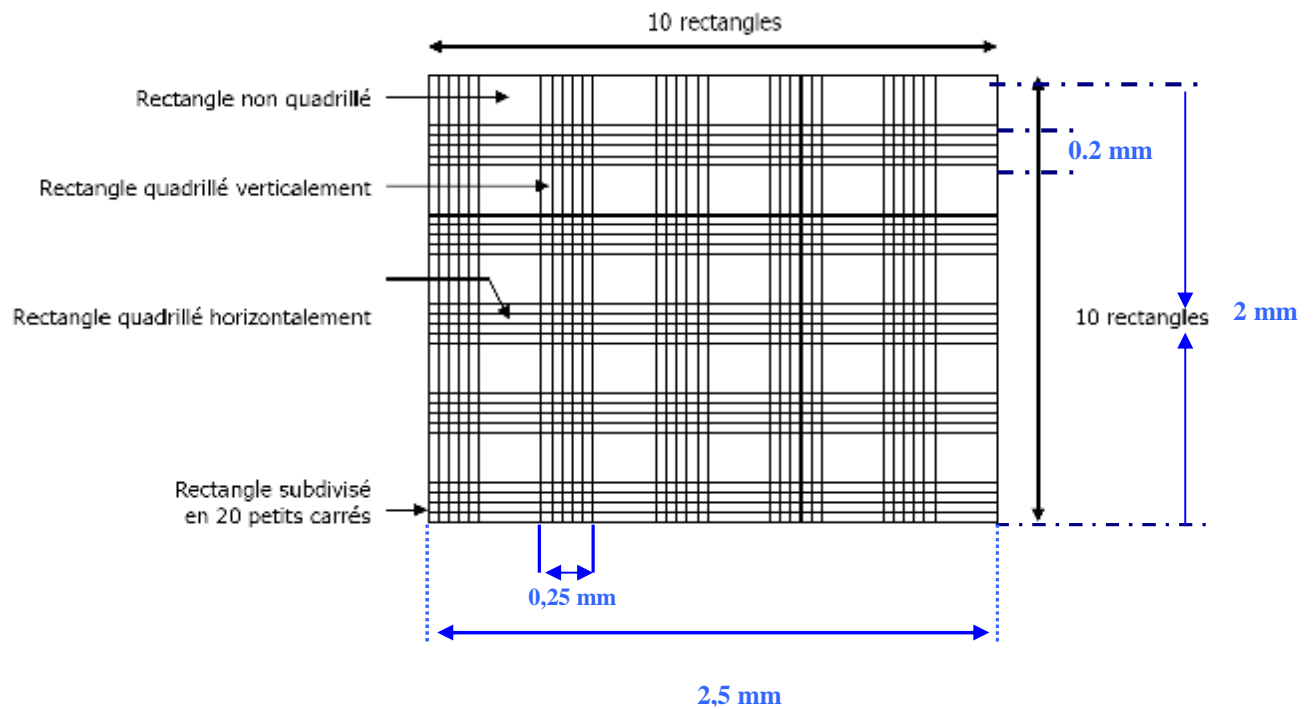


Figure (10) : Schéma d'une grille de Malassez (Adapté et modifié de l'ACADEMIE DE ROUEN, 2008).

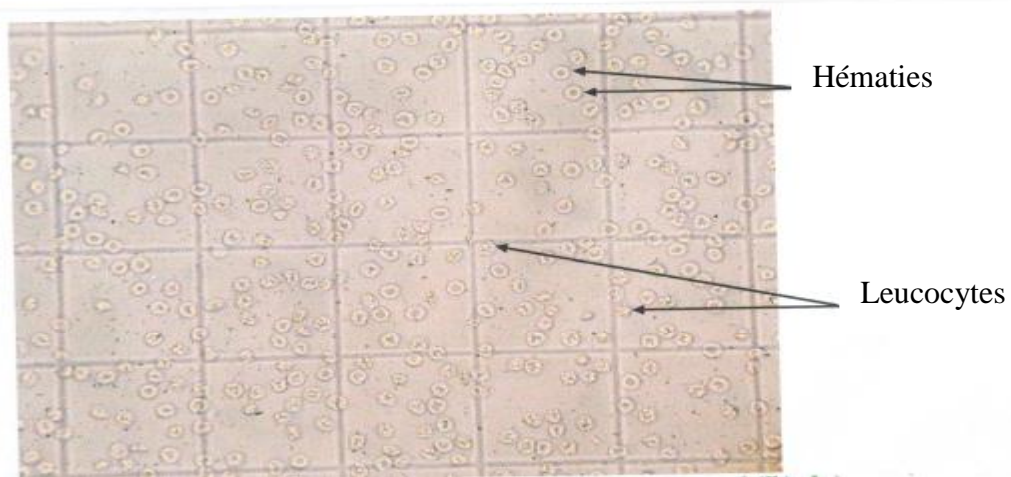


Figure (11) : Observation au microscope d'un des 25 rectangles quadrillés de la cellule de Malassez utilisée (grossissement X400)

II.6. Dosage et séparation des protéines sérique α_1 et α_2 et Gammaglobulines par électrophorèse sur acétate cellulose (selon la méthode de TESSILUS & KABOT (1949)).

II.6.1.Principe

L'électrophorèse sur acétate de cellulose est la méthode analytique la plus employée à l'heure actuelle. Sa relative simplicité de mise en œuvre, la minimisation des phénomènes d'évaporation (dus à l'effet Joule durant l'électrolyse), la rapide décoloration du font et la transparence de ce support sont les principales raisons qui l'ont fait adopter et ont conduit à l'abandon progressif de l'électrolyse sur papier.

II.6.2.Réactifs utilisés

- Cellogel 2.5×14cm ;
- Tampon véronal-tris PH 9.2 ;
- Migration 200V-32 minutes ;
- Colorant ponceau S : 5g dissous dans l'acide trichloroacétique à 5% ;
- Décoloration : acide acétique à 5% (50ml) ;

Transparisant à préparer extemporanément : Méthanol 75ml+ acide acétique Glacial 20ml.

II.6.3.Technique

A. Immerger le Cellulogel dans le Tampon : 10 minutes minimum. Eviter que les membranes ne restent collées entre elles.

B. Eliminer l'excès de Tampon entre deux Feuilles de Papier Filtre repérer la mate absorbante en plaçant la membrane verticalement, coin coupé en bas à droite et placer la membrane sur le portoir, correctement tendue, et placer les fixes bandes.

C. Condition de Migration

- Cellulogel 2.5×14cm
- Portoir 8 avec guide de dépôt
- Dépôt à 18mm du bord du portoir, coté cathodique
- Migration 200V- 32mn

D. Coloration

- Utiliser 100ml de colorant pour 25membranes 2.5×14. Au-delà, le colorant perd son pouvoir fixateur.
- Pour la coloration, présenter la face absorbante directement en contact avec la surface de la surface de la solution colorante.

E. Décoloration

30 bains successifs dans l'acide acétique à 5% jusqu'à décoloration totale du Cellulogel.

F. Transparence et Densimétrie

- Déshydrater la membrane dans le méthanol pur pendant 3 à 5 minutes.
- Immerger exactement 1 minute 30 secondes dans la solution de transparisation.
- Etaler le cellulogel sur une plaque de verre propre-face mate contre le verre, éliminer les bulles d'air et l'excès de solution transparente.
- Laisser sécher à température ambiante. Après transparence complète, on peut éventuellement utiliser une source de chaleur $< 70^{\circ}\text{C}$ pour accélérer le séchage, la lecture se fait au densitomètre.

Partie3

Résultats

III. Résultats

III.1. Le rôle du système immunitaire

Le rôle du système immunitaire à reconnaître les antigènes de corps, cette système immunitaire il travaille pour protéger le corps contre les agents pathogènes, si microbienne ou moléculaire, mais il arrive parfois un déséquilibre dans la création d'emplois ainsi une réponse immunitaire n'est pas possible non plus conduire à des maladies auto-immunes ou hypersensibilité (Bach, 1990 ; Christine *et al.*, 1990). L'agent métagenique peut modifier la régulation du système immunitaire soit débiliter ou l'augmentation de la réponse immunitaire, cette réponse nous avons observé chez les lapins traités ou substance toxique "benzène», immunologiquement nous avons enregistré des changements dans les proportions des lymphocytes et ainsi que des gammaglobulines.

III.1.1. Étude de la réponse immunitaire

III.1.1.1. Variation du taux des lymphocytes (Tableau (3), Figure (12))

- Chez les lapins témoins et les lapins traitée à la Thyroglobuline :
 - Une augmentation significative du taux lymphocyte chez les lapins traitée à la Thyroglobuline par rapport aux témoins (48.4 ± 7.127) $S = (39 \pm 4.09)$
 - Une augmentation significative du taux de lymphocyte chez les lapins traités à Thyroglobuline (48.4 ± 7.127) par rapport chez les lapins traités aux Benzène (36.8 ± 2.94).

Tableaux (3) : Variation du taux des lymphocytes chez les lapins.

