

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Centre universitaire de Jijel

المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة - جيجل

Institut des sciences de la nature

017/2002

معهد العلوم الطبيعية

MEMOIRE

En vue de L'obtention du diplôme
Des études supérieures en biologie.
Option : Biochimie

Thème

Électrophorèse des protéines sériques
chez les rats traités par
l'extrait brut du tanin de chêne-liège

Réalisé Par :

- LEMZERI Samir
- BOUTELDJA Ali
- CHEKKAI Noureddine

Encadreur :

Mr BOUNAMOUS. A

Promotion 2002

N° d'ordre :

تشكرات

لحمد لله و نشكره على توفيقه لنا لإتمام دراستنا و إلهائنا
لهذه المذكرة

كما نقدم بخالص تشكراتنا للأساتذة المؤطر "بونا موس عز الدين"

و إلى كل الأساتذة الذين عملوا و سهروا على تكويننا منذ
الطور الابتدائي حتى تخرجنا.

سمير ، علي ، نور الدين

هدايا

إلى كل من آمن بالله ربا و بمحمد صلى الله
عليه وسلم رسولا

علي

أهدي هذا العمل المتواضع إلى أمي وأبي و اخوتي
و أخواتي و لكل عائلة "لمزري" كل باسمه و كل
أصدقائي وإلى ابنتا أختي رميسة و إلهام

سعيد

أولا إلى أعز و أغلى ما املك في هذا الوجود
الوالدين الكريمين الأم زينوبة و الأب فوضيل
إلى اخوتي : بكر و ابنه سهيل، عز الدين، الطيب و لطفي
إلى أخواتي : الغالية غنية و أولادها ، حكيمة و أولادها
سعاد و المدللة مريم
وإلى كل أفراد عائلتي
إلى جميع الأصدقاء
وخاصة خاصة: حسان و توأمه حسين، معمر، محمد،
فيصل وكل واحد باسمه.
كما لا أنسى كل زملائي في المشوار الدراسي
اهدي هذا العمل المتواضع

نور الدين

SOMMAIRE

I- Introduction	1
II- Analyse bibliographique	2
II-1-Rappel sur le sang	2
II-1-1-Les constituants du sang	2
II-1-1-1- Le plasma	2
II-1-1-2- Le sérum	2
II-1-2- Les protéines sériques	2
II-1-2-1- La fraction albumine	2
II-1-2-2- Les alpha -1- globuline	3
II-1-2-2-a- L'orsomucoïdes	3
II-1-2-2-b- L'alpha -1- antitrypsine	4
II-1-2-2-c- L'alpha -1- foetoprotéine	4
II-1-2-3- L'alpha -2- globuline	4
II-1-2-3-a- L'haptoglobuline	4
II-1-2-3-b- Le ceruleoplasmine	5
II-1-2-3-c- L'alpha -2- macroglobuline.....	5
II-1-2-4- La beta globuline	5
II-1-2-4-a- La transférine ou siderophile	6
II-1-2-5- Les gamma globuline	6
II-1-3- Biosynthèse des protéines	7
II-1-3-1- Mécanisme de la biosynthèse des protéines	7
II-1-4- La biosynthèse des protéines sériques	8
II-1-4-a- Le sérum albumine, les alpha et beta globuline	8
II-1-4-b- Les gammas globulines	8
II-1-5- Régulation de la biosynthèse protéique	9
II-1-5-1- La régulation génétique	9

II-1-5-2- Régulation hormonale	9
II-1-5-2-a- Cas des hormones agissant sans entrer dans la cellule	9
II-1-5-2-b- Cas des hormones entrant dans la cellule	10
II-2- Etude de la plante chêne-liège	11
II-2-1- Classification	11
II-2-2- Caractères botanique	11
II-2-3- La toxicité des tanins de chêne-liège	12
II-2-4- Propriétés thérapeutiques	12
III- Matériels et méthodes	
III-1- Préparation de l'extrait brut des tanins de chêne-liège	13
III-2- Entretien des traitements des animaux	13
III-3- Prélèvement du sang	13
III-4- Dosage des protéines sériques	13
III-4-1- Dosage des protéines totales	13
III-4-2- Dosage des protéines sériques par l'électrophorèse	14
III-4-2-1- Principe de l'électrophorèse	14
III-4-2-2- Facteurs qui régissent la migration	14
III-4-2-3- Electrophorèse des protéines sériques	16
III-4-3- Evaluation quantitative des protéines sérique par le densitomètre ..	17
IV- Résultats	
IV-1- Les résultats	20
IV-1-a- Variation quantitative des protéines totales	20
IV-1-b- Evolution du taux des protéines sériques en fonction du temps	20
IV-1-c- Le rapport albumine sérique/ globuline sérique	21
IV-2- Interprétation des résultats	21
IV-2-1- Détermination quantitative des protéines sériques	21
IV-2-2- Evolution des différentes fraction protéiques en fonction du temps ..	23
V- Discussion	25
VI- Conclusion	27
VII- Annexe & Bibliographie	



