

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Thème :

Evaluation de quelques paramètres biochimiques du stress oxydant chez une population atteinte de syndromes myéloprolifératifs dans la wilaya de Tlemcen

Présenté par : Mouderas Faiza

Soutenu le : 25 /09 /2012

Présidente de jury : M^{me} Boucherit Z.

Maitre de conférences A

Examinatrice : M^{elle} Benariba N.

Maitre assistant A

Promotrice : M^{me} Benmansour M.

Maitre assistant A

Année Universitaire : 2011-2012

Remerciement

Tout d'abord je remercie Dieu le tout miséricordieux, le tout puissant qui m'a honoré d'être parmi ceux qui savent lire et écrire, qui a guidé mes pas sur le chemin de la science, et qui m'a aidé à réaliser ce travail.

Je remercie vivement, M^{me} Benmansour M., assistante chargée de cours, Université Abou Bakr Belkaied Tlemcen pour avoir accepté de diriger ce travail, pour sa disponibilité, pour ces précieux conseils, pour ces orientations et pour ces encouragements.

Je tiens à remercier profondément M^{me} Boucherit Z., maitre de conférences au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaied Tlemcen, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury.

J'exprime également mes sincères remerciements à M^{elle} Benariba N., assistante chargée de cours, Université Abou Bakr Belkaied Tlemcen pour avoir accepté d'examiner et de discuter ce travail.

Je tiens à remercier tout le personnel du service d'hématologie clinique du CHU Tlemcen et du centre médical de Bab Ouahren pour l'aide qui m'ont apporté pour la réalisation de cette étude.

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma mère HADJ MIMOUNE FATIHA, qui grâce à elle je suis devenue ce que suis, qui m'a donné son amour, sa tendresse, ses sacrifices. Je ne pourrai jamais la remercier assez de m'avoir donné le meilleur, d'avoir veillé sur mon éducation, pour son soutien moral et matériel, que dieu la protège. A mon père, mes sœurs IMENE et ASSIA, à mon frère KARIM, à mes très chers neveux ADIL et GHIZLANE, à ma camarade BENMANSOUR WASSILA, ainsi à toutes mes amies et toute ma famille.

A toutes les personnes qui souffrent de cette terrible maladie, puisse dieu leurs venir en aide. Je souhaite qu'un jour très proche la science les soulagera de ce fléau qu'on appelle :
CANCER.

Sommaire

Synthèse bibliographique.....	1
Matériel et méthodes.....	17
1. Population étudiée.....	17
2. Les prélèvements sanguins	17
3. Paramètres et techniques de dosage.....	17
3.1. Dosage du malondialdéhyde plasmatique.....	17
3.2. Dosage des hydroperoxydes plasmatiques.....	18
3.3. Dosage des protéines carbonylées.....	19
3.4. Evaluation de l'activité de la Catalase.....	20
3.5. Dosage de la vitamine C plasmatique.....	20
Résultats et discussion	21
1. Caractéristiques de la population étudiée	21
2. Etude biochimique.....	21
2.1. Teneurs en Malondialdéhyde (MDA) plasmatique chez la population étudiée... ..	22
2.2. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques chez la population étudiée.....	23
2.3. Teneurs en protéines carbonylées chez la population étudiée.....	24
2.4. Evaluation de l'activité de la catalase (CAT) chez la population étudiée.....	25
2.5. Teneurs en vitamine C chez la population étudiée.....	26
Discussion.....	27
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Annexes	

Liste des figures

Figure 1 :	Relation entre la quantité des ERO cellulaires et les effets biologiques.....	2
Figure 2 :	Les principales sources cellulaires des ERO.....	3
Figure 3 :	Régulation de la production d'ERO par les systèmes de défenses antioxydants.....	4
Figure 4 :	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques.....	5
Figure 5 :	Principaux acteurs du stress oxydant et conséquences d'un déséquilibre de la balance pro-oxydants/antioxydants	7
Figure 6 :	Principales classes de dommages de l'ADN.....	9
Figure 7 :	Modes de différenciation d'une cellule souche hématopoïétique de la moelle osseuse	10
Figure 8 :	Les syndromes myéloprolifératifs.....	12
Figure 9 :	Le chromosome Philadelphie.....	14
Figure 10 :	La mutation JAK2V617F.....	14
Figure 11 :	Voie de signalisation JAK2-STAT5	15
Figure 12 :	Teneurs en malondialdéhyde (MDA) chez la population étudiée.....	22
Figure 13:	Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques chez la population étudiée.....	23
Figure 14 :	Teneurs en protéines carbonylées chez la population étudiée.....	24
Figure 15 :	Activité de la catalase chez la population étudiée.....	25
Figure 16 :	Teneurs en vitamine C chez la population étudiée.....	26

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Les principales espèces réactives oxygénées générées dans les systèmes biologiques	1
Tableau 2 :	Classification des hémopathies malignes.....	11
Tableau 3 :	Caractéristiques de la population étudiée.....	17

Liste des abréviations

ABL: Gène abelson

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI: Acides gras polyinsaturés

BCR: Break point region

BCR-ABL: Protéine Abelson

CAT : Catalases

ERN : Espèces réactives d'azote

ERO : Espèces réactives d'oxygène

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

4-HNE : 4-hydroxynonéal

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HOCl : Acide hypochlorique

JAK2: Janus kinase ou Just another kinase

JAK2V617F: Mutation de la protéine Janus kinase

LMC : Leucémie myéloïde chronique

MP: Myélofibrose primitive

MDA: Malondialdéhyde

NO[·] : Monoxyde d'azote

NAD(P)H : Nicotine adénine dinucléotide phosphate réduit

O₂^{·-} : Radical anion superoxyde

OH[·] : Radical hydroxyle

1O₂ : L'oxygène singulet

8-OHdG : Hydroxy-désoxyguanosine

OMS : Organisation mondiale de la santé

ONOO⁻ : Peroxynitrite

PV : Polyglobulie de Vaquez

Q: Ubiquinone

RO₂⁻ : Peroxyle lipidique

ROS: Reactive oxygen species

SMP: Syndromes myéloprolifératifs

SOD: Superoxydes dismutases

TE : Thrombocytémie essentielle

XOR: Xanthine oxydase

Glossaire

Réaction de Fenton : réaction d'oxydation aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH \cdot . Au cours de la réaction, le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée) oxyde le fer ferreux (ou ion fer II) selon la réaction d'oxydo-réduction:



Dismutation : réaction d'une espèce moléculaire (ou radicalaire) sur elle-même, générant simultanément une espèce plus oxydée et une espèce plus réduite que la molécule de départ.

Tyrosine Kinase : enzyme permettant la phosphorylation des protéines cibles dans des sites particuliers.

Janus Kinase : protéine de type tyrosine kinase impliquée dans plusieurs voies de signalisation responsables principalement de la survie et de la prolifération cellulaire.

Xénobiotique : Molécule étrangère, susceptible de pénétrer dans le corps humain.

Cellule souche hématopoïétique (CSH) : type de cellule à l'origine de toutes les lignées de cellules sanguines, qui intervient lors de l'hématopoïèse, se retrouvent uniquement dans la moelle osseuse.

Hématopoïèse : l'hématopoïèse est le processus physiologique permettant la formation et le renouvellement des cellules sanguines : les globules blancs, les globules rouges, et les plaquettes.

Moelle osseuse : la moelle osseuse est un tissu situé au centre des os, responsable de l'hématopoïèse.

Cellule souche myéloïde : cellule issue de la cellule souche hématopoïétique (CSH), qui va pouvoir donner, en se divisant, la lignée myéloïde : granulocytes, monocytes (qui deviendront macrophage dans les tissus), plaquettes, globules rouges et cellules dendritiques myéloïdes.

La lignée érythroïde : la lignée érythroïde correspond à l'ensemble des cellules précurseurs des hématies.

La lignée mégacaryocytaire : cellules précurseurs des plaquettes sanguines.

La lignée granulocytaire : cellules précurseurs des granulocytes (ou polynucléaires).

Adduit : fixation d'une molécule sur une des bases de l'ADN par une liaison covalente pouvant former un pont intra-caténaire entre les deux chaînes de l'ADN.

Site abasique : partie de l'ADN dépourvue d'une base purique ou pyrimidique et ayant perdu l'information génétique par rupture de la liaison entre une base et le désoxyribose.

Chélation : processus physicochimique qui conduit à la formation d'un complexe entre un ion métallique et une substance organique stable et non toxique éliminable dans les urines.

Splénomégalie : une augmentation de volume (mégalie) de la rate (spléno).

Myélofibrose : la transformation anormale, chez un adulte, de la moelle osseuse en substance fibreuse. Elle correspond à un envahissement de la moelle osseuse par du tissu ayant perdu toute élasticité (tissu fibreux).

Thrombopoïétine : (TPO) est une hormone qui stimule la formation de plaquettes sanguines.

Athérosclérose : consiste en une accumulation de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaires sur les artères de gros et moyen calibre.

Ischémie : l'ischémie est une insuffisance de la circulation du sang dans un organe ou dans une partie du corps qui perturbe, voire arrête la fonction de l'organe.

Introduction

Introduction

L'oxygène (ou dioxygène, O₂) est un gaz indispensable à la vie dont on ne pourrait se passer au delà de quelques minutes. Son rôle dans les systèmes biologiques est fondamental. Il est un intermédiaire-clef dans de nombreuses transformations biochimiques, cataboliques et anaboliques (Lane ,2003). Toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives oxygénées (ERO). Aux doses faibles, les ERO sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que la transduction des signaux (Valko et al., 2007). Aux doses excessives, les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme pouvant altérer les constituants lipidiques, protéiques ou l'ADN de la cellule. La surproduction des ERO au delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'athérosclérose au cancer (Clerkin et al., 2008 ; Valko et al.,2007).

Les cancers sont des maladies complexes, présentant de nombreuses formes selon l'étiologie et les tissus atteints et dépendent d'un grand nombre de facteurs causaux. Parmi ces facteurs, les radicaux libres jouent un rôle de premier plan à tous les stades de la maladie (Delattre et al, 2007). En effet de très nombreuses études démontrent la place prépondérante du stress oxydant dans l'initiation et le développement des cancers y compris les hémopathies malignes (Ahmad et al., 2010) qui sont l'ensemble des cancers développés au dépend du tissu hématopoïétique suite à des anomalies chromosomiques dans les cellules souches hématopoïétiques (Sailaja et al., 2010). Parmi les hémopathies malignes on distingue les syndromes myéloprolifératifs (SMP) caractérisés par la prolifération clonale des cellules myéloïdes et qui représentent 29,4% de l'ensemble de ces pathologies dans la région de Tlemcen (Registre du cancer de Tlemcen, 2007).

Le but de ce présent mémoire est d'évaluer le statut oxydatif chez des patients atteints de syndromes myéloprolifératifs dans la région de Tlemcen, afin de trouver son implication dans l'apparition de ces pathologies et ceci par la détermination de quelques marqueurs biochimiques du stress oxydant.

Synthèse bibliographique

Les espèces réactives de l'oxygène ERO sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie. Elles regroupent l'ensemble des dérivées radicalaires de l'oxygène mais également d'autres dérivés non radicalaires très réactifs (Haton, 2005 ; Valko et al., 2007) (tableau 1).

Les dérivées radicalaires de l'oxygène ou les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur la couche externe. La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules, une grande instabilité et la possibilité d'oxyder ou de réduire de nombreux composés afin de stabiliser leur orbitale externe, par exemple l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) qui est d'une importance capitale car il est la première ERO à être formée, le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et l'oxyde nitrique (NO^{\cdot}) (Bonfont Rousselot et al., 1999 ; Valko et al., 2007) en revanche les dérivées non radicalaires ne possèdent pas d'électrons non appariés mais sont des précurseurs des radicaux libres et sont aussi réactifs que ceux-ci. Par exemple : le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2) (Korsloot et Van Straalen., 2004).

Tableau 1. Les principales espèces réactives oxygénées générées dans les systèmes biologiques (D'après Bartosz, 2003).

Nom	Symbole
Espèces radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot-}$
Acide hypochlorique	$HOCl$

Aux doses faibles, les ERO sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques ; elles participent à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation et la prolifération cellulaire, au fonctionnement de certains neurones, à la fécondation de l'ovule et à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes (Valko et al, 2007). Elles constituent aussi un système de transmission de signaux jouant le rôle de messagers intra et extracellulaires, elles permettent d'induire la réponse cellulaire à de nombreux stress : thermiques, l'irradiation (ultraviolets), les cytokines inflammatoires, les carcinogènes chimiques, xénobiotiques, permettant l'expression de gènes de défense (Tesio, 2011) mais aux doses excessives, les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme pouvant altérer les composantes cellulaires (ADN, macromolécules et surtout les bicouches phospholipidiques des membranes), entraînant ainsi une cascade de réactions radicalaires susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies (Ames et al., 2003 ; Favier, 2003) donc le paradoxe apparent de la double potentialité des ERO comme molécules essentielles à la régulation cellulaire et comme produits potentiellement toxiques du métabolisme peut être expliqué par des effets dose dépendants (Delattre et al., 2007) (Figure 1).