<i>Groupe</i> <i>lymphocyte</i>	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml</i> <i>Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l</i> <i>Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml</i> <i>Benzene + Thyroglobuline</i>
<i>lymphocyte</i>	39± 4.09	48.4± 7.127*	36.8± 2.94**	42± 2.12

P < 0.05 ; N = 5

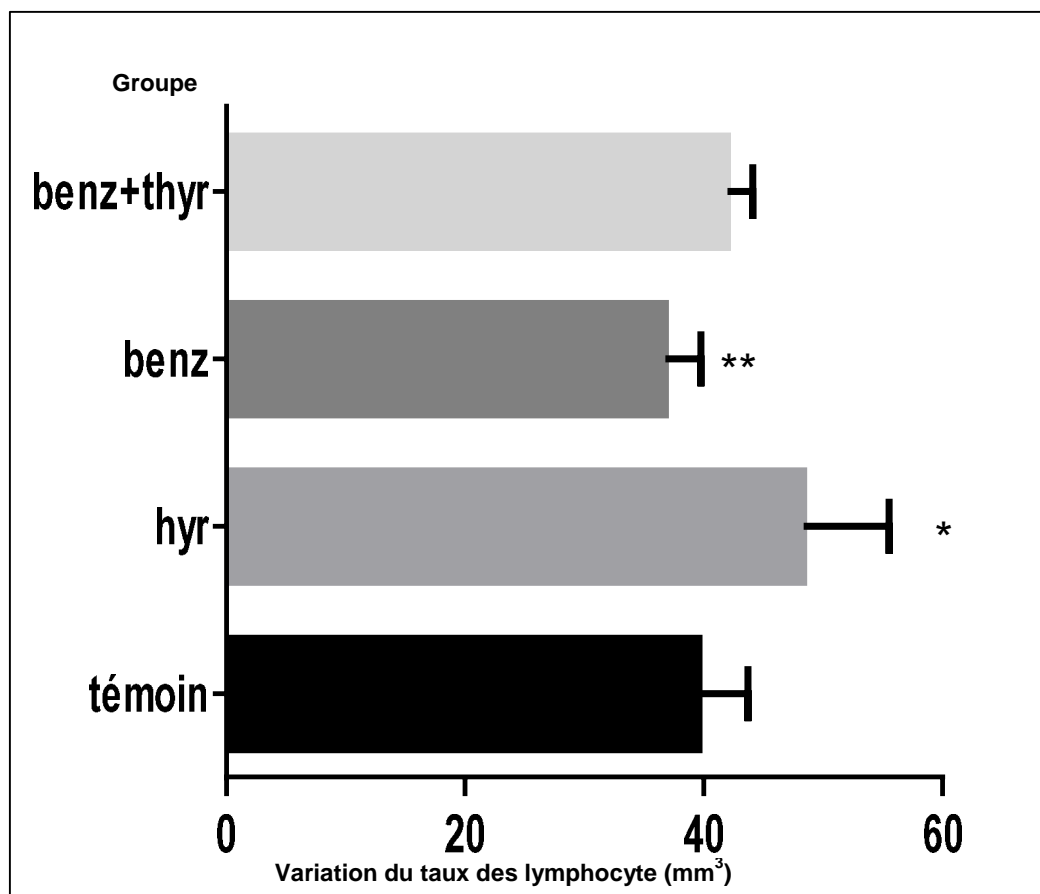


Figure (12): Variation du taux des lymphocytes chez les lapins.

Les lymphocytes jouent un rôle important dans la protection contre les organiques exotiques il ya deux phases:

La première consiste à reconnaître les valeurs de lymphocytes “ B ” et les globulines immunitaires par la membrane de la cellule lymphocytes “ T ” par des antigènes d'histocompatibilité.

Dans la deuxième consiste les cellules stimulant transmuté comme des lymphocytes (B et T) de cellules différenciées efficace immunitaire à éliminer les corps étranger.

Grâce à notre étude de laboratoire et compte tenu des résultats globale dans le tableau (2) et la figure (12) l'augmentation de lymphocytes chez les lapins traités par thyroglobuline, atteignant (48.4 ± 7.127) par rapport au témoin (39 ± 4.09) , attribué cette augmentation à la fonction de cet article dans induction du système immunitaire, et également enregistré

Une augmentation remarquable des lymphocytes en particulier chez les lapins traités avec le benzène pendant la durée de l'expérience, pour devenir significative ($P < 0.05$) au cours de la durée de l'expérimentale dans les lapins traitement par Thyroglobuline et le benzène, estimé que le taux d'augmentation (42 ± 2.12) substance toxique du benzène pour exhorter le système immunitaire.

III.2. Variation du taux des gammaglobulines (Tableau (4), Figure (13))

- Chez les lapins témoins et les lapins traités par thyroglobuline :
 - Une augmentation significative du taux de du Gammaglobulines chez les lapins traités par thyroglobuline par rapport aux témoins [(15.8± 2.387) VS = (8.2± 1.788)].
- Chez les lapins témoins et les lapins traités par thyroglobuline et le benzène:
 - Une augmentation très significative du taux de Gammaglobulines chez les lapins traités par thyroglobuline et le benzène par rapport aux témoins [(20.4± 2.190) TVS = (8.2± 1.788)].
- Chez les lapins traités par thyroglobuline et les lapins traiter par le (benzène et le (benzène + thyroglobuline):
 - Une augmentation significative du taux de Gammaglobulines chez les lapins traités par thyroglobuline par rapport aux les lapins traités par le benzène [(15.8± 2.387) VS = (11± 2.738)].
 - Une diminution significative du taux de Gammaglobulines chez les lapins traités par thyroglobuline par rapport aux les lapins traités par (benzène + thyroglobuline):[(15.8± 2.387) VS = (20.4± 2.190)].
 - Une diminution très significative du taux de Gammaglobulines chez les lapins traités par benzène par rapport aux lapins traités par (benzène + thyroglobuline):[(11± 2.738) TVS = (20.4± 2.190)].
 - L'effet de benzène est moins marqué que celui de la thyroglobuline.

Tableaux (4) : Variation du taux des gammaglobulines (mg/l).

<i>Groupe</i> <i>γ-globulin</i>	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml</i> <i>Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l</i> <i>Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml</i> <i>Benzene + Thyroglobuline</i>
Gammaglobulines (mg/l)	8.2± 1.788	15.8± 2.387***	11± 2.738*	20.4± 2.190****

P< 0.05 ; N= 5

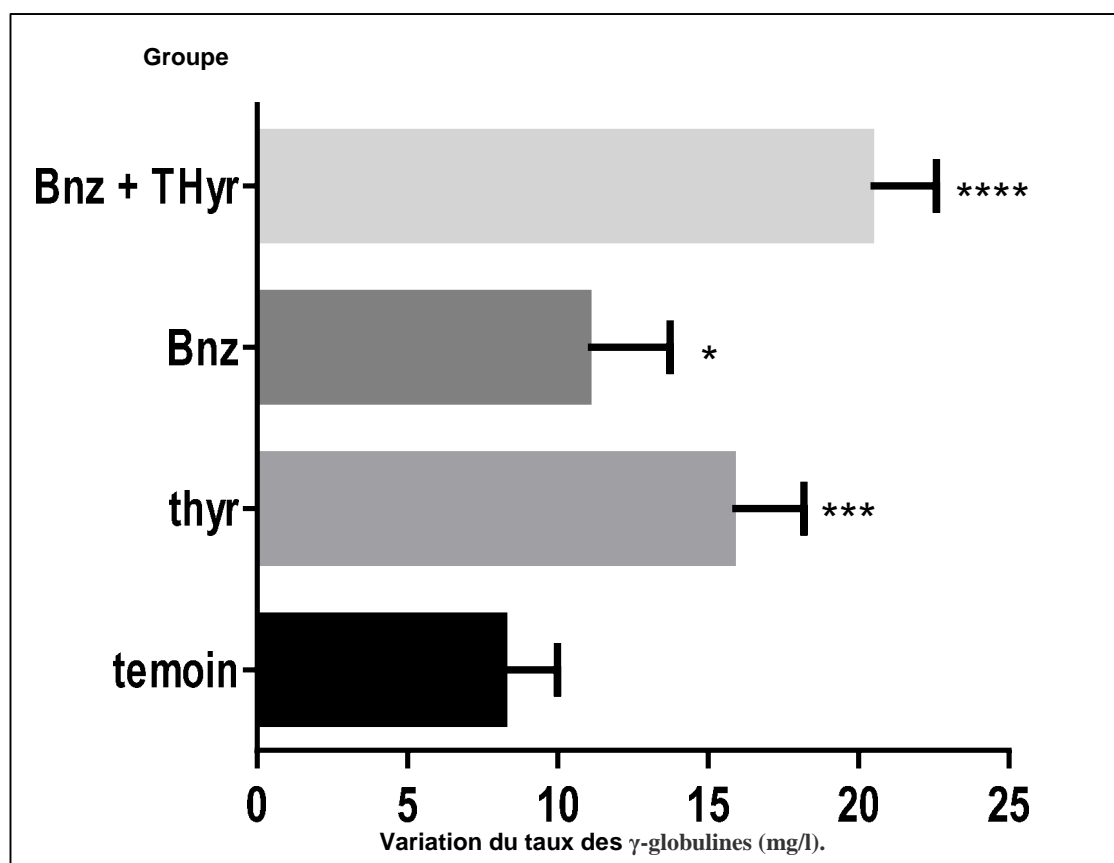


Figure (13): Variation du taux des gammaglobulines (mg/l)

Des cellules de mémoire, caractérisé la réponse immunitaire secrètent des protéines connues comme anticorps de sérum, à l'encontre de facteurs infirmière particulière 106, après la antigénique d'induction initiale, sont produites principalement le type d'immunoglobulines IgM, et au cours de cette phase se posent ont la capacité de reconnaître le même antigène quand il est entré pour la deuxième fois, conduisant à une réponse secondaire production rapide et intensive immunitaire d'IgG (Rosenthal & Snyder, 1985). Nous avons observé au cours de notre étude où nous avons enregistré des valeurs morales élevées de gammaglobulines pendant la durée de l'expérience chez les lapins traité par le benzène seulement ou instigateur immunitaire (thyroglobuline), Cette comparaison avec témoin entre 8.2 ± 1.788 mg/l. le contraste, nous avons observé une diminution significative ($P < 0.05$) de ces valeurs au cours de la durée l'expérience dans le cas des lapins traités avec le benzène (lapins très trouble)

Cela confirme le fait que cet article a fait inhibitrice de freiner le système immunitaire et sont les mêmes que les résultats obtenus par (Snyder & Kocsis, 1975 ; Simondjisp & Jonesh, 1915 ; Shimada & Satoand, 1988). Mais après un événement d'une semaine complète il ya un adaptation dans les animaux traité par le benzène, ce qui explique les valeurs relativement élevées de gammaglobulines, cela coïncide avec les résultats obtenu par Manjan (1987). qui stipule que l'exposition constante à la tourmente engendrer une augmentation de la réponse immunitaire.