INTRODUCTION

I- Introduction :

Le XIX^{ème} siècle fut caractérisé par sa désaffection pour l'emploi des simples végétaux et son effort pour isoler leur principe actif, pour les obtenir même synthétiquement dans un certain nombre de cas, il s'ensuivit l'oubli parfois complet des plantes d'une efficacité certaine, la multiplication à l'infini de drogue chimique obtenues industriellement de spécialité toutes préparées qui réduisirent la pharmacie au rang d'épicerie supérieure.

Cependant, on découvrit les avitaminoses ou maladie de carence, qui obligèrent déjà revenir aux fruits et légumes frais, aux aliments végétaux porteurs des vitamines. On s'aperçut également que isolés, les principes des plantes regardés comme actif sont plante elle-même dans son intégralité, on du constater que la médecine par les plantes restée dans l'usage populaire. [BELOUED, 1998]

Notre travail consiste à étudier l'évolution des protéines sériques des rats traités par un extrait brut des tanins, chêne-liège utilisé dans le traitement des douleurs abdominales. Pour atteindre ces objectifs, nous avons utilisée les techniques de l'électrophorèse et le densitomètre.

ANALYSE

BIBLIOGRAPHIQUE

II- Analyse bibliographique :

II-1- Rappel sur le sang :

Le sang est considéré comme un tissu circulant dans un système clos. Il est constitué d'éléments figurés : le plasma et le sérum.

II -1-1- Les constituants du sang :

II -1-1-1- Le plasma :

Il sert comme moyen de transport pour les molécules importantes tels que le glucose, les lipides de base ainsi que le fer indispensable à la synthèse d'hémoglobine, et de nombreuses hormones (hormone thyroïdienne).

[JAQUES, 1995]

Le plasma est constitué d'une solution aqueuse, des protéines formant la majeure partie des hormones, et des substances minérales [JAQUES, 1995]

II -1-1-2- Le sérum :

Il constitue la partie liquide qui se sépare du sang après coagulation. Il est de même composition que le plasma mais sans fibrinogènes. [MIVEL et al, 1977]

II -1-2- Les protéines sériques :

II -1-2-1-la fraction albumine :

De poids moléculaire égal à 69000d, elle représente 55 à 60% de l'ensemble des protéines du plasma, et reste le constituant majeur des protéines circulants.

Elle est une molécule relativement stable, composée de 564 amino-acides répartis sur une seule chaîne peptidique et la fonction thiol libre de la cysteine lui confère une réactivité particulière.[VALDIGUIE ,1995]

Elle est la seule protéine dépourvue des glucides liés de façon covalente et sa demi-vie est de 20 jours. Elle est synthétisée par les cellules hépatiques (pro-albumine), et son catabolisme paraît se faire dans la plupart des tissus.

[VALDIGUIE ,1995]

Elle est le principal agent de la pression oncotique et joue un rôle très important dans le transport de la bilirubine, des acides gras, des médicaments et des hormones thyroïdiennes. [CLAUDE ET NICOLE, 1995]

Son dosage se fait facilement par des méthodes colorimétriques immunologiques, ou par électrophorèse. Les taux normaux sont de 45 g/l, soit de 0.6 à 0.7 m mol/l .Cependant les variations pathologiques seraient uniquement des hypo-albuminémies, car les hyper-albuminémies ne sont rencontrées que dans les syndromes transitoires d'hémoconcentration. [VALDIGUIE, 1995]

II -1-2-2- Les alpha -1- globulines :

Elles constituent la fraction la moins abondante, et la plus difficile à différencier des autres protéines sériques, et représentent environ 4 à 5% des protéines plasmatiques .Cependant, leur taux augmente modérément pendant les six derniers mois de la grossesse [BERNAD,1985]. Alors que selon COUROIS, (1972), les lipoprotéines représentent 25 à 30% des α_1 globuline, mais aussi plusieurs glyco-protéines y figurent.