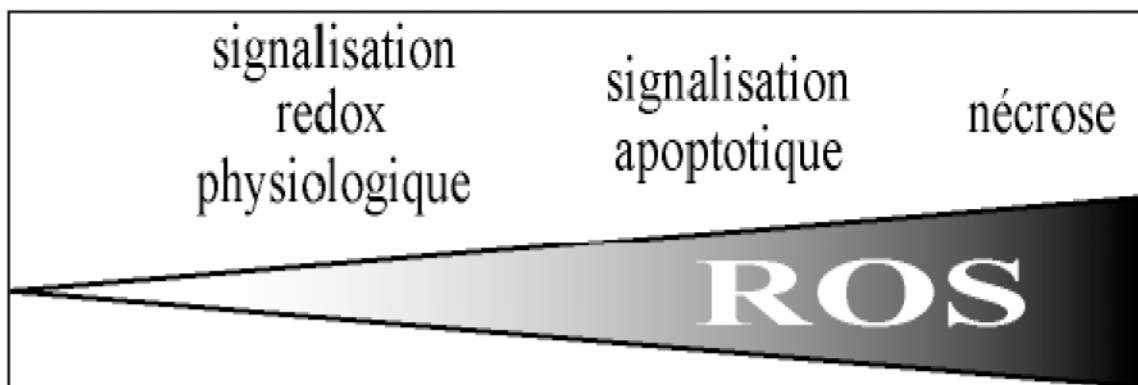


Figure 1 : Relation entre la quantité des ERO cellulaires et les effets biologiques (D'après Sachdev, 2008).

La production des ERO dans les cellules est essentiellement d'origine enzymatique et découle de plusieurs sources possibles. Il s'agit principalement du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire responsable de la production de plus de 80% de l'anion superoxyde (Murphy, 2009) et du complexe enzymatique de la NAD(P)H oxydase membranaire (Zhang et al., 2011) source importante d'ERO utilisées dans la lutte contre les bactéries et les corps étrangers dans les cellules phagocytaires activées mais d'autres enzymes cytosoliques ou présentes au sein de différents organites cellulaires peuvent également produire des ERO (Piccoli et al., 2007) (Figure 2) telles que la Xanthine oxydase (XOR) lors du métabolisme des purines (Harrison, 2002), les cyclooxygénases et les lipooxygénases au cours des réactions d'oxydation des acides gras polyinsaturés (Kinder et al., 2010), les cytochromes P450 enzymes de la détoxification des xénobiotiques, la myéloperoxydase (MPO) lysosomale et les oxydases peroxysomales (Delattre et al., 2007), des réactions d'autooxydation non enzymatiques de nombreuses molécules solubles comme le glucose, les thiols, les catécholamines,... sont par ailleurs une source d'ERO (Bartoscz, 2003), de part notre environnement nous sommes exposés quotidiennement à des agents exogènes d'origines diverses. Ces agents physiques ou chimiques, comprennent des particules inhalées (amiante, silice, fumée de tabac), des médicaments, des polluants de l'environnement, et des radiations (rayonnements radioactifs ou UV) à l'origine de la formation d'ERO (Nemlich, 2009).

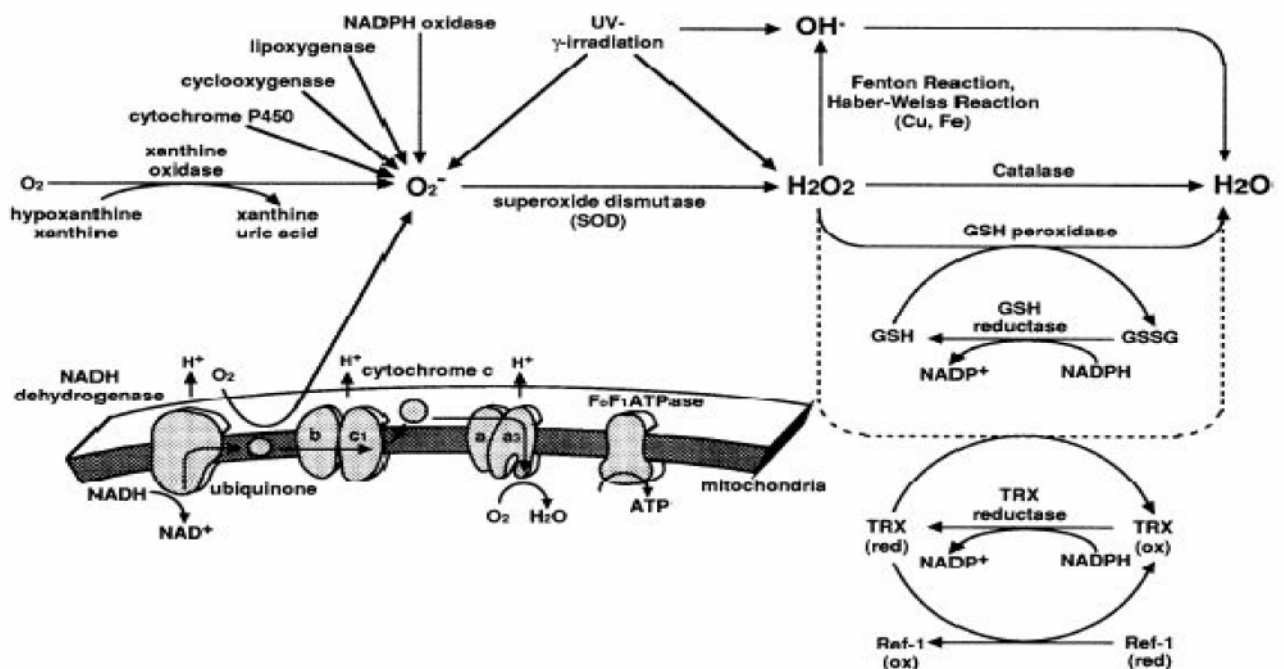


Figure 2 : Les principales sources cellulaires des ERO (Bonnefont-Rousselot., 2003).

Donc les ERO sont des molécules produites par divers mécanismes physiologiques mais elles sont présentes dans les cellules à des concentrations très faibles, ces concentrations sont régulées par un équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par des systèmes antioxydants (Delattre et al., 2007) qui sont des substances capables d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi empêcher leur oxydation (Berger, 2006). Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes soit endogènes enzymatiques et non enzymatiques, soit exogènes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'ERO (Messa et al., 2010) (Figure 3).

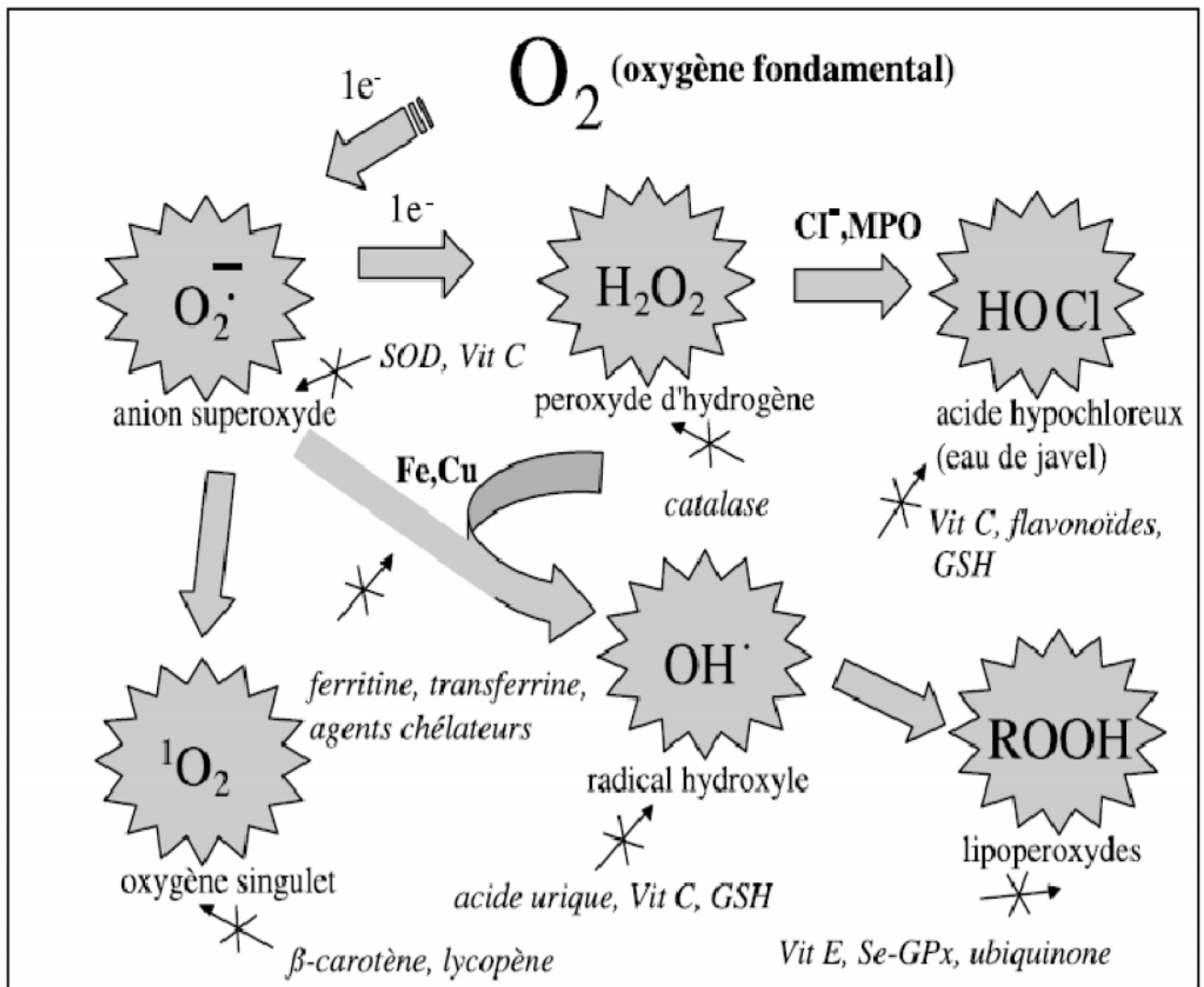


Figure 3 : Régulation de la production d'ERO par les systèmes de défenses antioxydants (D'après Pincemail et al., 2002).

Les systèmes enzymatiques sont représentés principalement par les superoxyde dismutases (SOD), la catalase (CAT) et les glutathion peroxydases (GPx). Ces enzymes intracellulaires très performants, ont des fonctions spécifiques et non remplaçables, et chaque classe de ces enzymes est nécessaire pour la survie des cellules (Lambeth, 2004). Elles ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\cdot-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001) ; tout d'abord les SOD (EC : 1.15.1.1) catalysent la dismutation des ions superoxydes en molécules de H_2O_2 et d' O_2 . Elles constituent une première ligne de défense très efficace en empêchant l'accumulation cellulaire de superoxyde et elles sont présentes chez pratiquement tous les organismes aérobies, Il existe plusieurs isoenzymes de SOD qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, selon la nature du métal incorporé dans le groupement prosthétique, selon leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Zelko et al., 2002 ; Delattre et al., 2007) ensuite le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) formé par les SOD est pris en charge soit par la catalase (EC 1.11.1.6) qui catalyse sa dismutation en O_2 et en H_2O (Kirkman et Gaetani., 2007) soit par la glutathion peroxydase (EC 1.11.1.9) qui couple sa réduction avec l'oxydation du glutathion (GSH) (Sorg, 2004 ; Tothova et al., 2007) (Figure 4).