Dans le cas du groupe de traité par le benzène (100mg/L) et Thyroglobuline (10ng/mL) augmenté de façon très significative (20.4 ± 2.190) les valeurs de gammaglobulines pendant la durée de l'expérience, une augmentation trois fois par rapport au témoin et deux fois par rapport ou traité thyroglobuline, et conclure qu'il thyroglobuline un impact positif sur la production gammaglobuline (Tableau (4), Figure (13))

Les résultats qui obtenue et déduire qu'il existe une relativement proportionnelle à la réponse immunitaire de la cellule de production (lymphocytes) et la production d'oléculaire gamma-globuline, et avait une diminution notable du pourcentage de lymphocytes au cours de durée de l'expérience dans le groupe trait par le benzène (100mg/L), et la concentration de gammaglobuline pendant la durée de l'expérience dans le même groupe.

Alors que nous avons enregistré un décalage dans la réponse immunitaire dans le dernier groupe traité avec benzène, où nous avons remarqué l'augmentation de la gammaglobuline morale et peu de différence dans le pourcentage des lymphocytes par rapport au témoin, ce qui indique que l'effet de benzène est évident dans la réponse cellulaire.

III.2. Étude de la Réponse Inflammatoire

III.2.1. Protéines immunitaires $\alpha 1$ et $\alpha 2$

- Chez les lapins témoins et les lapins traités par thyroglobuline :
 - Une augmentation significative du taux des protéines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ chez les lapins traités par thyroglobuline par rapport aux témoins [(1.8± 0.836, 7 ± 1.224) VS = (2± 0.707, 7.8 ± 1.643)].
- Chez les lapins témoins et les lapins traités par le benzène et les lapins thyroglobuline et le benzène:
 - Une augmentation très significative du taux de protéines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ chez les lapins traités par thyroglobuline et le benzène par rapport aux témoins [(1.8± 0.836 ;7 ± 1.224) TVS = (5.8± 1.923 ;13.6 ± 3.781)].
- Chez les lapins traités par thyroglobuline et les lapins traiter par le (benzène et le (benzène + thyroglobuline):
 - Une augmentation significative du taux des protéines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ chez les lapins traités par thyroglobuline par rapport aux les lapins traités par le benzène [(2± 0.707 ;7.8 ± 1.643) VS = (5.2± 2.588 ;12.6 ± 2.966)].
 - Une diminution significative du taux des protéines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ chez les lapins traités par thyroglobuline par rapport aux les lapins traités par (benzène + thyroglobuline): [(2± 0.707 ; 7.8 ± 1.643) VS = (5.8± 1.923 ; 13.6 ± 3.781)].

Tableaux (5) : Variation du taux des protéines sériques $\alpha 1$ (mg/l).

<i>Groupe</i> Protéine $\alpha 1$	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml Benzene + Thyroglobuline</i>
<i>Protéine sériques $\alpha 1$</i>	1.8± 0.836	2± 0.707*	5.2± 2.588*	5.8± 1.923**

P= 0.05 ; N= 5

Tableaux (6) : Variation du taux des protéines sériques $\alpha 2$ (mg/l).

<i>Groupe</i> Protéine $\alpha 2$	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml Benzene + Thyroglobuline</i>
<i>Protéine sériques $\alpha 2$</i>	7 ± 1.224	7.8 ± 1.643*	12.6 ± 2.966*	13.6 ± 3.781**

P< 0.05 ; N= 5

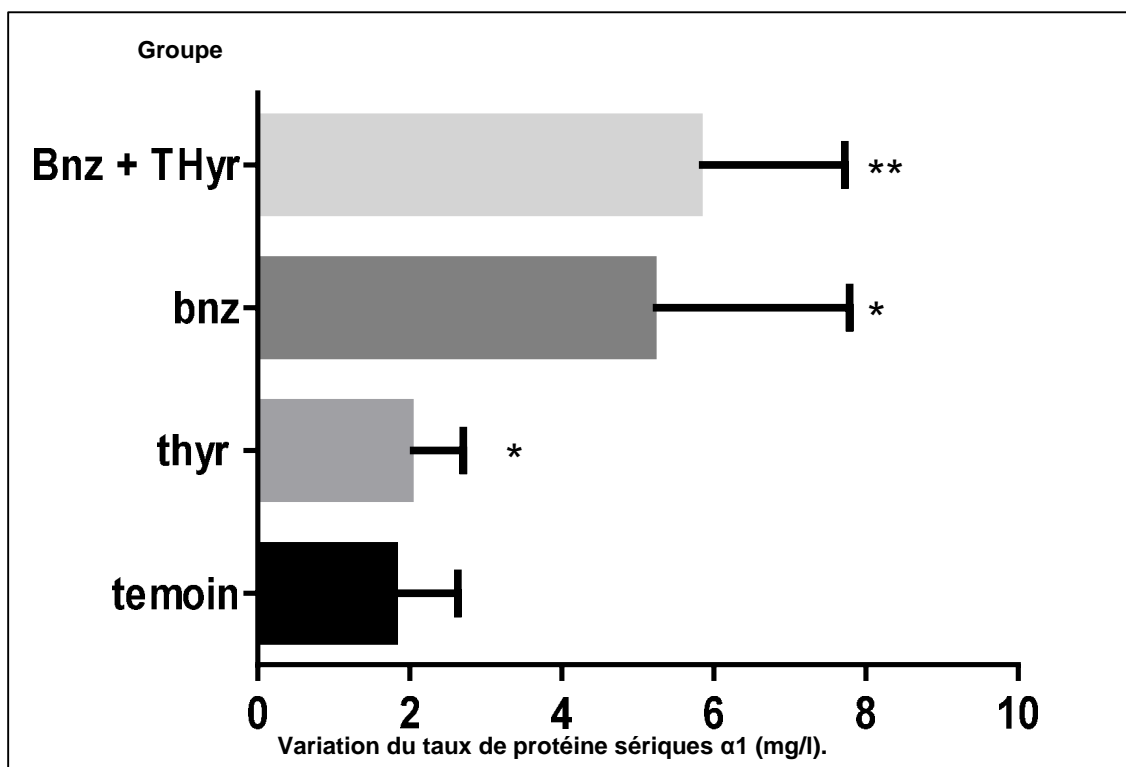


Figure (14): Variation du taux protéine sériques $\alpha 1$ (mg/l).

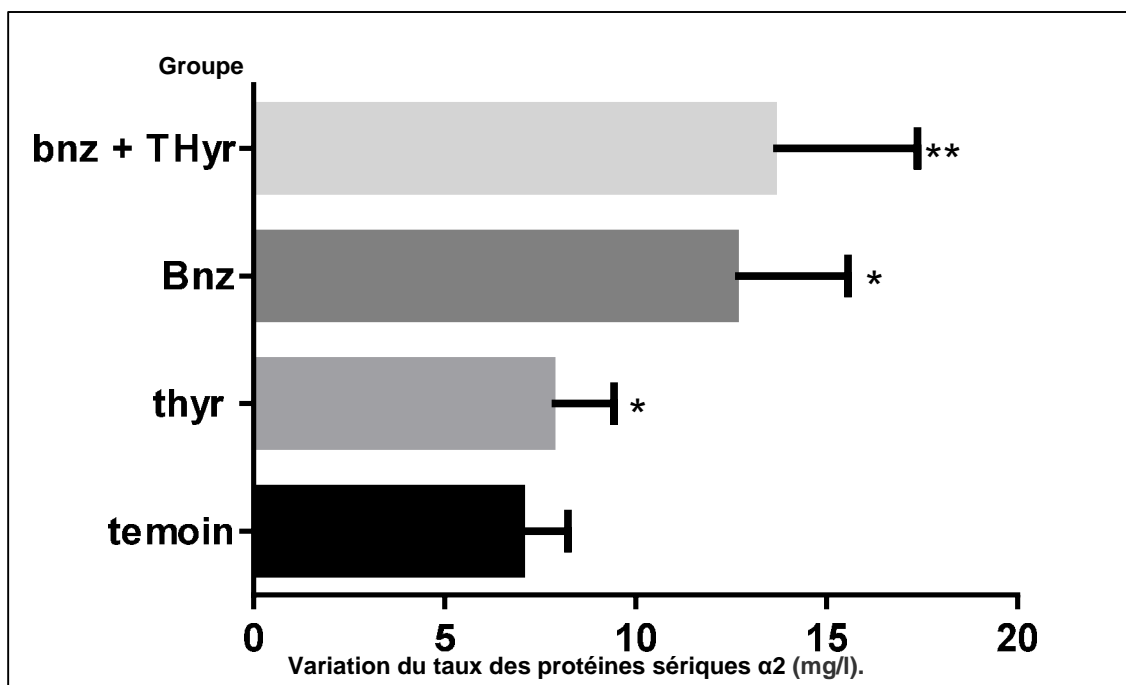


Figure (15): Variation du taux des protéines sériques $\alpha 2$ (mg/l).