a)- L'orsomucoides

L' α_1 glycoprotéine acide est la plus riche en glucides soit 40% de la masse moléculaire de celle-ci. Son taux sérique normal varie entre 0,4 et 1,4 g/l, et sa fonction physiologique reste imparfaitement connue [DONIS,1994]. Elle est inactivée, semble - t-il sur la cathepsine, l'héparine et intervient dans l'agrégation plaquettaire , grâce à son caractère acide. Elle exerce un rôle immunomodulateur en inhibant la prolifération lymphocytaire en réponse à plusieurs mutagènes, et la formation de rosettes des lymphocytes T. Elle favorise la croissance des fibroblastes et se fixe sur le collagène.

L' α_1 glycoprotéine acide est l'un des meilleurs marqueurs d'inflammation et son taux s'élève particulièrement dans la maladie de CLORIN, la colite ulcéreuse et la carcinome rénale. Son dosage est très utile pour contrôler l'efficacité thérapeutique du Rhumatisme articulaire aigu.

b)- L'alpha-1- anti trypsine :

Cette glycoprotéine , de poids moléculaire égale à 54000 d, et sa constante de sédimentation de 3,5 S, contient 12% de glucides. Son taux dans le sérum augmente dans les processus inflammatoires , les cancers, les atteintes hépatiques, les traumatismes au cours de la grossesse, et lors de l'usage des contraceptifs .

Cependant, il est abaissé dans deux désordres majeurs , l'emphysème pulmonaire et la cirrhose hépatique juvénile. Notons que l'inhibition des proteases reste la propriété essentielle de la glycoprotéine. [DONIS, 1994]

c)- L'alpha -1- foeto protéine :

De poids moléculaire de l'ordre de 70.000d, et contenant 4,3 % de glucides, elle est présente dans le sérum foetal humain .Elle est essentielle au développement normal de l'embryon et sa concentration est maximale soit 3,5 g/l, à la deuxième semaine de la grossesse pour décroître et ensuite pour être pratiquement nulle à la naissance, et réapparaît anormalement chez l'adulte. Lors du cancer primitif du foie, principalement elle est estimée à des taux parfois énormes (1à5 g/l ,mais plus faibles, dans les hépatites et les cirrhoses .[LOUISOT, 1983]

II -1-2-3-L'alpha -2- globuline:

Ce sont des glycoprotéines de poids moléculaire de 100.000 à 400.000d, et transportent des lipides, et le cuivre. Leur concentration varie entre 4 à 8 g/l, cependant elle augmente au cours de la grossesse (dernier trimestre). [BENHADDAYA, 1997]

a)- L'haptoglobulines:

Selon LOUISOT, les haptoglobulines sont des α_2 - globulines découvertes par M. PALOUKI et M. EJAYLE en 1938. Elles ont la propriété de former avec l'hémoglobuline des complexes très stables doués de propriété peroxy basiques et la combinaison hémoglobine-haptoglobine se fait toujours dans un rapport

constant.

En utilisant l'électrophorèse en gel d'amidon on a montré qu'il existe trois génotypes principaux d'haptoglobuline : HP(1-1), HP(2-1) et HP(2-2).

Le poids moléculaire du monomère HP (1-1) est de 95000d, mais il existe des formes polymères de poids moléculaire de 200.000 à 400.000 d.

Les haptoglobulines ont donc permis d'introduire à coté des groupes sanguins erythrocytaires, la notion des groupes sériques. [LOUISOT, 1983]

b)- Ceruleoplasmine:

C'est une α_2 globuline de poids moléculaire 150.000d. et contient huit (08) atomes de cuivre par molécule, ce qui représente environ 95% de cuivre plasmatique. [LOUISOT , 1983]

La ceruleoplasmine neutralise les ions super oxydes, qui sont germicides mais aussi très toxiques pour les cellules environnantes. [DONIS, 1994]

c)- L'alpha -2- macroglobuline:

C'est le constituant le plus important du groupe des α_2 globulines. Son taux sérique normal est de l'ordre de 2,5 g/l. Elle est une glycoprotéine de poids moléculaire élevé 850.000d, de constante de sédimentation égale 19 S et contient 08% de glucide. Son taux est plus élevé chez l'enfant (5g/l) et augmente de manière considérable dans la néphrose lipoïdique pour atteindre 30g/l. [LOUISOT, 1983]