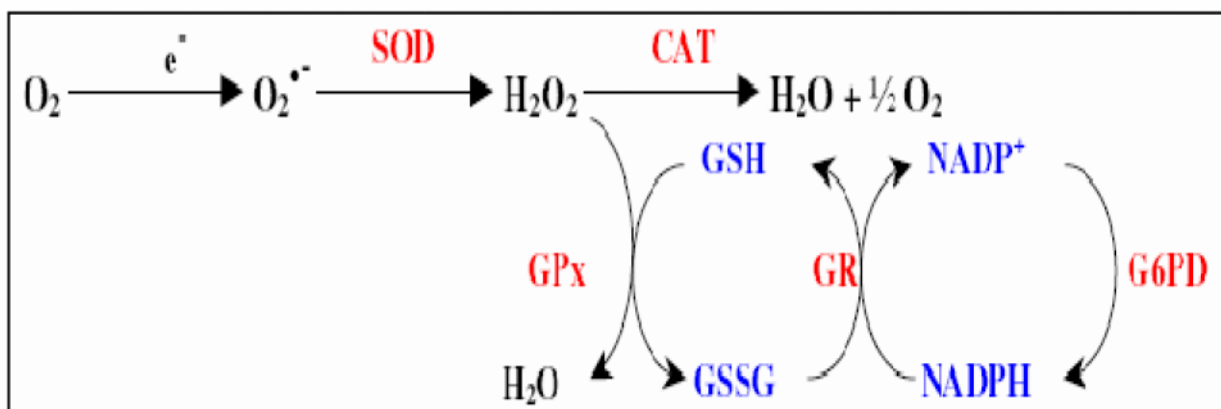


Figure 4 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques (D'après Favier, 2003).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes qui jouent un rôle sans doute important mais encore mal évalué comme les thiorédoxines, les glutaredoxines, les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase ou les thiorédoxines peroxydases (Favier, 2003).

Les systèmes non enzymatiques renferment de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque, les protéines chélatrices de métaux de transitions, et d'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines : E (tocophérol), C (acide ascorbique), l'ubiquinone (Q), ou les caroténoïdes (Ahmad et al., 2010). De tous les composés endogènes, le plus important est sans doute le glutathion réduit GSH (thiol majeur au niveau intracellulaire) ; c'est un tripeptide qui joue le rôle d'antioxydant grâce à son pouvoir réducteur via sa fonction thiol (-SH) qui est donneur d'électron capable de fixer les ERO, se retrouvant à des concentrations intracellulaires variant entre 0,5 mM et 10 mM, le GSH est responsable de l'élimination de 80% à 95% des ERO formés par une cellule (Dröge, 2002 ; Favier, 2003). Il peut fixer les ERO soit par interaction directe, soit en servant de cofacteur sur lequel la GPx peut fixer le H₂O₂ (Balendiran et al, 2004; Korsloot et Van Straalen., 2004) et il peut agir comme les protéines chélatrices de métaux de transitions telles que l'haptoglobine, la ferritine, la transferrine, la lactoferrine, l'albumine, l'hémosidérine et la céruloplasmine en diminuant la disponibilité d'agents prooxydants par le stockage, le transfert ou l'oxydation des métaux, comme Fe²⁺/Fe³⁺ ou Cu⁺/Cu²⁺ permettant par ce biais de prévenir la production des ERO par la réaction de Fenton (Messa et al., 2010). L'acide urique produit terminal du métabolisme des purines possède aussi des propriétés antioxydantes importantes (Paula et al., 2008) en ce qui concerne les antioxydants exogènes la vitamine C (ou acide ascorbique) est considérée comme étant le plus important ; elle est douée d'un puissant potentiel réducteur et agit en piégeant directement les ERO en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. Elle est aussi capable de recycler le glutathion et l'α-tocophérol ou vitamine E qui elle aussi est une molécule antioxydante. Son rôle est essentiellement de capter les radicaux peroxydes lipidiques RO₂[·], elle interrompt ainsi la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés (Pelicano et al., 2004), certains minéraux agissant comme cofacteurs pour assurer l'activité des enzymes antioxydantes sont apportés également par voie alimentaire comme le sélénium (Se), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le cuivre (Cu) et le fer (Fe). Lorsque ces différents systèmes de gestion des ERO sont dépassés en raison d'un excès de production d'ERO et/ou d'une diminution des systèmes antioxydants, un stress oxydant apparaît (Figure 5).

Ce déséquilibre dans la balance métabolique cellulaire entre les ERO et les antioxydants en faveur des premières peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un effort physique intense, une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques), un déficit nutritionnel en antioxydants, une mutation ou un polymorphisme de gènes codant pour les enzymes antioxydants (Pincemail et al., 2002 ; Sorg, 2004 ; Koechilin-Ramonatxo, 2006).

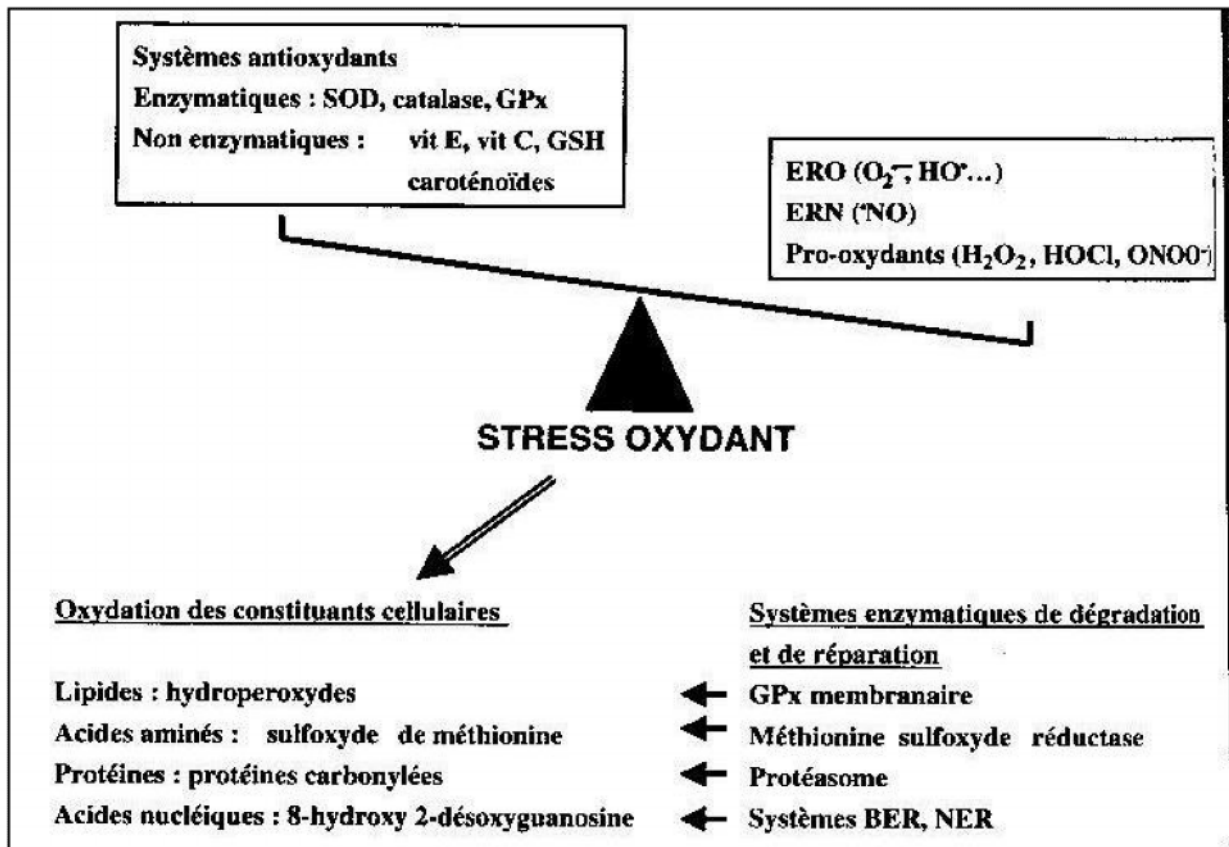


Figure 5 : Principaux acteurs du stress oxydant et conséquences d'un déséquilibre de la balance pro-oxydants/antioxydants (D'après Delattre et al., 2007).

La production excessive et l'accumulation des ERO provoque des lésions directes de molécules biologiques dont les cibles les plus vulnérables sont les lipides, l'ADN et les protéines, mais aussi des lésions secondaires cellulaires et tissulaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés (Favier,2003 ; Valko et al., 2006).

Les lipides membranaires et tout particulièrement les acides gras polyinsaturés (AGPI), sont la cible privilégiée de l'oxydation par les ERO. Les réactions d'oxydation concernent aussi bien les acides gras non estérifiés tels que les acides (linoléique, linolénique et arachidonique) qu'estérifiés (les triacylglycérols), les lipoprotéines circulantes, esters de cholestérol ou encore le cholestérol libre (Favier, 2003 ; Belkhiri, 2006) à l'origine de la formation de très nombreux produits primaires (hydroperoxydes) ou secondaires (aldéhydes) dont les activités biologiques sont multiples. Ce phénomène est connu sous le terme de peroxydation lipidique. Les aldéhydes les plus étudiés sont 4-hydroxynonéal (4-HNE) et le dialdéhyde malonique (MDA), ils apparaissent dans le sang et l'urine et sont souvent utilisés comme des marqueurs de stress oxydant (Ahmad et al., 2008). Dans les protéines, des réactions d'oxydation des chaînes latérales des acides aminés sont possibles, les cibles majeures des ERO sont les acides aminés soufrés, les acides aminés basiques et les acides aminés aromatiques sensibles au radical hydroxyle et aux produits de la peroxydation lipidique : le MDA et le 4-HNE. L'oxydation des acides aminés génère des groupements hydroxyles et carbonyles sur les protéines mais peut également induire des modifications structurales plus importantes, les carbonyles sont utilisés comme un marqueur de l'oxydation des protéines et de façon générale comme un marqueur de stress oxydant (Singh et al., 2009) et l'ADN bien qu'il soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les ERO. Les modifications des bases puriques et pyrimidiques, les cassures simples et double-brin, les sites abasiques et les pontages, constituent les catégories principales de dommages oxydatifs de l'ADN (Van Loon et Hubscher., 2009) (Figure 6). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîne l'oxydation des bases, et tout particulièrement de la guanine, engendrant un grand nombre de bases modifiées telle que la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OHdG) dont la mesure est aujourd'hui utilisée comme biomarqueur du stress oxydant sur l'ADN et peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN (Feng et al., 2003 ; Valko et al., 2006 ; Novotna., 2009, Van Loon et Hubscher., 2009).

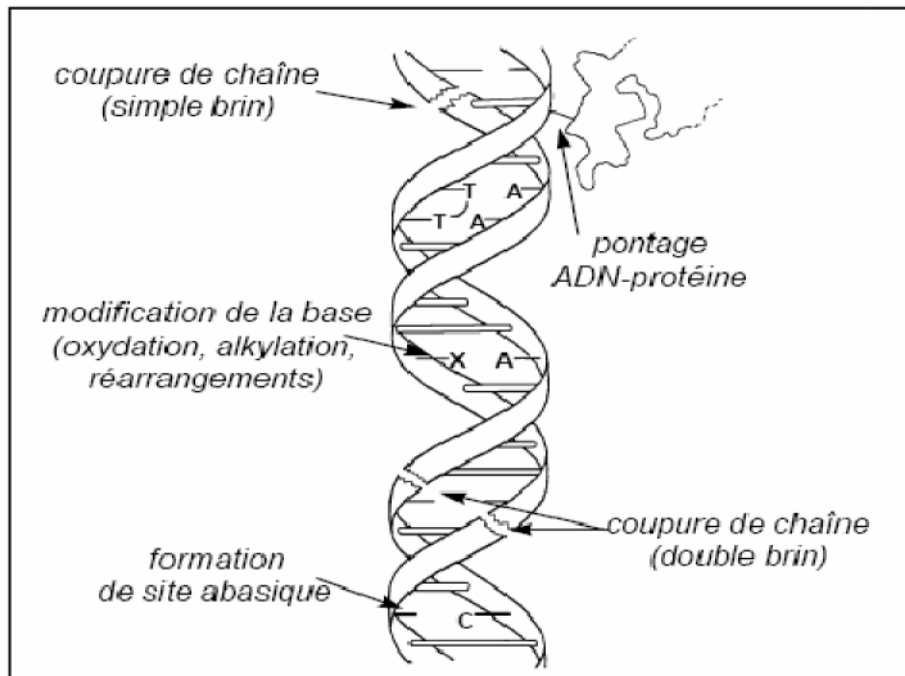


Figure 6 : Principales classes de dommages de l'ADN (D'après Favier., 2003).