III.2.2. Tests de sédimentations Erythrocytaire

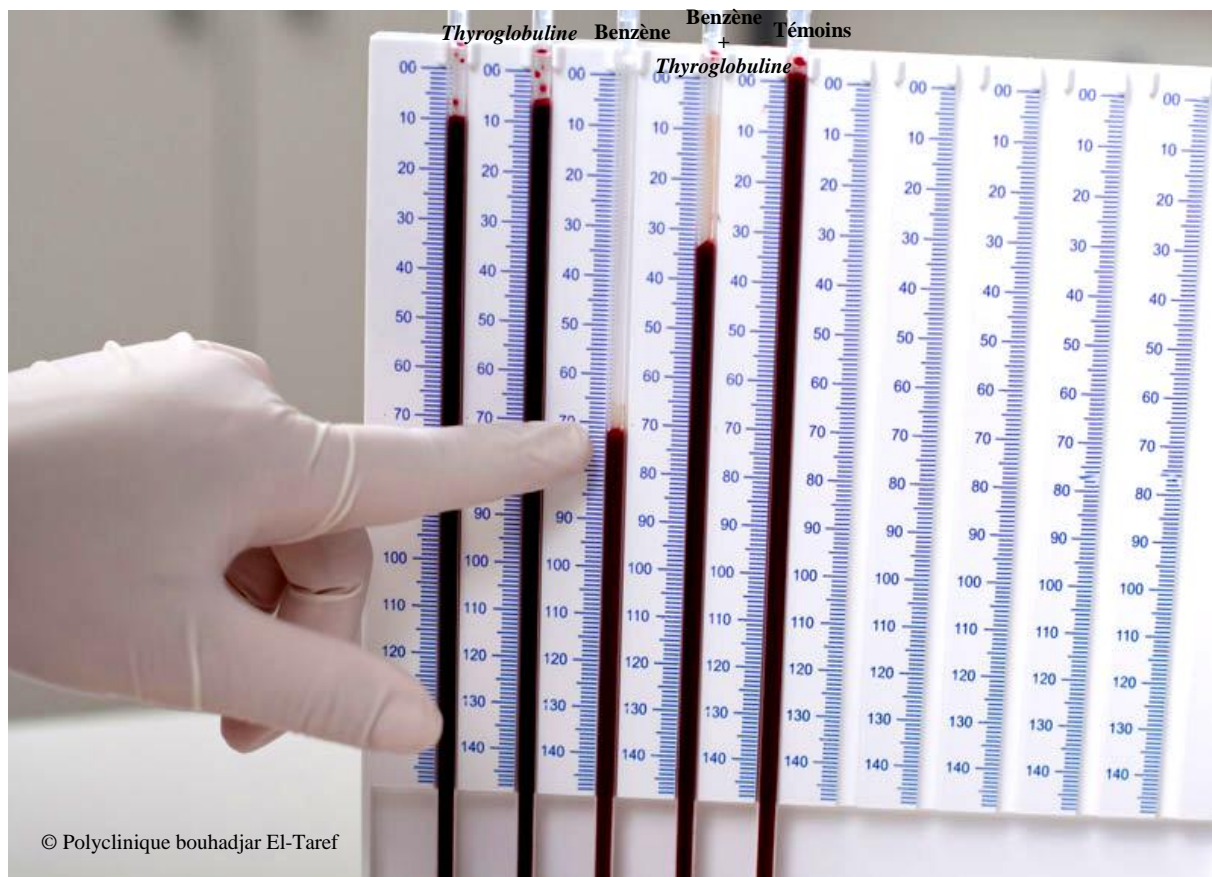


Figure (16): Variation du taux de tests sédimentations d'érythrocytaires (mm).

Tableaux (7) : Variation du taux de sédimentations d'Erythrocytaires premier heure (mm)

<i>Groupe</i> <i>SE</i>	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml</i> <i>Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l</i> <i>Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml</i> <i>Benzene + Thyroglobuline</i>
Sédimentations Erythrocyte (mm)	1.6± 0.547	1± 00	1.2± 0.447	2.2± 0.836

P< 0.05 ; N= 5

Tableaux (8) : Variation du taux des sédimentations d'Erythrocytaires deuxième heure (mm)

<i>Groupe</i> <i>SE</i>	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml</i> <i>Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l</i> <i>Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml</i> <i>Benzene + Thyroglobuline</i>
Sédimentations Erythrocyte (mm)	3± 1	2± 0	3.2± 1.095	5.8± 1.095

P< 0.05 ; N= 5

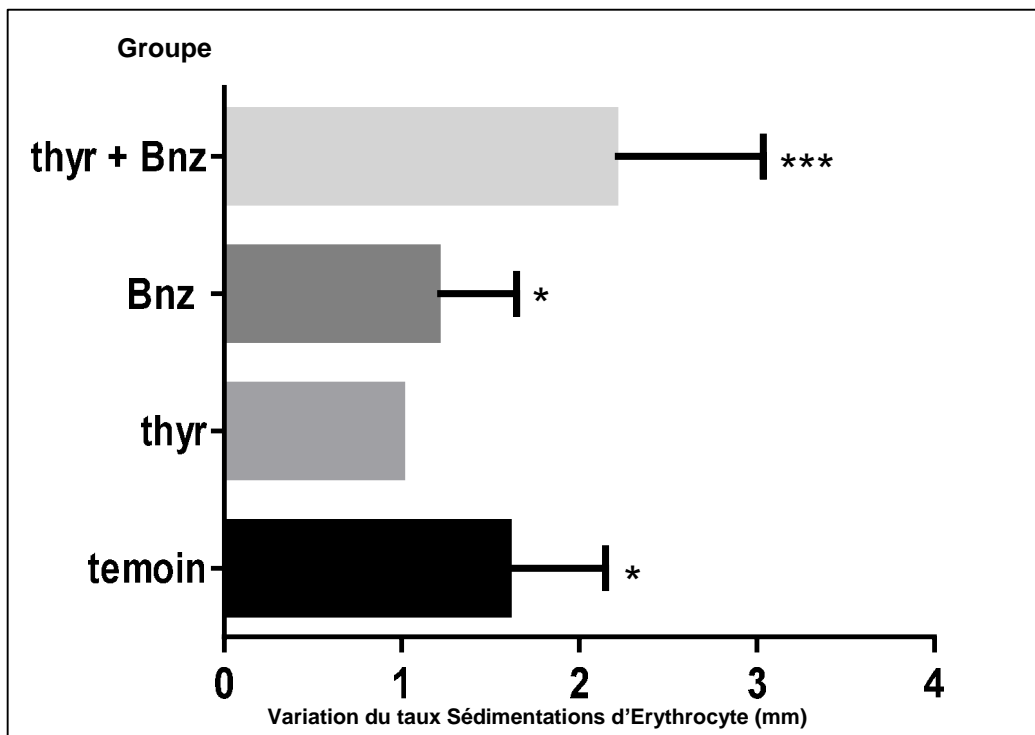


Figure (17): Variation du taux des sédimentations d'Erythrocytaires première heure (mm).

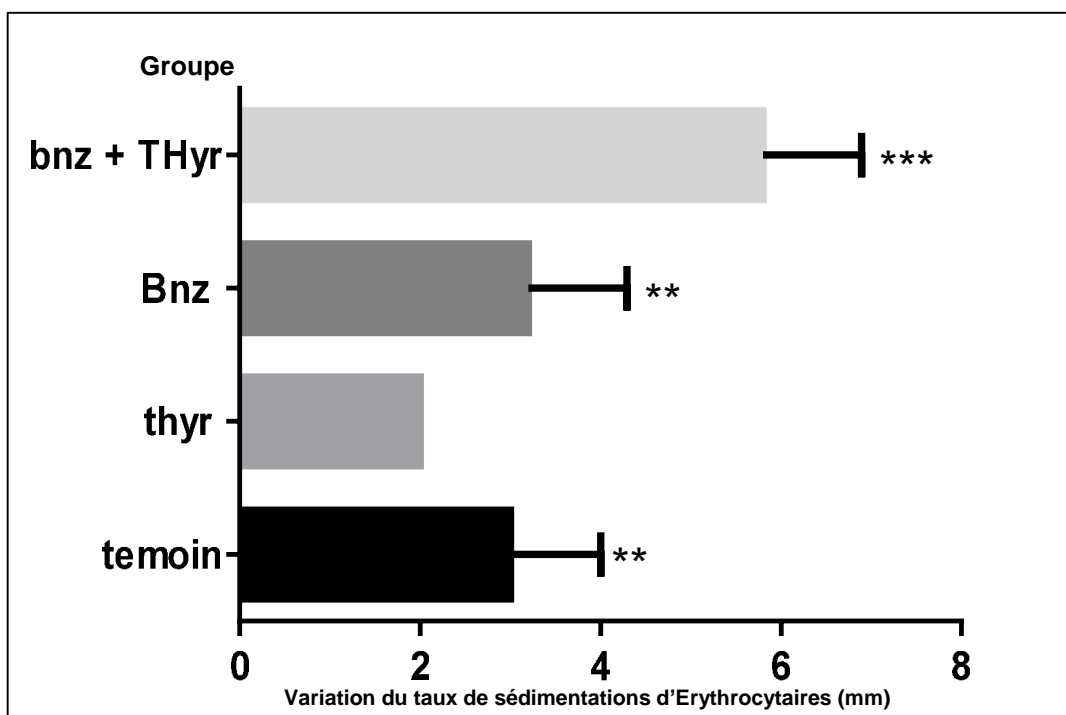


Figure (18): Variation du taux des sédimentations d'Erythrocytaires deuxième heure (mm).

III.2.3. Variation du Taux d'Eosinophile (Tableau (8), Figure (19))

o Chez les lapins témoins:

- Une augmentation significative du taux éosinophile chez les lapins témoins par rapport aux les lapins traités par la thyroglobuline et (benzène+thyroglobuline) [(2.8± 0.836) VS = (0.8± 0.447; 1± 00)].
- Une augmentation significative du taux éosinophile chez les lapins traités par le benzène par rapport aux traités par thyroglobuline [(2.4± 0.547) VS= (0.8± 0.447)].
- Une augmentation significative du taux éosinophile chez les lapins traités par le benzène par rapport aux traités par (thyroglobuline+ benzène) [(2.4± 0.547) VS= (1± 00)].