II -1-2-4- La β - globuline:

Elle a un poids moléculaire variant de 110.000 à 120.000d, et sa concentration plasmatique est de 12g/l. Elle est composée de sous fractions b1 et b2. La fraction protéique véhicule les lipoprotéines, alors que la partie centrale du complément transporte la fibrinolyse, les isohémagglutinines, prothrombines et le cholestérol. [BENH ADDAYA , 1997]

a)–La transferrine ou siderophile :

Elle est une β_1 globuline de masse moléculaire égale à 80.000d, et contient 06% de glucides. On la sépare aisément par l'électrophorese en gel d'amidon. Elle est contenue essentiellement du fer, soit deux atomes de fer par molécule de glucoprotéine. Son rôle le plus important est de fournir du fer à l'organisme, et en plus des propriétés inhibitrices de la multiplication virale. [Louisot, 1989]

Elle est synthétisée dans le foie, et présente une variabilité génétique soit trois principaux phénotypes B.C.D. Le taux normal de fer sérique est de 1.4 mg/l chez l'homme et de 1.1 mg/l chez la femme. Sa demi-vie est de 8 à 10 jours.

Le taux de transferrine augmente dans la sidéropénie et à la fin de grossesse et diminue dans la néphrose. [LOUISOT, 1989]

II-1-2-5- Les γ -globulines:

Selon HERMAN et CIER (1970), ce sont de poids moléculaire de 150.000 à 200.000 d, elles sont formées de deux paires de chaînes polypeptidiques légère et lourde, et il est possible de définir cinq clones d'immunoglobuline: IgG, IgA, IgM, IgD et IgE . Le taux sérique normal des γ -globulines est de 7-15 g/L.

- **IgG** : 08 à 16 mg/ml chez les adultes et leur augmentation provoque les syndromes inflammatoires cirrhotiques et myélome à IgG.
- **IgA**: 01 à 04 mg/ml, dont l'augmentation provoque, les cirrhotiques et myélome à l'IgA.
- **IgM**: 0.5 à 02 mg/ml, leur augmentation provoque la maladie de Waldenström parasitose.
- **IgD**: 0 à 0.4 mg/ml, leur augmentation provoque le myélome à IgD et maladie de Wilson.
- **IgE**: 10 à 400 mg/ml, leur augmentation provoque l'allergie (Asthme), parasitose et myélome à IgE.

II-1-3- Biosynthèse des protéines :

La Biosynthèse des protéines est l'ensemble des réactions par lesquelles les acides aminés sont réunis les uns aux autres par des liaisons peptidiques, dans un ordre dicté par la séquence des bases d'un ARN messager, afin de former un polypeptide, ou une protéine. [BOREL et Al, (1997) In DEBBACHE, BOUCHEMOUKHA, 2001]. Pour être complet, la connaissance de la Biosynthèse de protéines doit nous renseigner sur le mode de formation de la liaison peptidique, sur les mécanismes qui déterminent la succession des acides aminés caractéristiques de chaque protéine, sur les modifications de la structure primaire par des phosphorylations et des hydroxylations et sur l'arrangement de la structure secondaire, tertiaire et quaternaire.

Selon la même source, le mécanisme proposé doit rendre compte de la spécificité des protéines des diverses espèces, des individus et même des organes d'un individu. IL s'agit de trouver comment se fait le choix entre le nombre considérable de possibilités d'arrangement de 20 acides aminés pour aboutir aux séquences spécifiques de chaque protéine. C'est le progrès de nos connaissances sur les acides nucléiques qui a permis d'établir une conception cohérente de la biosynthèse des protéines.

II-1-3-1- Mécanisme de la Biosynthèse des protéines :

D'après BOULANGER et al (1973). l'ensemble des mécanismes qui vont conduire de l'ADN, porteur de l'information génétique aux protéines, se rassemble facilement dans une séquence logique dont quelques termes sont maintenant classiques.

- La transcription de l'ADN en ARN messager.
- La traduction de l'ARN messager en protéines qui comportera :
 - L'activation des amino-acides.
 - Leur fixation sur les ARN transferts.
 - L'initiation de la chaîne polypeptidique.

- L'élongation de cette chaîne.
- La terminaison de la chaîne et sa libération.