Ces altérations du matériel génétique représentent la première étape impliquée dans la mutagenèse et la carcinogenèse. En effet, la 8-OHdG normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN qui peuvent, elles aussi, être victimes de l'action des ERO est considérée comme une lésion pré-mutagénique car elle peut conduire, en l'absence de réparation, à une transversion GC → TA. Cette transversion induit des mutations observées dans les cellules cancéreuses (Delattre et al., 2007 ; Sallmyr et al., 2008) . En effet de très nombreuses études démontrent la place prépondérante du stress oxydant dans l'initiation et le développement des cancers qui sont des maladies complexes, présentant de nombreuses formes selon l'étiologie et les tissus atteints, ils se caractérisent par la prolifération anarchique de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes formant ce qu'on appelle des métastases, ces métastases sont la principale cause de décès par cancer , lorsque cette pathologie touche l'homéostasie du système hématopoïétique elle est définie par le terme d'hémopathies malignes (OMS, 2011) . Le système ou tissu hématopoïétique est un ensemble de cellules ancestrales appelées cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui en se divisant

donnent naissance à des cellules capables de se différencier en toute catégorie de cellules de sang au cours d'un processus biologique appelé hématopoïèse au niveau de la moelle osseuse. Ce processus comprend la myélopoïèse des lignées myéloïdes : érythroïde, granuleuse, monocyttaire et mégacaryocytaire qui aboutit à la production respectivement des érythrocytes (ou globules rouges), des granulocytes (ou polynucléaires), des monocytes et des plaquettes, et la lymphopoïèse de la lignée lymphoïde qui aboutit à la production des lymphocytes (Ito et al., 2006) (figure 7).

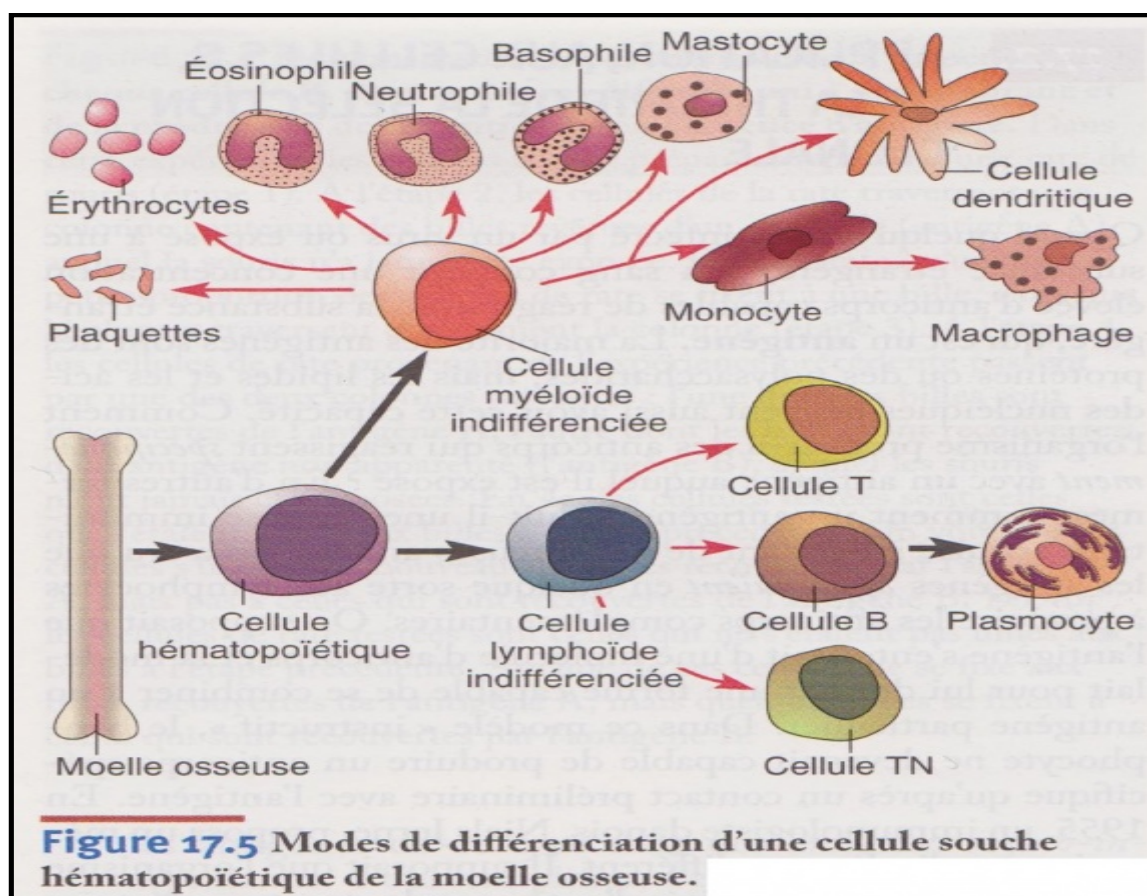


Figure 7 : Modes de différenciation d'une cellule souche hématopoïétique de la moelle osseuse (Ito et al., 2006).

Un excès ou un défaut de production de certaines cellules sanguines, conduit à l'apparition des hémopathies malignes appelées communément cancers du sang. La classification des hémopathies malignes tient compte du tissu d'origine de la prolifération, lymphoïde ou myéloïde et le degré de sévérité aigu ou chronique (Sinenko et al., 2010) (tableau 2) .

Tableau 2. Classification des hémopathies malignes (Thiele et al., 2008).

	Aigue	chronique
Lymphoïde	Leucémie lymphoblastique aigue (LLA) et sous types	Leucémie lymphocytaire chronique (LLC) et variantes Lymphome non hodgkinien (LNH) Lymphome de hodgkin (LH) Myélome multiple et variantes
Myéloïde	Leucémie myéloïde aigue (LMA) et sous types	Leucémie myéloïde chronique (LMC) et variantes Syndromes myélodysplasiques (SMD) Syndromes myéloprolifératifs (SMP)

L'incidence des hémopathies malignes est en progression dans le monde entier (OMS, 2011). En France, entre 1988 et 1994, une étude a montré que le taux de mortalité par les HM est de 1.99% chez les hommes et 1.94% chez les femmes, ce chiffre a augmenté de façon exponentielle 10000 nouveaux cas estimés en 2008 dont plus de la moitié sont des hommes (Alyos, 2008). En Algérie, une étude menée à Sétif entre 1990 et 1997, montrait que les tumeurs du système hématopoïétique représentaient 6.7% des tumeurs chez l'homme et 5.6% des tumeurs chez les femmes (Le registre du cancer de Sétif, 1997).

A Tlemcen, l'étude du rapport du registre du cancer de Tlemcen, montre que les leucémies représentent 3% de l'ensemble des cancers, avec prédominance masculine et enregistre 194 cas d'hémopathies malignes dont 31 nouveaux cas uniquement pendant la période de 2009 et 2010 (CHU Tlemcen, 2010) et malgré l'amélioration du diagnostic et les thérapeutiques réalisés ces dernières décennies, la mortalité par hémopathie maligne reste élevée.

Parmi les hémopathies malignes on distingue les syndromes myéloprolifératifs (SMP) caractérisés par la prolifération clonale des cellules myéloïdes avec une conservation de leur capacité de différenciation (Chomel et al., 2009) et qui représentent 29,4% de l'ensemble de ces pathologies dans la région de Tlemcen. Ils peuvent être divisés en SMP classiques et en SMP atypiques, les SMP classiques comprennent quatre entités cliniques distinctes : la leucémie myéloïde chronique (LMC) d'une part, dont la physiopathologie moléculaire est maintenant bien connue, avec le chromosome Philadelphie et le remaniement BCR-ABL, et d'autre part les trois autres SMP dits « Philadelphie négatifs » : polyglobulie de Vaquez (PV), thrombocytémie essentielle (TE) et myélofibrose primitive (MP) (Tefferi et Vardiman, 2008) (figure 8).

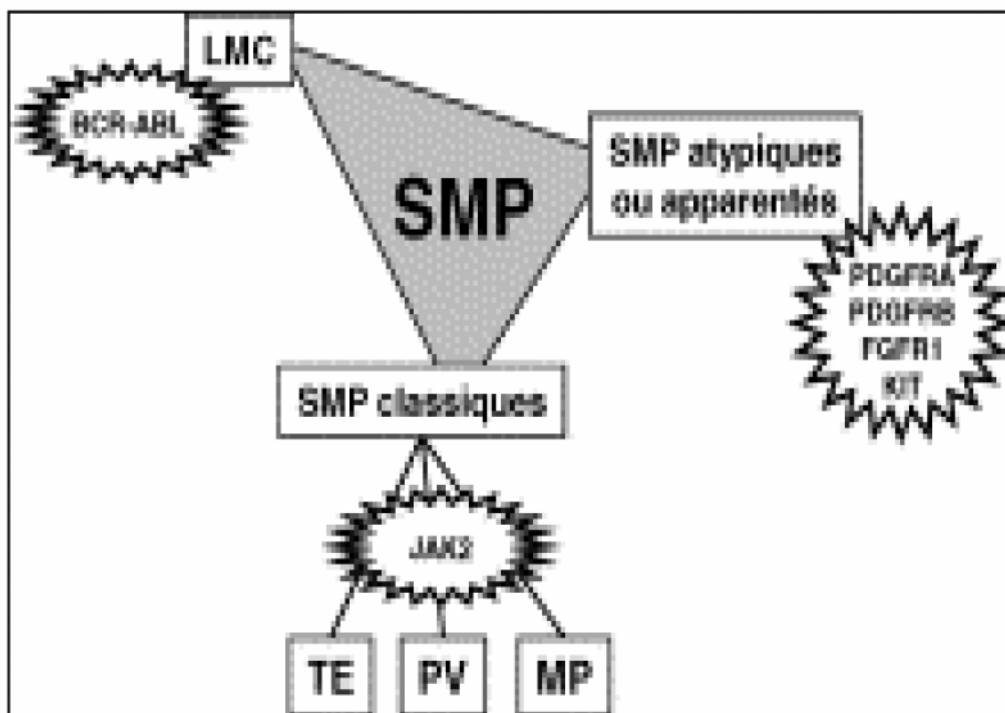


Figure 8: Les syndromes myéloprolifératifs (D'après Chomel et al., 2009).

La leucémie myéloïde chronique LMC est de loin la plus fréquente parmi tous les SMP, elle est caractérisée par la prolifération clonale de la lignée granulocytaire (cellules précurseurs des granulocytes ou polynucléaires). Elle a une incidence d'un nouveau cas pour 300 000 habitants, et est diagnostiquée le plus fréquemment chez des sujets de 20 à 50 ans. Le chromosome Philadelphie issu de la translocation t (9 ;22) (q34 ;q11) est présent dans 90% des cas de la LMC (Rezgoune., 2006 , Reddy et al., 2011). La polyglobulie de Vaquez occupe la deuxième place après la LMC dont la manifestation est la production anormalement élevée d'érythrocytes normaux et est caractérisée par une anomalie génétique récemment mise en évidence : la mutation V617F de JAK2. Cette maladie a une incidence de 3 à 5 pour 10 000 habitants et survient plus fréquemment à partir de 50 ans (James et al., 2005; Chomel et al., 2009). La thrombocytémie essentielle TE est un syndrome myéloprolifératif rare caractérisé par une élévation du nombre des plaquettes ou thrombocytes (>600000 plaquettes/mm³). Son incidence est estimée à 1.5 nouveaux cas pour 100 000 habitants .Elle est le plus souvent observée chez l'adulte après 40 ans. L'anomalie moléculaire JAK2 V617F a été retrouvée dans de nombreux cas de TE (Levine et al., 2005). La myélofibrose primitive MP ou myélofibrose chronique idiopathique ou splénomégalie myéloïde est le plus rare de tous les SMP, elle est caractérisée par une augmentation importante de la taille de la rate et une fibrose de la moelle osseuse, mais elle ne s'accompagne pas nécessairement d'une augmentation de la production de cellules myéloïdes. L'incidence de cette maladie est estimée de 0.5 à 1.5 nouveaux cas pour 100 000 habitants avec un pic d'incidence vers 60 ans. La mutation JAK2 V617F est un marqueur de clonalité pour la moitié des patients atteints de la MP (Barosi et Bacigalupo., 2006). L'origine de ces pathologies n'est pas toujours connue. Cependant, il a clairement été démontré que les hémopathies malignes sont fréquemment associées à des anomalies chromosomiques affectant la régulation et la structure des gènes des cellules souches hématopoïétiques (Reddy et al., 2011). L'anomalie moléculaire somatique à l'origine des SMP touche une cellule souche myéloïde avec des conséquences plus ou moins spécifiques sur les lignées érythroïdes (PV), granulocytaires (LMC) et mégacaryocytaires (TE) (Chomel et al., 2009). Le chromosome Philadelphie associé à la LMC, décrit en 1960 est le résultat d'une translocation chromosomique réciproque entre les chromosomes 9 et 22, cette translocation fusionne le gène BCR situé sur le chromosome 22 avec le gène ABL situé sur le chromosome 9. Le gène de fusion BCR-ABL code une protéine tyrosine kinase constitutivement active responsable de la maladie (figure 9) (Naughton et al., 2009 ; Nowell, 2007 ; Rowley, 1973).