Tableaux (9) : Variation du taux d'Eosinophile (mm³)

<i>Groupe</i> <i>Eosinophile</i>	<i>Témoin</i>	<i>10hg/ml</i> <i>Thyroglobuline</i>	<i>100mg/l</i> <i>Benzene</i>	<i>100mg/l + 10hg/ml</i> <i>Benzene + Thyroglobuline</i>
Eosinophile	2.8± 0.836	0.8± 0.447***	2.4± 0.547**	1± 00***

P < 0.05 ; N = 5

Après examen microscopique les cellules semblent avoir une forme ronde diamètre acide entre (12-14µ microns) et sont neutres, mais il est caractérisé par ses granules contenus dans cytoplasme acide, ils sont plus grands taille et coloré par l'éosine, avoir un diamètre compris entre (0,2 -0,7 µ microns). Le noyau est souvent avec seulement deux lobes (Photo 1.2.3). Le rôle de cette noyau l'interattraction chimique et la phagocytose afin de se débarrasser des les microbes, qu'elle soit ou microbienne. Sait que les proportions de cellules est beaucoup moins éosinophile dans des conditions inflammatoires, chez les lapins traités par le benzène100mg/l le nombre des éosinophile (2.4± 0.54) sont diminué par rapport aux témoins au cours de la durée expérimentale en raison du taux élevé de métabolisme de benzène au niveau de la moelle osseuse et le sang, et les effets toxiques du benzène.

Les résultats globaux obtenus sur les facteurs des conditions inflammatoires, confirme que la capacité de benzène cette toxicité, surtout à la dose de 100mg/l. nous avons observé une augmentation significative du taux protéines sérique α1 et α2, et la vitesse Sédimentations d'érythrocytes au cours de la durée expérimentale, qui a dépassé les valeurs de la faiblesse du système immunitaire de manière significative, et en raison de la rétention de ces cellules érythrocytaire dans la moelle osseuse (inhibition de métabolisme du benzène dans sang).

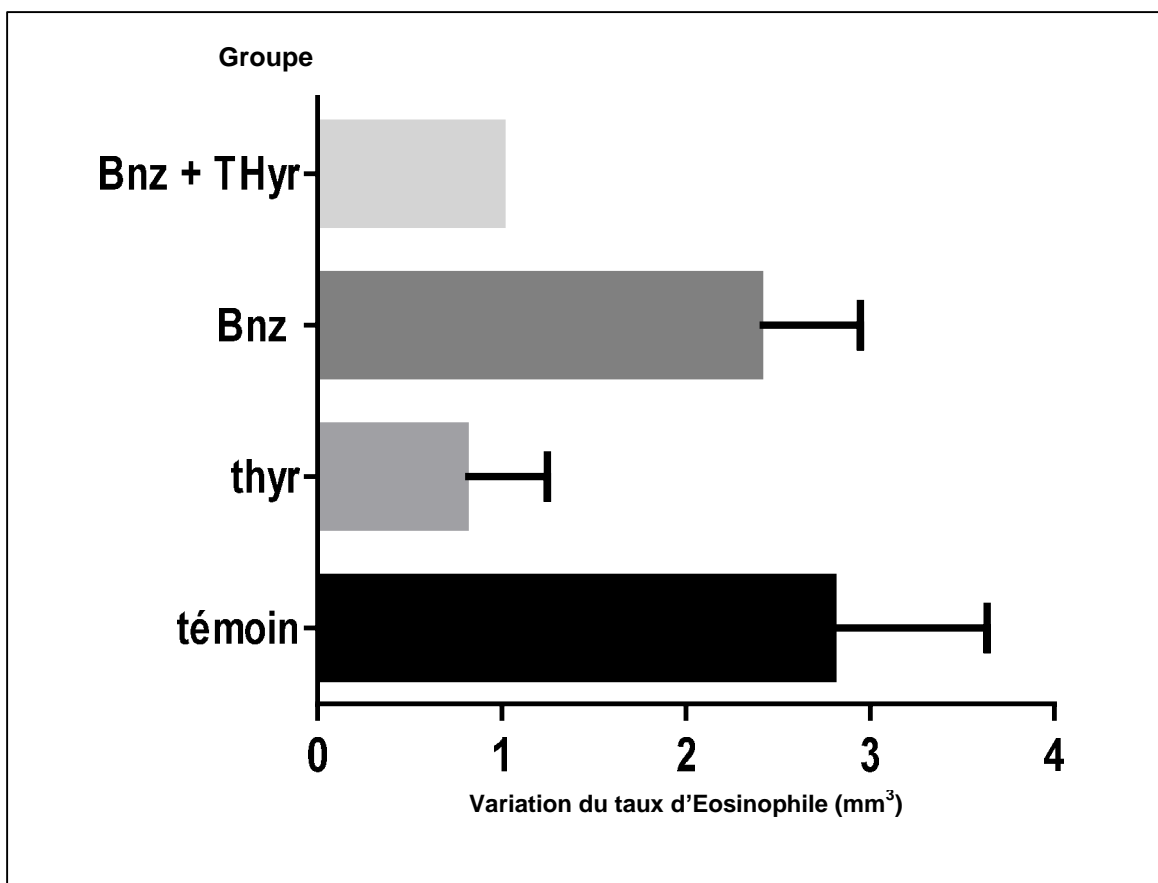
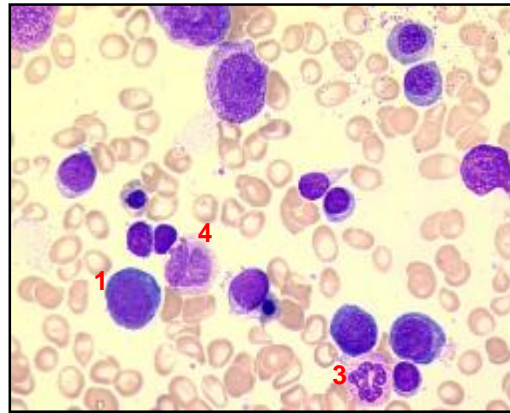
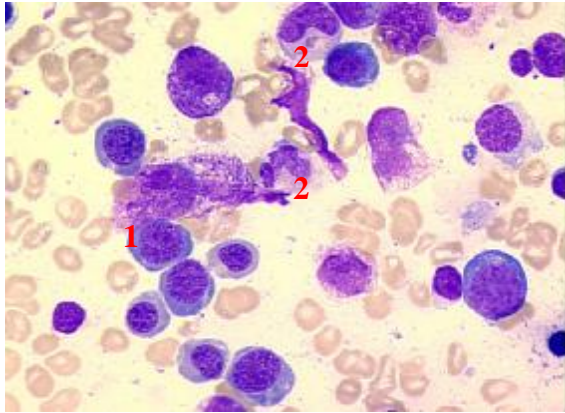


Figure (19): Variation du taux d'Eosinophile (mm³).

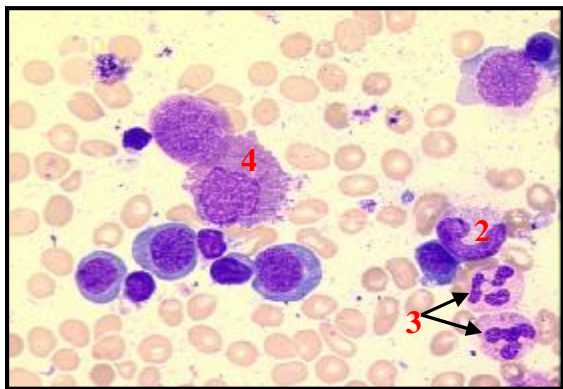
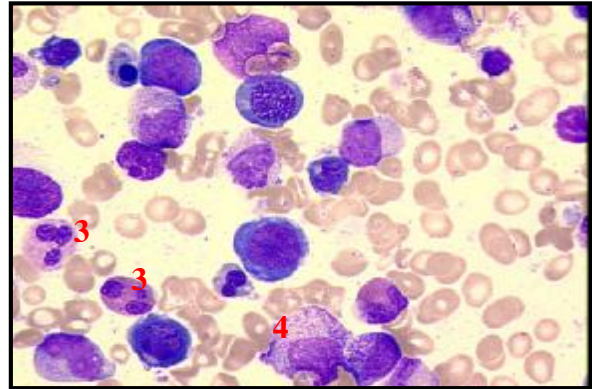
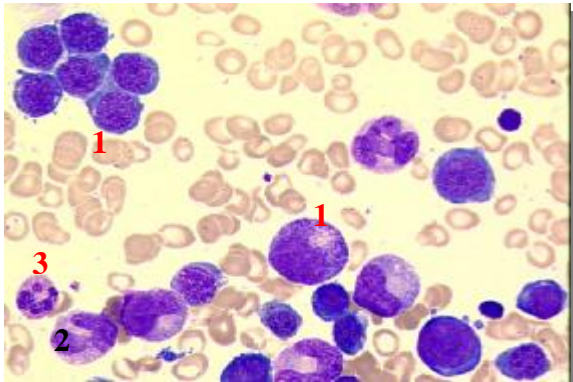
III.4. Résultats de Frottis

Photo 1 : Frottis sanguins de lot 01 : Témoin basal (grossissement X400)



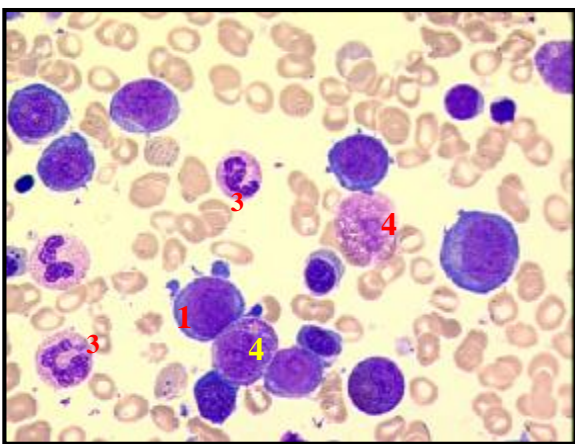
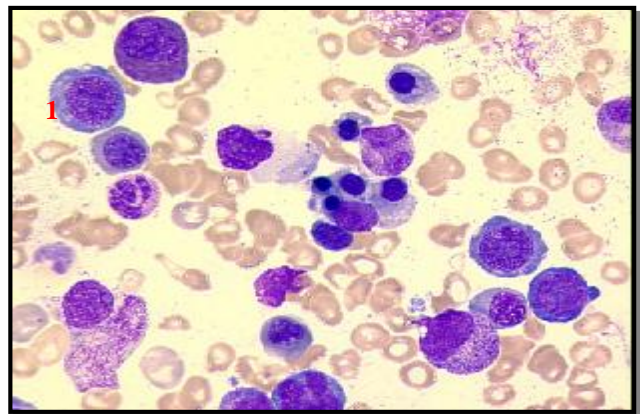
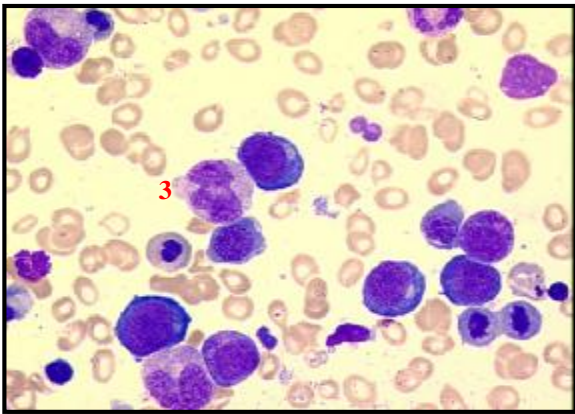
- 1- Lymphocyte
- 2- Eosinophile
- 3- Basophiles
- 4- Lymphocyte T

Photo 2 : Frottis sanguins de lot 02 : Thyroglobuline 10ng /mL (grossissement X400)



- 1- Lymphocyte
- 2- Eosinophile
- 3- Basophiles
- 4- Lymphocyte T

Photo 3 : Frottis sanguins de lot 03 : Benzène 100 mg /L (grossissement X400)



- 1- Lymphocyte
- 2- Eosinophile
- 3- Basophiles
- 4- Lymphocyte T

Partie4

Discussion

IV. Discussion

Dans un précédent travail nous avons rapporté la constatation d'élévations anormales des (lymphocytes et éosinophiles) chez certains lapins traités de benzène varié. Ces fortes augmentations (cas d'hyperréticulocytose entre 120000 et 450000 cellules/mm³). Jamais décrites par d'autres, étaient des anomalies isolées de l'hémogramme, sans modification des autres lignées sanguines, par ailleurs sans stigmates biologiques d'hyperhémolyse associée. Des sujets susceptibles de montrer des anomalies sanguines liées à un certain degré d'hémolyse résultats d'une intoxication de benzène ont été exclus de notre étude. En ce qui concerne l'intoxication de benzène, un travail récent a démontré que la présence de benzène dans la circulation pouvait entraîner une altération de la membrane du globule rouge et de ce fait conduire à la formation de molécules réactionnelles responsables d'une hémolyse inexplicable par ailleurs (KNAPP *et al.*, 1997) par ailleurs certains benzopyrène, le métabolisme en benzopyrène peuvent être responsables d'une hyperhémolyse en forte contamination (GIJSENBURGH *et al.*, 1989 ; LAMBERT *et al.*, 1995; RAMBOURG-SCHEPPENS *et al.*, 1988). Cependant ces derniers solvants n'ont pas été rencontrés au cours de cette étude.

Le recours à des lapins comme témoins ne constitue pas le respect scrupuleux des recommandations du prélèvement de sang chez le témoin une remarquée une augmentation de hémato-poïèse la (figure (7)).

Nous avons trouvé dans les groupes (3) et (4) traités par le benzène une augmentation modérée mais significative des lymphocytes, éosinophiles et gammaglobuline par rapport au groupe témoin non traité au benzène.

Cette augmentation ne dépendait pas de l'intensité de l'exposition ou de sa durée. Ayant déjà rapporté dans quelques observations une augmentation numérique des lymphocytes, éosinophiles et les gammaglobulines circulantes lors de l'exposition au benzène (CARDOSO, 1991). Nous avons séparé dans cette étude le groupe (3) traité par le benzène et le quatrième traité par le benzène et thyroglobuline. Nous n'avons pas trouvé de différence significative.

Un article déjà ancien s'est intéressé à la conséquence hématologique de l'exposition aux benzènes et a dénombré les lymphocytes, éosinophiles et les gammaglobulines sans trouver d'élévation significative dans des situations de traitement d'importance variable (PEDERSEN *et al.*, 1982).

La toxicocinétique du benzène et des autres solvants nous apprend que leur pénétration dans l'organisme est favorisée par la chaleur ambiante une publication ancienne insiste sur le rôle

des températures élevées associées à des expositions chroniques au benzène dans la survenue d'anomales hématologiques par hyperfonctionnement initial de moelle osseuse avec élévation des réticulocytes (Koslova, 1957).

Il est intéressant de constater que les éosinophiles sont également plus élevés dans les groupes (3) et (4) traité aux benzènes par rapport aux témoins. Cette augmentation globale des éosinophiles et due à l'augmentation des polynucléaires, et surtout, fait remarquable, des lymphocytes, comme pour la réticulocytose, les deux groupes traité aux benzènes concernées par cette lymphocytose ne semblent pas subir l'influence de la dose, de la durée de l'exposition et de la nature du benzène. Nous n'avons pas d'explications définitives à cette dernière constatation dans un travail en préparation nous essaierons de mieux analyser l'implication de chaque benzène et de savoir si la lymphocytose relative touche tous les types des lymphocytes.

Les modifications numériques des lymphocytes circulantes ont déjà été décrites au cours de traitement par le benzène, les produits incriminés sont presque toujours des solvants aromatiques et plus particulièrement le benzène, le toluène et le xylène.

Mais les auteurs ont uniquement rapporté des baisses du nombre des lymphocytes circulants sous l'effet de ce benzène (Lisiewicz, 1993; Moszczyński & Lisiewicz, 1983; Pouget *et al.*, 1987). A l'inverse une étude a retrouvé chez des vernisseurs par pulvérisation de légères lymphocytoses relatives mais attribuées aux seuls. Alkylbenzène xylènes et éthylbenzène

En conclusion, bien qu'il existe une différence significative du taux de lymphocytes, éosinophile et gammaglobuline et protéine sérique α_1 et α_2 entre les traité de benzène et les témoins, l'hypothèse d'une interaction n'est pas étayée par une relation dose-effet ou ancienneté-effet. Malgré la constatation d'une augmentation statistique des taux des lymphocytes, éosinophiles dans les groupes traité aux benzènes, les valeurs observées n'atteignent pas des niveaux pathologiques. Il s'agit donc d'un résultat préliminaire qui mériterait d'être confirmé par une nouvelle étude avec des effectifs beaucoup plus importants, la surprise de cette étude est l'existence d'une lymphocytose liée à l'exposition aux benzènes. L'augmentation des taux des lymphocytes et éosinophiles liée à l'exposition chronique aux benzènes décrite dans notre étude confirme les premières constatations (Angerer & Wulf, 1985). Dans une groupe traité aux benzènes aux utilisant certaines alkylbenzène. Notre étude généralise la constatation de cette augmentation des lymphocytes et éosinophiles à d'autres benzènes, il est difficile d'expliquer la survenue d'une modification quantitative de l'hémoglobine en l'absence de variations du nombre des globules rouge. Cette étude ne permet pas encore d'expliquer les mécanismes responsables de l'augmentation des

réticulocytes, lymphocytes et éosinophiles bien que les différences entre les groupes traité aux benzènes et les groupe témoins sont statistiquement significatives, on ne peut considérer qu'elles aient une signification pathologique puisque les taux observés d'anomalie des globules rouges restent dans les valeurs normales validées par tous les laboratoires d'hématologique.

Conclusion

Conclusion

Au terme de cette étude on conclut que:

L'homme est exposé à la toxicité de benzène à cause de différentes sources d'exposition dans l'environnement.

Le benzène est absorbé par toutes les voies d'exposition et l'intoxication principale se fait par l'inhalation. Il est rapidement distribué préférentiellement dans les tissus riches en lipides. La métabolisation a principalement lieu dans le foie et la moelle osseuse. Une partie du benzène est exhalée sous forme non métabolisée mais la plus grande partie est métabolisée et les métabolites sont excrétés sous forme conjugués dans l'urine.

Le benzène a un effet toxique sur l'organisme notamment l'ADN, le système immunitaire et le sang dont il provoque :

§ Un dommage à l'ADN.

§ Affaiblissement de système immunitaire causé par la diminution de poids des éléments immunitaires (LB, LT, Macrophage, Ig ...).

§ L'anémie résulte d'une part par la réduction des cellules souches hématopoïétiques qui sont à l'origine de la moelle osseuse et d'autre part par l'apoptose des cellules matures ce qui entraîne la leucémie (cancer du sang).