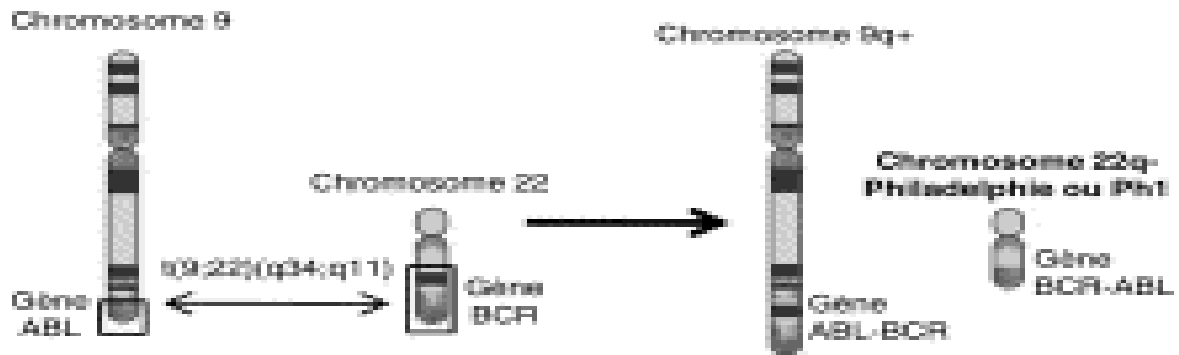


Figure 9 : Le chromosome Philadelphie (D'après Naughton et al., 2009).

La mutation V617F de JAK2 est une mutation ponctuelle acquise aboutissant au changement d'un G pour un T au nucléotide 1849 situé dans l'exon 12 de JAK2. Au niveau protéique cette mutation aboutit à une substitution d'une valine en une phénylalanine au codon 617 d'où le nom JAK2 V617F (Tefferi et Gilliland, 2005) (figure 10).

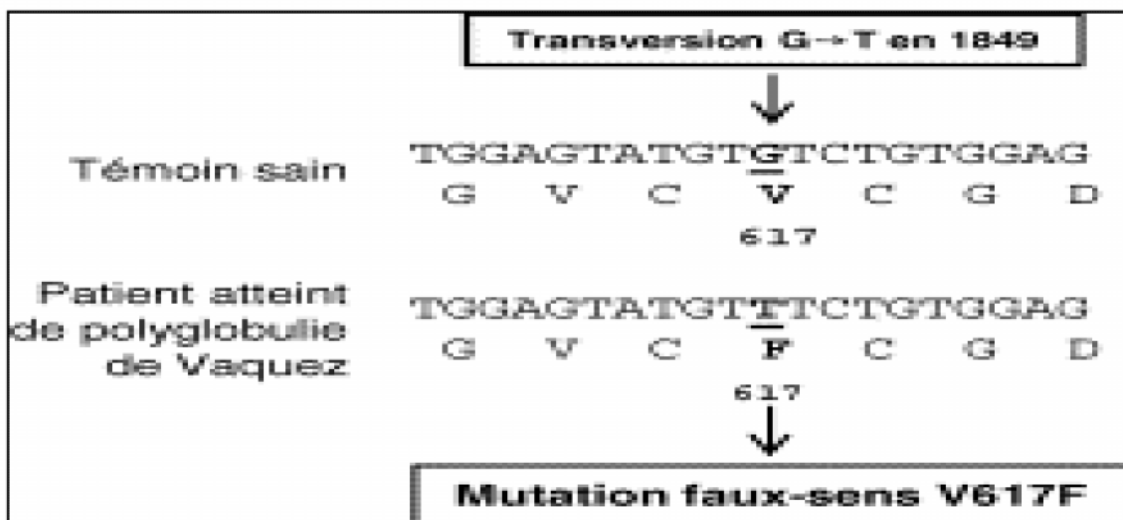


Figure 10: La mutation JAK2V617F (D'après Baxter et al., 2005).

La protéine JAK2 (Just An other Kinase) est une protéine à fonction tyrosine kinase, elle est impliquée dans plusieurs voies de signalisation responsables notamment de la survie, de la

prolifération et de la différenciation cellulaire. Elle peut se fixer à des récepteurs de facteurs de croissance comme le récepteur de l'érythropoïétine EPO et de la thrombopoïétine TBP (facteurs de croissance qui stimulent l'hématopoïèse), la fixation de l'EPO sur son récepteur favorise la phosphorylation activatrice de JAK2 qui phosphorylent à leur tour d'autres protéines appelées STAT qui se transloquent dans le noyau et se fixent sur l'ADN pour activer la transcription des gènes impliqués dans l'hématopoïèse (figure 11), dans le cas de la protéine JAK2 mutée V617F, l'activation de ces gènes est réalisée de façon permanente et en l'absence de facteur de croissance (EPO) (Baxter, 2005). Cette mutation est l'événement moléculaire responsable de 95% des PV, 60% de TE et 50% de MP, sa recherche est devenue un élément majeur du diagnostic des SMP (Akada et al., 2010). D'autres mutations, comme celles dans l'exon 12 de JAK2 ou dans le gène codant pour le récepteur à la thrombopoïétine (MPL W515) sont moins fréquentes (James et al., 2005).

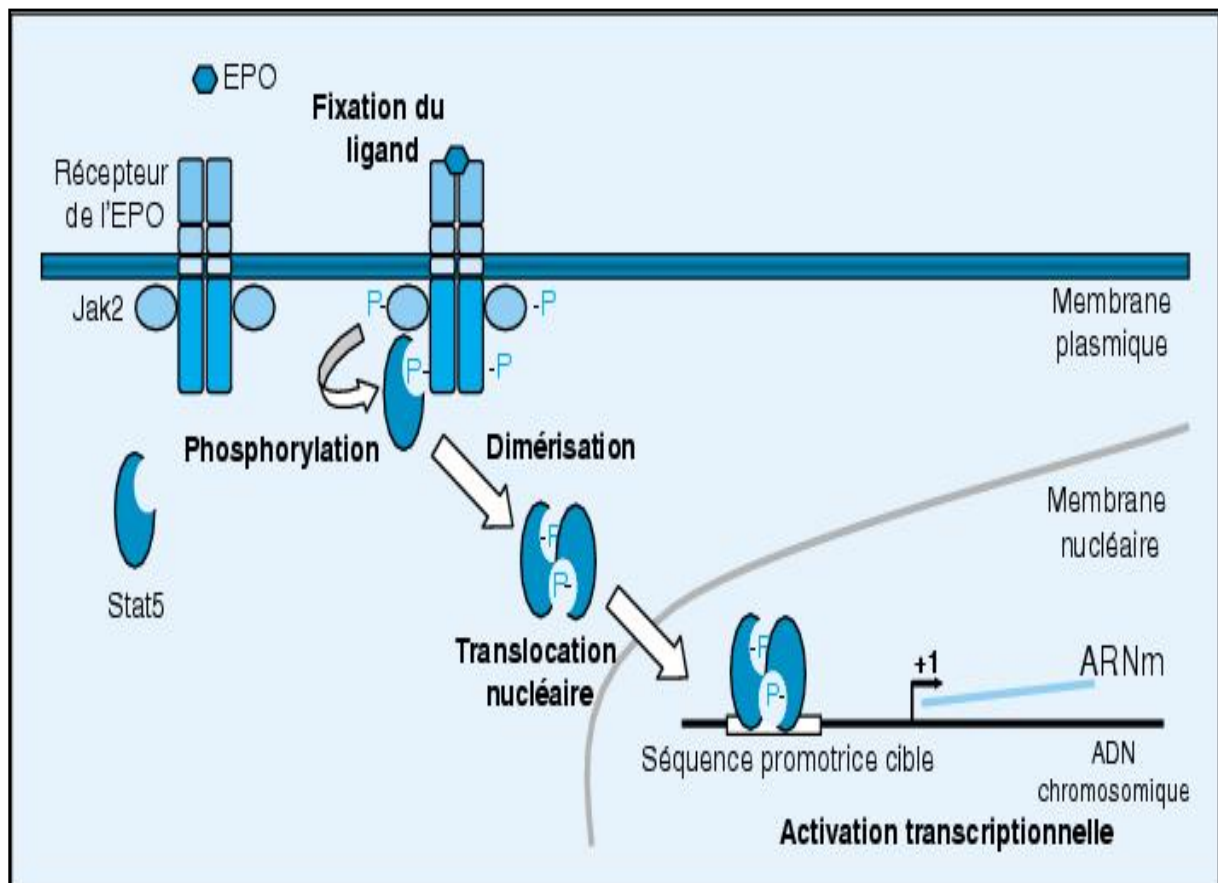


Figure 11 : Voie de signalisation JAK2-STAT5 (D'après James et al., 2005).

L'objectif du travail

L'objectif de ce travail est d'explorer quelques paramètres biochimiques du stress oxydant chez une population atteinte de syndromes myéloprolifératifs dans la région de Tlemcen en effectuant :

- Le dosage de la vitamine C (Jacota et Dani 1982).
- Le dosage du malondialdéhyde plasmatique (Nourooz-Zadeh et al 1996).
- Le dosage des hydroperoxydes plasmatiques (Nourooz-Zadeh et al 1996).
- La mesure de l'activité de la catalase (AEBI, 1974).
- Le dosage des protéines carbonylées (Levine et al 1990).

Matériel et méthodes

1. Population étudiée

Notre travail est réalisé auprès d'une population atteinte de syndromes myéloprolifératifs dans une étude cas-témoins au niveau du CHU de Tlemcen (service d'hématologie clinique) et du centre médical de Bab Ouahren.

Durant la période d'étude [Avril-Juin] 2012, 30 patients atteints de syndromes myéloprolifératifs et 20 témoins ont été inclus dans cette étude.

L'âge, le poids et la taille de chaque patient et témoin, ainsi que quelques paramètres hématologiques recueillis à partir de dossiers médicaux sont notés dans un questionnaire établi.

Toutes les personnes (cas et témoins) ayant participé à cette étude ont été informées du but de l'étude et ont donné leur consentement.

2. Les prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été réalisés le matin à jeun au niveau de la veine du pli du coude. Le sang a été collecté dans des tubes EDTA identifiés préalablement. Les plasma ont été récupérés suite à une centrifugation à 3000 trs/min pendant 15 minutes et conservés dans l'EDTA disodique (Na_2 EDTA) à 0.1% et dans l'azide de sodium ($\text{Na}_2 \text{N}_3$) à 0.02% à raison de 10 μ l/ml puis congelés à -18°C.

3. Paramètres et techniques de dosage

3.1. Dosage du malondialdéhyde plasmatique (Nourooz-Zadeh et al.,1996)

Principe

La malondialdéhyde (MDA) est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de dosage.

Après traitement acide et à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en deux molécules de TBA et une molécule MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à 532 nm. La concentration en MDA plasmatique, exprimée en $\mu\text{mol/l}$ et analysée sur le plasma, est calculée en utilisant une courbe étalon de MDA ou seulement le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

3.2. Dosage des hydroperoxydes plasmatiques (Nourooz-Zadeh et al., 1996)

Principe

Les hydroperoxydes, marqueurs de l'oxydation des lipides, sont mesurés par l'oxydation d'ions ferriques utilisant le xylénol orange [(O-cresolsulfonphtalein-3',3''-bis(methyliminodiaceticacid sodium))]. La méthode de Nourooz-Zadeh et al est basée sur une peroxydation rapide transformant le Fe^{2+} en Fe^{3+} en milieu acide. Les ions Fe^{3+} en présence du xylénol orange, forment un complexe coloré Fe^{3+} -xylénol orange. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration plasmatique en hydroperoxydes (exprimée en $\mu\text{mol/l}$) à une longueur d'onde de 560 nm.

3.3. Dosage des protéines carbonylées (Levine et al., 1990)

Principe

Les protéines carbonylées sont des marqueurs de l'oxydation protéique. Elles sont mesurées par la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) selon la méthode de Levine et al., 1990. La réaction aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazone colorée. Les concentrations plasmatiques en protéines carbonylées (exprimées en $\mu\text{mol/l}$) sont déterminées par lecture à une longueur d'onde de 350 nm selon un coefficient d'extinction de $21.5 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$.

3.4. Evaluation de l'activité de la Catalase (AEBI, 1974)

Principe

Cette activité enzymatique est mesurée par l'analyse spectrophotométrique du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène. Le milieu réactionnel contient le plasma dilué à 1/5, la solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le réactif de coloration Titanium oxyde sulfate ($TiOSO_4$). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de H_2O_2 restant en fonction du temps. La lecture se fait à 420 nm. Les concentrations en H_2O_2 restant sont déterminés à partir d'une gamme étalon de H_2O_2 . L'activité de la catalase est exprimée en UI / ml.

3.5. Dosage de la vitamine C plasmatique (Jacota et Dani, 1982)




Principe

La vitamine C plasmatique est dosée selon une méthode en utilisant le réactif de Folin et une gamme étalon d'acide ascorbique.

Après précipitation des protéines plasmatiques et centrifugation, la vitamine C qui est présente dans le surnageant, réduit le réactif de Folin en donnant une coloration bleue. L'intensité de cette dernière est proportionnelle à la concentration en vitamine C à une longueur d'onde de 760 nm.

Remarques

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de moyenne \pm erreur standard. Ainsi, pour comparer les résultats, nous avons appliqué le test de Student « t ». La valeur « t » donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student. La différence entre deux moyennes est :

-  Non significative si $p > 0.05$
-  Peu significative si $p < 0.05$ (*)
-  Significative si $p < 0.01$ (**)

Résultats et discussion

1. Caractéristiques de la population étudiée :

Dans notre série, l'échantillon comporte 30 patients et 20 témoins dont l'âge varie de 30 à 80 ans, avec une moyenne de 59.83 ± 10.78 ans pour les cas et de 41.23 ± 8.63 pour les témoins (tableau 3).

Caractéristiques	Cas	Témoins
Effectifs (n)	30	20
Age	59.83 ± 10.78	41.23 ± 8.63
IMC (kg/m^2)	22.54 ± 3.93	25.64 ± 3.28

Tableau 3 : Caractéristiques de la population étudiée.

2. Etude biochimique

Notre étude est basée sur la détermination de cinq paramètres biochimiques plasmatiques du statut oxydant/antioxydant, dont trois sont des paramètres oxydants (MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées) et deux sont des antioxydants (Vitamine C et l'enzyme catalase).

2.1. Teneurs en Malondialdéhyde (MDA) plasmatique chez la population étudiée

Les teneurs en MDA plasmatique chez la population étudiée sont représentés dans la figure 12.

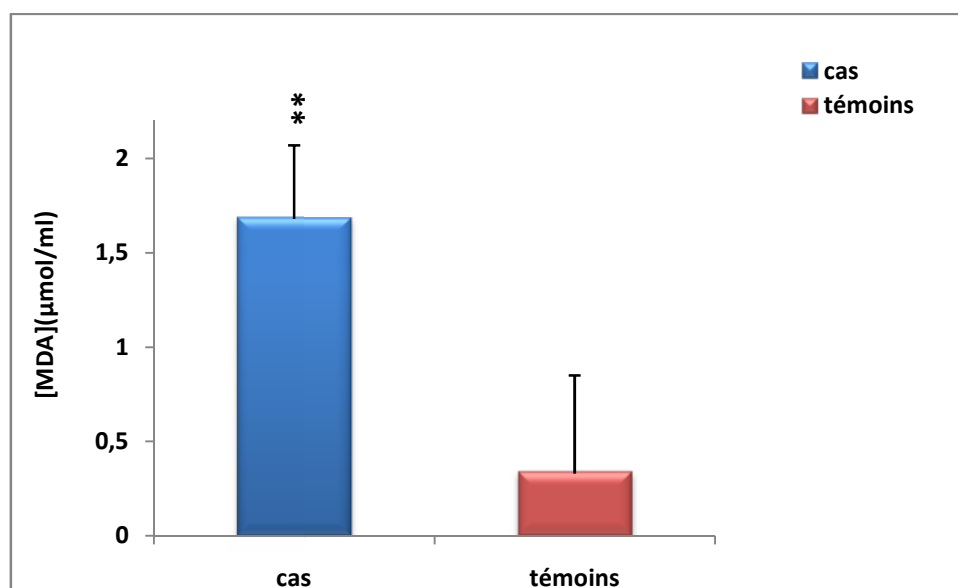


Figure 12 : Teneurs en malondialdéhyde (MDA) chez la population étudiée.

Les concentrations en MDA plasmatique exprimées en $\mu\text{mol/ml}$ sont augmentées d'une manière significative chez les cas comparés aux témoins avec une moyenne de $1.68 \pm 0,39$ versus $0.33 \pm 0,52$.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les cas est effectuée par le test « t » de Student.

$P < 0,01$ ** : significatif.

2.2. Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques chez la population étudiée

Les teneurs en hydroperoxydes plasmatiques chez la population étudiée sont représentés dans la figure 13.

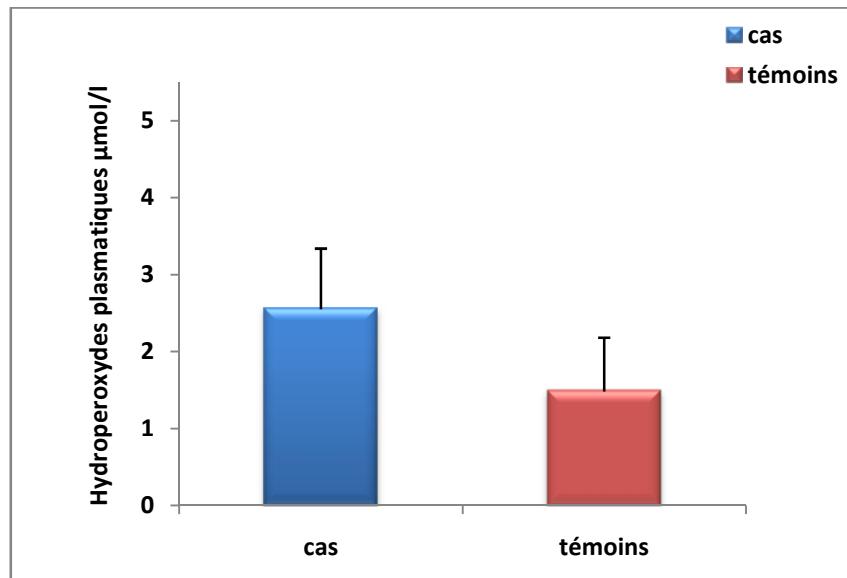


Figure 13: Teneurs en hydroperoxydes plasmatiques chez la population étudiée.

Une augmentation non significative des concentrations en hydroperoxydes plasmatiques exprimées en $\mu\text{mol/l}$ est notée chez les cas comparés aux témoins avec 2.55 ± 0.79 contre 1.48 ± 0.70 .

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les cas est effectuée par le test « t » de Student.

$P > 0,05$: non significatif.

2.3. Teneurs en protéines carbonylées chez la population étudiée

Les teneurs en protéines carbonylées chez la population étudiée sont représentés dans la figure 14.

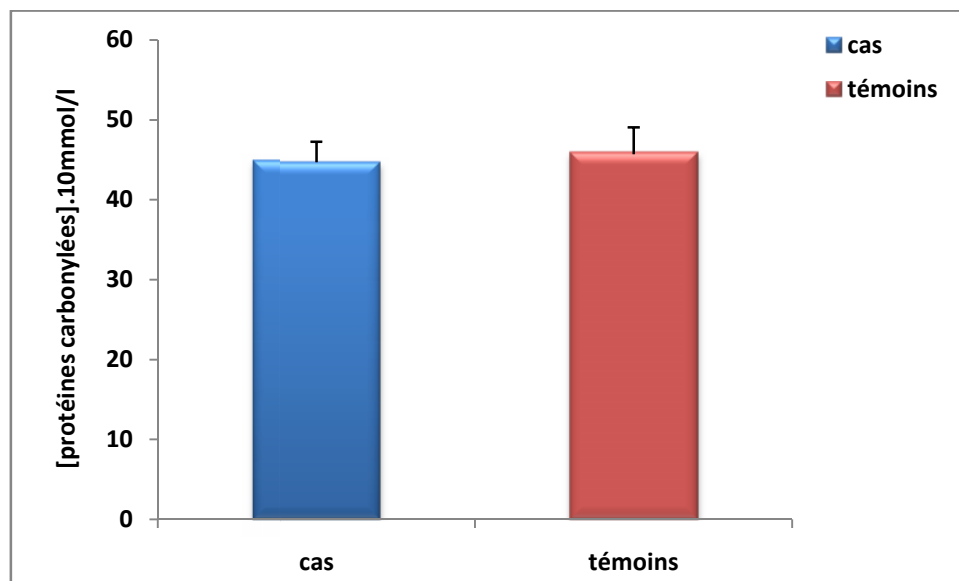


Figure 14 : Teneurs en protéines carbonylées chez la population étudiée.

Les concentrations en protéines carbonylées exprimées en $\mu\text{mol/ml}$ sont non significativement diminuées chez les cas comparés aux témoins avec 44.73 ± 2.55 contre 45.73 ± 3.44 .

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les cas est effectuée par le test « t » de Student.

$P > 0,05$: non significatif.

2.4. Evaluation de l'activité de la catalase (CAT) chez la population étudiée

L'évaluation de l'activité de la catalase chez la population étudiée est représentée dans la figure 15.

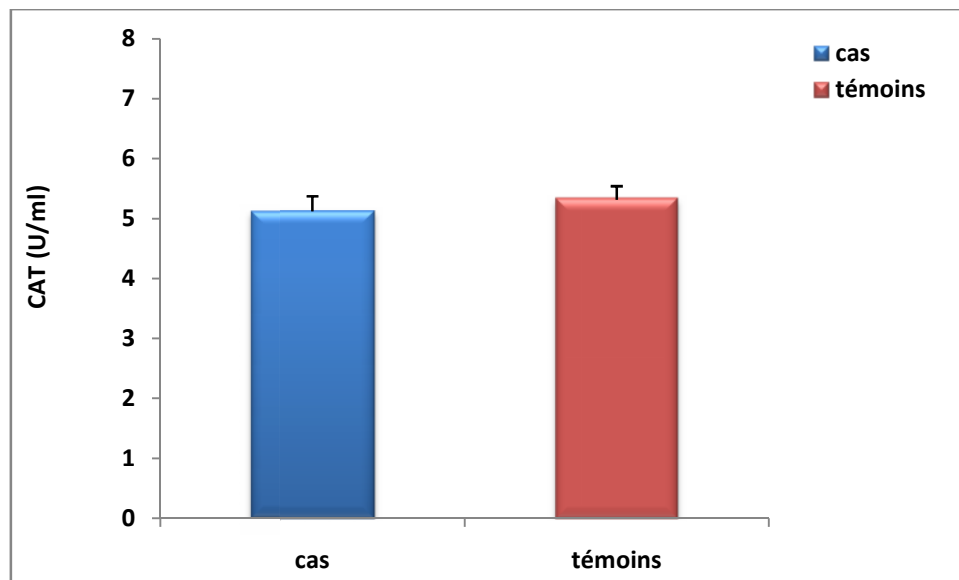


Figure 15 : Activité de la catalase chez la population étudiée.

L'activité de cette enzyme exprimée en U/ml est diminuée chez les cas comparés aux témoins avec 5.12 ± 0.25 contre 5.31 ± 0.23 mais cette différence reste non significative.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les cas est effectuée par le test « t » de Student.

$P > 0,05$: non significatif.

2.5. Teneurs en vitamine C chez la population étudiée

Les teneurs en vitamine C chez la population étudiée sont représentés dans la figure16.

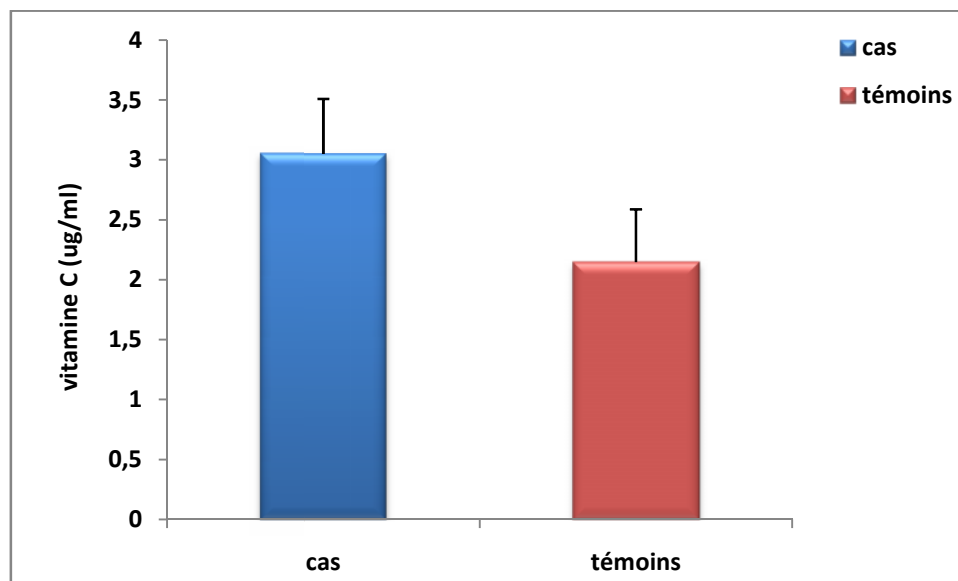


Figure 16 : Teneurs en vitamine C chez la population étudiée.