Références Bibliographiques

Bibliographie

1. **Bach, J.F. 1990.** Réponse in immunologie animale. Med, Sci. Flammtion, pp ; 143-147.
2. **Bekesi, J.G; Holl, H.A & Anderson, J.F. 1978.** Lymphocyte function of Michigan daily farmers exposed to polybrominated Biphenyl. Science, 199.1207.
3. **Bergeret, A & Tolot, F. 1984.** Benzène et benzolisme. Encycl. Méd. Chir. (Paris, France). Intoxications. 16046 B10.
4. **Boivin, P. 1979.** Anémies hémolytiques acquises. Encycl. Méd. Chir (Paris, France). Sang. 13006, D20.
5. **Cardoso, E. 1994.** Augmentation numérique des réticulocytes circulants chez des salariés exposés à des solvants variés. La Presse Médicale, 23 ,1269.
6. **Cardoso, E. 1991.** Réticulocytes et benzène, à propos de quatre observations. Mémoire pour le certificat d'Etude Spéciales de Médecine du Travail. Faculté de Médecine, Strasbourg, France.
7. **Christine, C; Snyder, R & Chalotte, M.W. 1990.** Bone marrow DNA adducts and bone marrow cellularity following treatment with benzene metabolites in vivo .Biological reactive intermediates plenum New-York. pp 74:56-748.
8. **Ciranni, R; Barale, R; Marrazzini, A. 1988.** Benzène and the genotoxicity of its metabolites I. Transplacental activity in mouse fetuses and in their dams. Mutat, Res, 208:61-67.
9. **Circ. 1982.** Benzene. Dans : Some industrial chemicals and dyestuffs. Centre international de recherche sur le cancer, Lyon, France. p. 93-148 (Monographies du CIRC sur l'évaluation des risques de cancérogénicité pour l'homme, Vol. 29
10. **Dori, J .T; Albert, S.V.S; David, S.I; Mark, J.R; Daniel, W & David, R. 1989.** Bone marrow stromal cell bioactivation and detoxification of the benzene metabolite hydroquinone: comparison of macrophages and fibroblastoid cells. Molecular pharmacology, 37:255-262.
11. **Dowty, B.J; Laseter, J.L & Storer, J. 1976.** The tranplacental migration and accumulation in blood of volatile organic constituents. Pediatr. Res , 10:696-701.
12. **Environnement Canada. 2001.** Mesures du benzène dans l'atmosphère au Canada (1989-1998). Réseau national de surveillance de la pollution atmosphérique (RNSPA), Environnement (www.etccte.ec.gc.ca/publications/naps/benzene1989-98_f.html)
13. **Erf, L.A., Rhoads, C.P. 1939.** The hematological effects of benzene poisoning. J Indust Hyg Toxicol, 21, 421-35.
14. **Fleming-Jones, M.E & Smith, R.E. 2003.** Volatile organic compounds in foods: A five year study. J Agric. Food Chem, 51(27): 8120-8127.
15. **Gaido, K & Wierda. 1984.** In vitro effects of benzène metabolites in mouse bone marrow stromal cells. Toxicol Appl pharmacol. 76:45-55.

16. **Gaillard O.** La Thyroglobuline. *Immunoanal Biol Spéc* 2000 ; 15 : 14-18.
17. **Germain, D; Gentilhomme, O; Bryon, P.A; Coiffier, B.** 1981. Cellules sanguine et organes hématopoïétiques.
18. **Gijzenbergh F.P. et al.** 1989. Acute butylglycol intoxication : a case report. *Human Toxicol*, 8, 243-245.
19. **Goldstein, B.D.** 1989. Clinical hematotoxicity of benzene. *Environmental and occupational health sciences institute*: 55-65.
20. **Graedel, T.C.** 1978. *Chemical compounds in the atmosphere*. Academic Press, New York, NY. p. 105.
21. **Hangwei, C & David, A. E.** 1995. Topoisomerase inhibition by phenolic metabolites: a potential mechanism for benzene's clastogenic effects. *Carcinogenesis* Vol 16 N°10 pp 2301-2307.
22. **Haseltine, W.A; Franklin, W & Lipke, J.A.** 1983. New methods for detection of low levels of DNA damage in human populations. *Environ. Health. Perspect.* 48:29-41.
23. **Infante, P.F & White, M.C.** 1983. Benzene epidemiologic observations of leukemia by cell type and adverse effects associated with low level exposure. *Environ Health Perspect*: 52:75-82.
24. **Irons, D; Stillmains; Colagiovanni, I; Henry, A.** 1992. Synergistic action of the benzene metabolite hydroquinone on myelopoietic stimulating activity of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in vitro. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*: 89: 3691-3695.
25. **Jabot, F. et Petiet, G.** 1987. Proposition d'une méthode de cotation rapide des expositions aux risques en pratique courante de médecine du travail. *Arch Mal Prof.* 48, 315 et 316.
26. **Jeina, D; Dalley-Witkop, B.Z.N & Udenfriend, S.** 1968. Rôle of arene oxide oxidase system in the metabolism of aromatic substrates. In vitro conversion of benzene oxide to a premarcapuric acid and dihydrodiol, *Arch Biochem Biophys.* 128:176-183.
27. **John, F.R & Kalf, G.F.** 1991. Rôle of interleukin-1 (IL-1) in benzene-induced hematotoxicity: inhibition of conversion of pre-IL-1, *Blood*, Vol 78, N°4 pp 938-944.
28. **Kalf, G.F; Michael, J.S; John, F; Renz & Suzane, J.P.** 1989. Prevention of benzene induced myelotoxicity by non steroidal anti-inflammatory drugs *Environmental health perspectives*, 82: 57-64.
29. **Kalf, G.F & Snyder, R.** 1995. A Survey of studies on benzene-induced human leukemogenesis. *Aggiornamenti in Medicina Occupazionale Riabilitazione* Vol 1 N°2 pp 39-67.
30. **Knapp, R. ANDREW, S., GORST, D.** 1997. Alcohol and the red membrane. *Brit. J. Haemat.* vol.97 Sup.1, 64.
31. **Kreike.** 1972. Persistent binding of a new reaction product of the carcinogen N-hydroxy-N-2 acetylaminofluorene with guanine in rat liver DNA in vitro. *Cancer Res* 32:2042-2048.
32. **Koslova, T.A.** 1957. The effect of benzene on the organism at high air temperature. *Higiene Sanitariya*, 22 4, 18-24.

33. **Lange, A; Smolikr; Zatonskwi; Szymanskj, A.S. 1973.** Erum immunoglobulin levels in workers exposed to benzène, toluene and xylene. *Int Arch Arbeitsmed*, 80:31-37.
34. **Lambert, H. et al.1995.** Intoxication aiguë par l'éther butylique de l'éthylène glycol chez l'homme. In: Symposium sur le risques des éthers de glycol, Nancy, 19-21 avril 1994, Session VII. Cahiers de Notes Documentaires - Hygiène et sécurité du travail,158, p.159.
35. **Lisiewicz, J. 1993.** Immunotoxic and hematotoxic effects of occupational exposures. *Folia-Med-Cracov*, 34, 29-47.
36. **Lindstrom, A.B; Highsmith, V.R; Buckley, T.J; Pate, W.J & Michael, L.C. 1994.** Gasoline-contaminated groundwater as a source of residential benzene exposure: A case study. *Government Reports Announcements & Index* , Numéro 23.
37. **Lowell, A & Rhods, C.P. 1939.** The hematological effects of benzene (benzol) poisoning. *Journal of industrial hygiene and toxicology*. 8 :421-435.
38. **Lunte, S.M & Kissinger, P.T. 1983.** Detection and identification of sulfhydryl conjugates of p-benzoquinone in microsomal incubation of benzene and phenol *Chem. Biol. interact* 47:195-212.
39. **Luster, M. I; Tucker, A.N; Hayes, H.T. 1985.** Immunosuppressive effects of benzididine evidence of alteration in arachidonic acid metabolisme .*J. Immunol*, 135, 2754.
40. **Michael, J. S; Robert, D.S & Kalf, G. F. 1989.** Metabolism of phenol and hydroquinone to reactive products by mcrophage Perooxydase of purified prostaglandin H Synthase. *Environmental health perpectives* .Vol 82: pp 229-237.
41. **Michael, J.S; Robert, D.S & Kalf, G. 1990.** Prostaglandin-H-Synthase catalysed oxidation of hydroquinone to a sulfhydryl binding and DNA damaging metabolite. Reprinted from *chemicale rescherch in toxicology* .pp 333-339
42. **Mongan, A. (1987).** In *F.Villeman-setress et immunologie*. Ed Puf.
43. **Morimoto, K. 1983.** Induction of sister chromatid exchanges and cell division delays in human lymphocytes by microsomal activation of benzene, *Cancer Res* .43: 133-134.
44. **Moszczyński, P., Lisiewicz, J. 1983.** Effect of environmental contamination of the workplace withbenzene, toluene and xylene on human lymphocyte-associated immunity. *Med. Lav*, 74,492-498.
45. **Nebert, D.W; Roe, A.L; Vandale, S.E; Bingham, E; Oakley, G.G. 2002.** NAD(P) Hydroquinone oxidoreductase (NQO1) polymorphism, exposure to benzène, and predisposition to disease: a HuGE review. *Genet Med*; 4(2):62-70
46. **Paul-p; André, G & Hervé, B. 1990.** Immunologie animale *Medecine-Science Flammation*. Vol.30.

47. **Pellack, W; Evans, J.H; Blumer, J. 1985.** Relationship between the oxidation potential of benzene metabolites in their inhibitory effect on DNA synthesis in L5178 YS cells. *Mol pharmacol* 28:560-66.
48. **Pellack, W.P & Blumer, J. 1986.** DNA damage in L 5178 YS cells following exposure to benzene metabolites *Mol, pharmacol*, 30-42.
49. **Pedersen, L.M., Rasmussen, J.M. 1982.** The haematological and biochemical pattern in occupational organic solvent poisoning an exposure. *Int Arch Occup Environ Health*, 51 ,113-126.
50. **PISC. 1993.** Benzene, Programme international sur la sécurité des substances chimiques, Organisation mondiale de la santé, Genève, Suisse (Critère d'hygiène de l'environnement 150).
51. **Pouget, E., Davezies, P., Prost, G. 1987.** Etude des lymphocytes chez des peintres au pistolet. *Arch Mal Prof*, 48, 365-367.
52. **Rambourg-Scheppens, M.O. et al. 1988.** Severe ethylene glycol butyl ether poisoning. Kinetics and metabolic pattern. *Human Toxicol*, 7, 187-189.
53. **Richard, D.I; Douglas, A.N & Richard, W.P. 1981.** Inhibition of lymphocyte transformation and microtubule assembly by quinines metabolites of benzene .Evidence for common mechanism. *Journal of the reticuloendothelial society* Vol.30 N°5.
54. **Richard, W; Pfeifer & Richard, D.I. 1982.** Effect of benzene metabolites on phytohemagglutinin- Stimulated lymphopoiesis in rat bone marrow. *Res : Journal of the Reticuloendothelial Society*.31: 155-170.
55. **Rikert & Bakerts. 1979.** Benzene disposition in the rat after exposure by inhalation-Toxicol App. *pharmacol* .49:417-423.
56. **Ronald, P.C; Willam, W.S; Howard, M.K. 1993.** Hematologic effects of benzene *Jom*, 8: 776-782.
57. **Rosenthal, G.J; Snyder, C.A. 1985.** Modulation of the immune response to *Listeria monocytogenes* by benzene inhalation. *Toxicol Appl Pharmacol*. 80,502.
58. **Ross, D. 2000.** The role of metabolism and specific metabolites in benzene-induced toxicity: evidence and issues. *J. Toxicol. Environ. Health*, 61: 357-372.
59. **Sabourin, P.J; Chen, B.T; Lucier, G; Birnbaum, L.S; Fisher, E & Henderson, R.F.1987.** Effect of dose on the absorption and excretion of [C¹⁴] benzene administered orally or by inhalation in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 87: 325-336.
60. **Schlosser, M.J & Kalf, G.F. 1989.** Metabolic activation of hydroquinone by macrophage peroxidase. *Chemi-biol interact* 72:191-207.
61. **Schwartz, C; Snyder, R & Kalf, G.F. 1986.** The inhibition of mitochondrial DNA replication in vitro by metabolites of benzene, hydroquinone, and p-benzoquinone, *Chem-Biol Interact* 53:327.

62. Seidel, H; Barthel, E; Zinser, D. 1989. The hematopoietic stem cell compartments in mice during and after long-term inhalation of three doses of benzene. *Exp. Hematol*; 17:300-303.
63. Shimada, H.T; Satoand, S .T. 1988. Induction of micro-nuclei by benzene and its metabolites *toxicologist*, 8, 71.
64. Simondjisp & Jonesh, M. 1915. The effect of injections of benzol upon the production of antibodies. *J. Med. Res*: 33: 197 - 209.
65. Sindey, L & Goldstein, B.D. 1988. Benzène toxicity a critical evaluation Hemisphere publishing corporation Washington London.
66. Skowronski, G.A; Turkall, R.M & Abdel-Rahman, M.S. 1988. Soil adsorption alters bioavailability of benzene in dermally exposed male rats.*Am ind Hyg Assoc.J*.49 (10): 506-511.
67. Snyder, R; Kocsis, J.J. 1975. Current concepts of chronic benzene toxicity. *CRC. Crit. Rev Toxicol*, 265-268.
68. Snyder, C.A; Goldstein, B. D; Arthur, R.S; Isabel, B; Sidney, L & Roy, E. 1980. The inhalation toxicology of benzene: incidence of hematopoietic neoplasms and hematotoxicity in AKR/J and C57BL/6J mice *toxicology and applied pharmacology* 54:323-331.
69. Snyder, Dimitriadis E, Guy R,Cooper P, Hu K, Bauer H, Witz G .1989. Studies on the mechanism of benzene toxicity. *Environmental health perspective* Vol 82, pp31-35.
70. Suzane, J .P; Renz, J. F & Geoge-Kalf, G.F .1989.The prevention of benzene induced in genotoxicity in mince by indomethacin. *Mutation reseach* 222:291-298.
71. Suzanne, P.C & Snyder, R. P. 1990. Mechanisms of benzène toxicity. *Plenum Press New-York*,pp 387-341.
72. Thomas, K.W; Pellizzari, E.D;Clayton, C.A; Perritt, R.L; Dietz, R.N; Goodrich, R.W; Nelson, W.C & Wallace, L.A. 1993. Temporal variability of benzene exposures for residents in several New Jersey homes with attached garages or tobacco smoke. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol*, 3(1): 49-73.
73. Uyeki, E.M; Askar, A.E; Shoeman, D.W & Bissel, T.U. 1977. Acute toxicity of benzene inhalation to precursor celle . *Toxicol. Appl. Pharmacol* 40:49.
74. Vangala, V. S; David, R; David, A.E & Martyn, S. 1990. Potential role of free radiacals in benzene in duced myelotoxicity and lenkemia .*Free Radical Biology, Medecine*, 11: 495-515.
75. Wallace, L.A. 1989b. The exposure of the general population to benzene. *Cell Biol. Toxicol.*, 5(3): 297-314.
76. Wallace, L. 1996. Environmental exposure to benzene: an update. *Environ. Health Perspect.*, 104 (Suppl 6) : 1129- 1136.
77. Whttew, C; Gammoanm. 1914. The influence of benzol inhalation on experimental pulmonary tuberculosis in rabbits. *Trans Assoc Amer Phys*: 29: 332-337.

- 78. Yamasaki, H; Pulkrabek, P; Grunberger, D; Weinstein, J.B. 1977.** Differential excision from DNA of the C-8 and N- 2 guanosine adducts of N-acetyl-2-aminofluorene by single strand specific endonucleases. *Cancer Res*, 37:3756-3760.
- 79. Zhu, J; Newhook, R; Marro, L & Chan, C.C. 2005.** Selected volatile organic compounds in residential air in the city of Ottawa, Canada. *Environ. Sci. Technol*, 39: 3964-3971.

Résumé

En raison de l'utilisation large du benzène comme solvant organique des produits industriels et composant essentiel des carburants avec sa facilité de pénétration à l'organisme d'une manière spontanée par la voie respiratoire, il en résulte l'atteinte du tissu hématopoïétique par quelques maladies graves et chroniques parmi lesquelles, on cite l'anémie médullaire qui se manifeste à long terme.

En plus l'apparition de quelques variations au niveau du système immunitaire qui se caractérisent généralement par la diminution de quelques paramètres tels que les gamma-globuline et les cellules lymphoïdes.

Ainsi l'être humain exposé à cette substance sera dans un état sanitaire grave, afin de diminuer la gravité de l'utilisation de cette substance des mesures nécessaires doivent être proposés telles que :

1. L'utilisation des masques spéciaux pour diminuer le taux du benzène inspiré.
2. La substitution du benzène par des substances moins toxiques telles que xylène et toluène ou respecter le taux adopté 1ppm.
3. Education sanitaire des travailleurs.
4. Eviter la toxicité du benzène en administrant des médicaments à des doses convenables d'une part pour stimuler le système immunitaire et d'autre part pour activer le système de glutathion.

Mots clés : Benzène ; Toxicité ; Tissu sanguin ; Système immunitaire.

Abstract

It is well known that the benzene penetrates easily the organism through the respiratory tracts. Some very serious diseases as the medullary anemia which occurs next, are caused by this very active element found in the hematopoietical tissue. This chemical is widely used in industry as an organic solvent.

Moreover, some troubles affecting the immunity system are very perceptible, namely a decrease of some function as those of gamma-globulin and lymphoid. In order to decrease the harmfulness of such a substance, necessary measures must be taken as :

1. The use of adequate protectors to diminish the inhaled substance.
2. Substitution of the substance by another one more efficient and less toxic as the Xylène, Toluene or the respect of an appropriate and adopted rate 1ppm
3. Sanitary education of labourers.
4. Avoiding the toxicity of the benzene in choosing convenient amounts which could stimulate the immunity system and activate the glutathion system.

Key words : Benzene; toxicity; Blood tissue; Immune system.

خلاصة

نظرا للاستعمال الواسع للبنزين كمادة مذيبة للمواد الصناعية وكونه أساسيا للوقود العادي للسيارات مع سهولة دخوله إلى جسم الإنسان بصفة غير تحكومية عن طريق استنشاق بخاره فقد نتج عن ذلك إصابة النسيج الدموي ببعض الأمراض الخطيرة والمزمنة في نفس الوقت نذكر على سبيل المثال مرض فقر الدم الإحلالي الذي تظهر آثاره على المدى البعيد.

أضف إلى ذلك ظهور عدة تغيرات على مستوى الجهاز المناعي التي تتميز عموما بانخفاض نسبة بعض عوامله من بينها غاما غلوبولين و الخلايا المفاوية. وهكذا يصبح الإنسان المعرض لهذه المادة في حالة صحية خطيرة.

لهذا نقترح بعض الإجراءات من شأنها التخفيف من حدة خطورة استعمال هذه المادة وهي كمايلي:

- استخدام الأقنعة الخاصة للتقليل من استنشاق بخار البنزين
- تعويض البنزين بمحاليل أقل سمية مثل **Toluène, Xylène** وإلا استوجب احترام القيمة التي يمكن تحملها وهي **1ppm**
- التأكد من صحة العمال بإجراء الفحوصات الدورية اللازمة.
- محاولة تفادي سمية البنزين وذلك بتناول جرعات مناسبة من الأدوية المحرصة للجهاز المناعي من جهة و تنشيط النظام الإنزيمي للجولوتانيون من جهة أخرى.

الكلمات المفتاحية: البنزين، السمية، النسيج الدموي، الجهاز المناعي.