Les concentrations en vitamine C exprimées en $\mu\text{g/ml}$ sont non significativement augmentées chez les cas comparés aux témoins avec 3.05 ± 0.46 contre 2.15 ± 0.44 .

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les cas est effectuée par le test « t » de Student.

$P > 0,05$: non significatif.

Conclusion

Malgré les progrès effectués ces dernières années, les leucémies myéloïdes chroniques continuent à être difficiles à traiter. Les stratégies thérapeutiques actuelles atteignent leurs limites d'efficacité. De nouvelles stratégies thérapeutiques moléculaires ciblant les cellules malignes sont recommandées. L'élévation de stress oxydatif dans les LCM représente une nouvelle cible thérapeutique.

Nos résultats concernant le statut oxydant/antioxydant montre l'existence des altérations des molécules lipidiques par augmentation du taux des marqueurs de peroxydation lipidique (MDA) chez les patients atteints de syndromes myéloprolifératifs comparés aux sujets sains tandis qu'il n'ya aucune différence entre les deux populations étudiées concernant les hydroperoxydes plasmatiques, les protéines carbonylées, la vitamine C et l'activité de la catalase.

Malgré les quelques concordances et discordances observées dans nos résultats et les résultats reportés par la bibliographie, notre travail confirme la présence d'un stress oxydant chez les personnes atteintes de SMP.

Dans l'avenir, nous souhaiterons continuer notre recherche sur ce thème par une étude plus complète par la mesure du taux de ROS et des autres paramètres de l'altération lipidique (lipoprotéines oxydées), et de l'oxydation de l'ADN (la 8-hydroxydésoxyguanosine), le pouvoir antioxydant total (ORAC), la mesure de l'activité des autres enzymes antioxydantes : SOD, GPx, GS.....

Mais le problème de disposer de marqueurs spécifiques (la détection des ERO in vivo est difficile à cause de leur durée de vie, qui est très courte), sensibles, fiables et d'exécution analytique aisée, ainsi que le manque de standardisation des méthodes complique le dosage de ces paramètres.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

AEBI H., 1974. Catalase. In methods of enzymatic analysis. 2nd E.G. Bergmeyer. Verlag Chemie GmbH, Weinheim. 2: 673-684.

Ahmad R., Tripathi A.K., Tripathi P., Singh S., Singh R., Singh R.K., 2008. Malondialdehyde and protein carbonyls as biomarkers for oxidative stress and disease progression in patients with chronic myeloid leukemia .In vivo; 22 (4) : 525-528.

Ahmad R., Tripathi A.K., Tripathi P., Singh R., Singh S., Singh R.K., 2010. Studies on lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidant status as indices of oxidative stress in patients with chronic myeloid leukemia. Singapore Med J; 51(2) : 110-115.

Akada H., Yan D., Zou H., Fiering S., Hutchison R .E., Golam Mohi M., 2010. Conditional expression of heterozygous or homozygous JAK2V617F from its endogenous promoter induces a polycythemia vera-like disease. Blood; 115: 3589-3597.

Alyos Evina., 2008. H:l-inserm-etablit-le-lien-entre-environnement-et-cancers,4045. HTML

Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen M., 2003. Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases. Proceeding of the national academy of sciences of the United State of America; 79:15-79.

Balendiran G. K., Dabur R., Fraser D., 2004 .The role of glutathione in cancer. Cell Biochemistry and Function, 22, 343-352.

Barosi G., Bacigalupo A., 2006. Allogenic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. Curr Opin Hematol; 13: 74-78.

Bartosz G., 2003. Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology. 9: 5-21.

Baxter E.J., Scott L.M., Cambell P.J., East C., Fourouclas N., Swanton S., 2005. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet; 365 : 1054-61.

Bedard K., Krause K.H., 2007. The NOX family of ROS generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiol Rev; 87(1): 245-313.

Belkhiri N., 2006. Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes p 7-15. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse.

Bergendi L., Benes L., Duracková Z., Ferencik M., 1999. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. Life Sci 65:1865-1874.

Berger M.M., 2006. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition Clinique et Métabolisme. 20: 48-53.

Références bibliographiques

- Bonnefont-Rousselot D., 1999. Oxydation des lipoprotéines et mécanisme d'action des antioxydants : apport de la radiolyse gamma. *Ann Biol Clin*, 57: 409-416.
- Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Delattre J., 2003. Radicaux libres et anti-oxydants. IN : *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Delattre J., Durand G., Jardillier J.C. Eds: Médecine-sciences. Flammarion (Paris), Pp: 59-81.
- Cash T., Pan Y., Simon M.C., 2007. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free radical biology & medicine*. 43: 1219-1225.
- Chomel J.C., Sorel N., Mayeur-Rousse C., Turhan A.G., 2009. Les syndromes myéloprolifératifs. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* ; 24, 69-85.
- Clerkin J.S., Naughton R., Quiney C., Cotter T.G., 2008. Mechanisms of ROS-modulated cell survival during carcinogenesis. *Cancer Lett*; 266 (1): 30-36.
- Delattre J.B., Beaudoux J-L., Bonnefont-Rousselot D., 2007. Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques*. Lavoisier : 1-23.
- Densiov E.T., Afanas'ev I.B., 2005. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Ed: Taylor & Francis Group (U.S.A), p: 703-861.
- Dröge W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* **82**:47-95.
- Erkeland S.J., Palande K.K., Valkhof M., Gits J., Danen-van Oorschot A., Touw I.P., 2009. The gene encoding thioredoxin-interacting protein (TXNIP) is a frequent virus integration site in virus –induced mouse leukemia and is overexpressed in a subset of AML patients .*Leuk Res*; 33 (10) : 1367-1371.
- Favier A., 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique* : 108-115.
- Feng Z., Hu W., Amin S., Tang M. S., 2003. Mutational spectrum and genotoxicity of the major lipid peroxidation product, trans-4-hydroxy-2-nonenal, induced DNA adducts in nucleotide excision repair-proficient and -deficient human cells. *Biochemistry* **42**, 7848-54.
- Halliwell B., Gutteridge J.M., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition. Oxford University Press.
- Harrison R., 2002. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med* ; **33** (6) : 774-797.
- Haton C., 2005. Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale, p 43. Thèse de doctorat de l'université de Paris.

Références bibliographiques

Hazen S.L., Zhang R., Shen Z., Wu W., Podrez E.A., MacPherson J.C., Schmitt D., Mitra S.M., Mukhopadhyay C., Chen Y., Cohen P.A., Hoff H.F., Abu-Soud H.M., 1999. Formulation of nitric oxide-derived oxidants by myeloperoxidase in monocytes. *Circ Res*, 85: 950-958.

Hole P.S., Richard L.D., Alex T., 2011. Do reactive oxygen species play a role in myeloid leukemias? *Blood*.

Hool L.C., 2006. Formulation of nitric oxide-derived oxidants by myeloperoxidase in monocytes. *Circ Res*, 85: 950-958.

Ito K., Hirao A., Arai F., et al, 2006. Reactive oxygen species act through P38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells. *Nat Med*.12 (4) : 446-451.

Jacota SK., Dani HM.,1982. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*. 127: 178-182.

James C., Ugo V., Le Couedic J.P., Staerk J., Delhommeau F., Lacout C., Garcon L., Raslova H., Berger R., Bennaceur-Griscelli A., Villeval J.L., Constantinescu S.N., Casadevall N., Vainchenker W., 2005. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia Vera. *Nature*, 434, 1144-1148.

Juntilla M.M., Patil V.D., Calamito M., Joshi R.P., Birnbaum M.J, Koretzky G.A., 2010. AKT1 and AKT2 maintain hematopoietic stem cell function by regulating reactive oxygen species. *Blood* : 115(20) : 4030-4038.

Kinder M., Wei C., Shelat SG., 2010. Hematopoietic stem cell function requires 12/15-lipoxygenase-dependent fatty acid metabolism. *Blood*;115(24):5012-5022.

Kirkman H.N., Gaetani G.F., 2007. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci*; 32(1): 44-50.

Koehler-Ramonatxo C., 2006. Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177.

Korsloot A., Van Straalen N. M., 2004. Environmental stress and cellular response in arthropods, CRC Press, p197.

Kröncke K.D., Suschek C.V., Kolb-Bachofen V., 2000. Implications of inducible nitric oxidase synthase expression and enzyme activity. *Antioxid Redox Signal* 2:585-605.

Lambeth J.D., 2004. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat Rev Immunol* ; 4 (3):181-189.

Références bibliographiques

- Lane N., 2003. Oxygen, the molecule that made the world. New York: Oxford University Press: 366 p.
- Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M., 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. **30**: 1076-1081.
- Levine R.L., Wadleigh M., Cools J., 2005. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocytemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell; 7: 387-97.
- Levine RL., Garland D., Olivier CN., Amici A. et al 1990. Détermination of carbonyl content in oxydatively modified proteins. Methods Enzymol. 186: 464-478.
- Li J., Du W., Maynard S., Andreassen P.R., Pang Q., 2010. Oxidative stress-specific interaction between FANCD2 and FOXO3a. Blood; 115 (8): 1545-1548.
- Messa E., Carturan S., Maffe C., 2010. Deferasirox is a powerful NF-kappaB inhibitor in myelodysplastic cells and in leukemia cell lines acting independently from cell iron deprivation by chelation and reactive oxygen species scavenging. Hematologica ; 95(8) :1308-1316.
- Murphy M.P., 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species .Biochem J; 417(1):1-13.
- Naughten R., Quiney C., Turner S.D., Cotter T.G., 2009. Bcr-Abl-mediated redox regulation of the PI3K/AKT pathway. Leukemia; 23 (8): 1432-1440.
- Negre-Salvayre A., Salvayre R., 2005. Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire .OCL.12(5) : 433-438.
- Nemmich S., 2009. Stress oxydant et mécanismes de défense induits par l'exposition au plomb et au cadmium. Etude chez le rat Wistar et sur des modèles cellulaires. Thèse de doctorat de l'université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, Algérie.
- Nourouz-Zedeh J., Ling KLE., Wolff SP., 1996. Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroxiperoxydes in plasma. Biochem J.313: 781-786
- Novotna B., Bagryantseva Y., Siskova M., Neuwirtova R., 2009. Oxidative DNA damage in bone marrow cells of patients with low –risk myelodysplastic syndrome. Leuk Res ; 33 (2) : 340-43.
- Nowell P.C., 2007. Discovery of the Philadelphia chromosome: a personal perspective. J Clin Invest, 117, 2033-2035.
- Papatheodorou L., Weiss N., 2007. Vascular oxidant stress and inflammation in hyperhomocysteinemia. Antioxid Redox Signal;9:1941-1958.

Références bibliographiques

Paula G., Costabe D., Poli-De-Ce Figueiredo., Antonello Ic. , 2008. L'acide urique peut –il fournir des informations sur l'état de la mère et le pronostic fœtal chez les femmes enceintes souffrant d'hypertension ? *Grossesse Hyertens.* **27**: 413-420.

Pelicano H., Carney D., Huang P., 2004. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resistance Updates*, **7**, 97-110.

Piccoli C., D'Aprile A., Ripoli M., et al., 2007. Bone-marrow derived hematopoietic stem/progenitor cells express multiple isoforms of NADPH oxidase and produce constitutively reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun* ; **353**(4) : 965-972.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O., 2002. Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **16**: 233-239.

Reddy M.M., Fernandes M.S., Salgia R., Levine R.L., Griffin J.D., Sattler M., 2011. NADPH oxidases regulate cell growth and migration in myeloid cells transformed by oncogenic tyrosine kinases. *Leukemia*; **25**(2):281-289.

Registre du cancer de Tlemcen, 2007. Service d'épidémiologie, centre hospitalo-universitaire Tlemcen, Algérie.

Rezgoune M.L., 2006. Contribution à l'étude cytogénétique des leucémies. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magistère en Génétique moléculaire. Université de Mentouri Constantine.

Rowley J.D., 1973. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*, **243**, 290-293.

Sachdev S., Davies K.J.A., 2008. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology & Medicine*. **44**: 215–223.

Sailaja K., Surekha D., Rao D.N., Rao D.R., Vishnupriya S., 2010. Association of the GSTP1 gene (Ile 105Val) polymorphism with chronic myeloid leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev*; **11**(2):110-115.

Sallmyr A., Fan J., Datta K., et al, 2008. Internal tandem duplication of FLT3 (FLT3/ITD) induces increased ROS production, DNA damage, and misrepair : implications for poor prognosis in AML. *Blood*. **111** (6) : 3173-3182.

Shi H., Sui Y., Wang X., Lilo Y., Ji L., 2005. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. **140**: 115-121.

Sinenko S.A., Hung T., Moroz T., et al., 2010. Genetic manipulation of AML1-ETO-induced expansion of hematopoietic precursors in a *Drosophila* model. *Blood*; **116** (22) : 4612-4620.

Références bibliographiques

- Singh R.K., Tripathi A.K., Tripathi P., Singh S., Singh R., Ahmad R., 2009. Studies on biomarkers for oxidative stress in patients with chronic myeloid leukemia .*Hematol Oncol Stem Cell Ther*; 2 (1) : 285-288.
- Sorg O., 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*. **327**: 649-662.
- Stevnsner T., Thorslund T., de Souza-Pinto N.C., Bohr V.A., 2002. Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol*.**37**: 1189-1196.
- Sun C., Sellers K.W., Sumners C., Raizada M.K., 2005. NAD(P)H oxidase inhibition attenuates neuronal chronotropic actions of angiotensin II. *Circ Res*. 96: 659-66.
- Tefferi A., Vardiman J.W., 2008. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*; 22: 14-22.
- Tefferi A., Gilliland D.G., 2005. JAK2 in myeloproliferative disorders is not just another kinase. *Cell Cycle*. 4 :1053-1056.
- Tesio M., Golan K., Corso S., 2011. Enhanced c-Met activity promotes G-CSF-induced mobilization of hematopoietic progenitor cells via ROS signaling. *Blood*; 117(2): 419-428.
- Thiele J., Kvasnicka H.M., Tefferi a., Barosi G., Orazi A., Vardiman J.W., ; 2008. Primary myelofibrosis. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., eds. *World Health Organisation Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press. P: 44-47.
- Tothova Z., Kollipara R., Huntly B., 2007. FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress .*Cell*; 128 (2): 325-339.
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 160: 1-40.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* **39**: 44-84.
- Van Loon B., Hubscher U., 2009. An 8-oxo-guanine repair pathway coordinated by MUTYH glycosylase and DNA polymerase lambda. *Proc Natl Acad Sci USA*; 106 (43) : 18201-18206.
- Wardman P., 2007. Fluorescent and luminescent probes for measurement of oxidative and nitrosative species in cells and tissues: progress, pitfalls, and prospects. *Free Radic Biol Med* 43 (7):995-1022.

Références bibliographiques

Watanabe R., Nakamura H., Masutani H., Yodoi J., 2010. Anti-oxidative, anti-cancer and anti-inflammatory actions by thioredoxin 1 and thioredoxin-binding protein-2. *Pharmacol Ther* ;127(3) :261-270.

Zelko I.N., Marian T.J., Folz R.J., 2002. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology & medicine*. 33: 337-349.

Zhang L., Nguyen M.V., Lardy B., 2011. New insight into the Nox 4 subcellular localization in HEK293 cells: first monoclonal antibodies against Nox4. *Biochimie*; 93 (3); 457-468.

OMS, 2011: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/index.html>

Annexes

Dosage de la vitamine C plasmatique (Jacota et Dani, 1982)

+ Réactifs nécessaires

- Eau distillée
- Acide ascorbique
- Acide trichloracétique (TCA) à 10%
- Solution de Folin diluée au 1/10

+ Solutions à préparer

- *Solution de TCA à 10%*

Préparer 10 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée dans un bécher.

- *Solution de Folin diluée au 1 /10*

Mettre dans un bécher 1 ml de Folin et ajouter 9 ml d'eau distillée.

- *Solution de la gamme étalon*

- Solution mère d'acide ascorbique à 0,1 g/l

Mettre 0,1 g d'acide ascorbique dans 1 L d'eau distillée

- Gamme étalon

- Solution S1 : 10 µg/ml

Dans un bécher mettre 1 ml de la solution mère d'acide ascorbique (0,1 g/l) et ajouter 9 ml d'eau distillée.

- Solution S2 : 5 µg/ml

Mettre 2 ml de la solution S1 et ajouter 2 ml d'eau distillée

- Solution S3 : 2.5 µg/ml

Mettre 1 ml de la solution S2 et ajouter 1 ml d'eau distillée.

Préparation de la gamme

- Dans trois tubes à essai, mettre 0.75 ml de chaque solution de la gamme (S1, S2 et S3)
- Ajouter 0.75 ml d'eau distillée
- Ajouter 150 µl de Folin
- Vortexer
- Incuber dans l'étuve à 37°C pendant 15 min
- Lire la DO à 769 nm et tracer la courbe.

Mode opératoire

- Dans des tubes à essai, mettre 1 ml de plasma correspondant à chaque échantillon
- Ajouter dans chaque tube 0.5 ml de la solution TCA à 10%
- Vortexer
- Afin d'avoir une déprotéinisation complète, placer les tubes dans un bain à glace pendant 30 min
- Centrifuger à 3000 trs /min pendant 10 min
- Récupérer 0.75 ml de surnageant dans un tube
- Ajouter 0.75 ml d'eau distillée
- Ajouter 150 µl de Folin
- Incuber ensuite dans l'étuve à 37° pendant 15 min
- Lire la DO au spectrophotomètre à 769 nm contre un blanc qui contient 150 µl du Folin et 750 µl d'eau distillée
- Tracer la courbe de la gamme étalon de la vitamine C plasmatique
- Par projection des DO obtenues sur la courbe de la gamme étalon nous déterminons la concentration de la vitamine C plasmatique pour chaque échantillon exprimée en µg/ml.

Dosage du malondialdéhyde plasmatique (Nourooz-Zadeh et al., 1996)

✚ Réactifs nécessaires

- Acide thiobarbiturique (TBA) à 0.67%
- Acide trichloracétique (TCA) à 20%
- Eau distillée

✚ Solutions à préparer

- **Solution TBA à 0.67%**

Peser 0.67 g de TBA et le mettre dans 100 ml d'eau distillée.

- **Solution de TCA à 20%**

Peser 20 g de TCA et le mettre dans 100 ml d'eau distillée.

✚ Mode opératoire

- Introduire 100 µl de plasma dans un tube à essai
- Ajouter 1 ml de TBA à 0.67%
- Ajouter 0.5 ml de TCA à 20%
- Vortexer
- Incuber dans l'étuve à 100°C pendant 20 min
- Laisser refroidir
- Centrifuger pendant 10 min à 6000 trs/min
- Récupérer le surnageant qui contient le MDA dans un tube
- Lire la DO au spectrophotomètre à 532 nm contre un blanc qui contient 1 ml de TBA à 0.67% et 0.5ml de TCA 0 20%
- Calculer la concentration du MDA plasmatique exprimée en µmol/l selon la formule
 $[MDA] = DO /$

Tel que $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

Dosage des hydroperoxydes plasmatiques (Nourooz-Zadeh et al., 1996)

✚ Réactifs nécessaires

- Réactif de Fox

✚ Préparation

Mettre 9.8 g de sulfate d'ammonium ferrique dans 100 ml de H₂SO₄

Ajouter 90 ml de méthanol

Ajouter 79.2 mg de BHT.

✚ Mode opératoire

- Préparer deux tubes : blanc et test.
- Introduire dans les deux tubes 90µl de plasma
- Ajouter 10µl de méthanol dans le test et 10µl de TPP dans le blanc
- Laisser à température ambiante pendant 30 min
- Ajouter 900 µl de réactif de Fox et laisser à température ambiante pendant 30 min
- Centrifuger à 6000 trs/min pendant 10 min
- Récupérer le surnageant
- Lire la Do à 560 nm
- Calculer la concentration des hydroperoxydes plasmatiques tel que :

Do test –Do blanc

Dosage des protéines carbonylées (Levine et al., 1990)

+ Réactifs nécessaires

- Solution TCA à 100 g/l, 500 g/l
- Solution HCl à 2 mol/l
- Solution de DNPH à 2g/l
- Solution de NaOH 2M
- Solution de Guanidine 6M

+ Préparation des solutions

- *Solution TCA à 100 g/l*

Dissoudre 5 g de TCA dans 25 ml d'eau distillée

- *Solution TCA à 500 g/l*

Dissoudre 5 g de TCA dans 10 ml d'eau distillée

- *Solution HCl à 2 mol/l*

Prélever 16.5 ml d'HCl 37.5% dans une fiole et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

- *Solution de DNPH*

Dissoudre 0.2 g de DNPH dans 100 ml d'HCl 2M.

- *Solution de NaOH 2M*

Dissoudre 8 g de NaOH dans 100 ml d'eau distillée.

- *Solution de Guanidine 6M*

Dissoudre 36 g de guanidine dans 100 ml de NaOH 2M.

+ Mode opératoire

- Préparer 2 tubes : tube blanc et tube échantillon
- Introduire dans chacun 50 µl de plasma

- Ajouter dans le blanc 1 ml d'HCl
- Ajouter dans l'échantillon 1 ml de DNPH
- Vortexer
- Incuber les 2 tubes à température ambiante pendant 1h
- Ajouter 200 µl de TCA à 500g/l
- Centrifuger à 3000trs/min pendant 10 min
- Jeter le surnageant
- Laver le culot 2 fois avec 1 ml du mélange éthanol/éthyle acétate et 2 fois avec 1 ml de TCA (100g/l) et pour chaque lavage centrifuger à 3000 trs/min pendant 10 min
- Solubiliser le culot dans 2 ml de guanidine (6M)
- Lire la Do à 350- 360- 375 nm pour chaque tube (blanc et échantillon)
- Calculer la concentration des protéines carbonylées tel que :

$$[\text{Protéines carbonylées}] = \text{DoE} - \text{DoB} /$$

$$\text{Tel que } = 21,5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Dosage de la Catalase (AEBI, 1974)

🚦 Réactifs nécessaires

- Solution tampon Phosphate à 50 mM , pH=7
- Solution H₂SO₄ 2N.
- Solution H₂O₂ à 30 mmol
- Solution TiSO₄

🚦 Préparation

- ***Solution tampon Phosphate à 50 mM, pH=7***
- *Solution A : KH₂PO₄*

Mettre 3.4 g de KH₂PO₄ dans 500 ml d'eau distillée dans une fiole.

- *Solution B : Na₂HPO₄*

Mettre 4.45 g de Na₂HPO₄ dans 500 ml d'eau distillée.

Mélanger 1 volume de A et 1.5 v de B en vérifiant le pH.

- ***Solution de $TiSo_4$***

Mélanger 1.7g de $TiSo_4$ à 500 ml de H_2So_4 2N.

- ***Solution H_2O_2 à 30 mmol***

Introduire 0.34 ml d' H_2O_2 à 30% dans 100ml d'eau physiologique ou bien tampon phosphate.

- ***Solution H_2So_4 2N***

Introduire 51.5ml de H_2So_4 à 95% à 500 ml d'eau distillée.

 **Mode opératoire**

- Dans un tube à essai introduire 500 μ l de plasma
- Ajouter 500 μ l de H_2O_2
- Ajouter 500 μ l de solution tampon phosphate TP
- Vortexer
- Laisser à température ambiante pendant 5 min
- Ajouter 500 μ l de Titanium
- Vortexer
- Lire la Do à 420 nm contre le blanc
- Tracer la courbe Do= F ($[H_2O_2]$)
- Calculer l'activité de la catalase selon la formule :

$$A = A \times 1.5 \times 4 \times 5 (50) / 5 \text{ min (U/ml)}.$$

Résumé

Les syndromes myéloprolifératifs constituent des pathologies émergentes en Algérie. Plusieurs études ont montré l'existence d'un état de stress oxydatif chez les personnes atteintes de SMP.

L'objectif de ce travail est d'étudier la relation entre le stress oxydant et les SMP par la détermination de quelques marqueurs du statut oxydant/antioxydant chez une population atteinte de SMP dans la Wilaya de Tlemcen.

L'étude porte sur 20 témoins sains et 30 malades âgés entre 30 et 80 ans sélectionnés en milieu hospitalier. Un prélèvement sanguin est effectué afin de doser les paramètres du statut oxydant (MDA, hydroperoxydes et protéines carbonylées plasmatiques) et antioxydant (vitamine C et activité de la catalase).

D'importantes altérations des molécules lipidiques sont révélées par une augmentation significative du taux du (MDA) plasmatique chez les patients atteints de syndromes myéloprolifératifs comparés aux sujets sains ($1.68 \pm 0,39$ versus $0.33 \pm 0,52$). Par contre, aucune différence significative n'est observée en teneurs plasmatiques des hydroperoxydes et protéines carbonylées chez les deux populations. Concernant, les défenses antioxydantes, les teneurs en vitamine C ne montrent pas de différence significative entre les cas et les témoins. De même pour l'activité de la catalase (5.12 ± 0.25 versus 5.31 ± 0.23).

Mots clés : Syndromes myéloprolifératifs, stress oxydatif, marqueurs oxydants/antioxydants.