II-1-4- La biosynthèse des protéines sériques :

a)- Le sérum albumine, les α et β - globulines :

Ils sont synthétisés dans le foie et sont quantitativement importantes. L'albumine par exemple, elle est produite par le foie soit 10 à 12 g par jour ou 0,4 mg par gramme de tissus hépatique par heure. [MICHEL, 1991]

Elles ont une demi-vie très courte, soit 07 jours pour l'albumine et 10 jours pour les globulines.

Il y a donc une synthèse et une dégradation très active des protéines plasmatiques. Elles sont utilisées par les tissus comme source d'acides aminés pour leurs propres synthèses. Elles constituent donc une forme de transport des acides aminés et sont, élaborées dans le foie à partir des acides aminés alimentaires provenant de l'hydrolyse des protéines et absorbés par la muqueuse intestinale. [BOULANGER et al, 1973]

b)- Les immunoglobulines :

Les immunoglobulines sont toutes synthétisées sur la membrane du Reticulum endoplasmique (R.E) de la cellule B. On peut les prévoir puis que les immunoglobulines sont soit des molécules membranaires, soit des molécules sécrétées. La voie qui aboutit à ces deux compartiments commence par des nouveaux polypeptides dans les citernes de R.E. Ces nouvelles chaînes sont d'habitude pilotées vers le R.E par une séquence signal hydrophobe. Dans les immunoglobulines, celle-ci est placée à l'extrémité aminée des chaînes L (light) et H.(Heavy) Elle est codée par l'axone L (séquence adjacent au bout de chaque élément variable).

La séquence signal est enlevée de la chaîne, peu après la synthèse et on ne la retrouve pas dans l'anticorps parachevé. [CAMILLE, 1997]

II-1-5- Régulation de la biosynthèse protéique :

II-1-5-1- La régulation génétique :

Chez les animaux supérieurs, les cellules sont spécialisées. Ainsi les cellules nerveuses ne synthétisent pas les mêmes protéines que les cellules musculaires, ou les cellules du foie et pourtant, en théorie, elles le pourraient, puisque toutes les cellules contiennent les mêmes chromosomes donc le même DNA et donc les mêmes gènes. [ETIENNE, 2000]

La chaîne d'ADN est un assemblage des fragments correspondant à des gènes opérateurs, et promoteurs commandant l'arrêt ou le déclenchement de la transcription de l'ARN messager, et d'autres fragments des gènes de structure. L'activité de ces opérateurs peut être inhibée par les répresseurs produits à partir des gènes régulateur grâce à l'inactivation des répresseurs par l'inducteur spécifique, par exemple, dans le cas du galactoside qui induit chez E.coli, la formation de β galactosidase, le represser sera inactivé par le galactoside, c'est l'induction enzymatique.

II-1-5-2- Régulation hormonale de la biosynthèse protéique :

Les hormones jouent un rôle important dans la régulation de la biosynthèse protéique chez les vertébrés et tout particulièrement chez l'homme. Il existe plusieurs types d'action hormonale dont nous résumerons très brièvement deux types.

a/ Cas des hormones agissant sans entrer dans la cellule :

Il existe des hormones solubles dans l'eau et qui ne peuvent pas traverser la membrane lipidique des cellules. Ce type d'hormone agissant par l'intermédiaire de l'AMPc (seconde messenger), donc provoquera la formation de l'AMPc à l'intérieur de la cellule. L'hormone arrivée à une cellule cible, et reconnue par un récepteur membranaire situé sur la surface externe. La liaison hormone - récepteur déclenchera des réactions aboutissant à la formation de l'AMPc. Ce dernier

activera, à la suite d'une série de réaction en cascade, des protéines préexistantes dans la cellule, mais qui étaient initialement inactivées.

L'AMPc est le plus connu des secondes messages mais il existe d'autres types de secondes messages tels que le DG (Diacyl glycérol formé à partir du PIP3(phosphatidyl inositol triphosphate), le Ca^{++} , ces secondes messages agissent généralement en activant des kinases qui provoquent la phosphorylation des protéines préexistantes. [ETIENNE, 2000]

b/ Cas des hormones entrant dans la cellule:

Il s'agit des hormones de petit poids moléculaire . Solubles dans les lipides et qui peuvent ainsi traverser la membrane .C'est le cas des hormones stéroïdes comme l'œstrogène, Quand l'hormone pénètre dans une cellule cible, elle se combine a un récepteur spécifique-par exemple dans le cytoplasme pour le cas des récepteurs aux hormones glycocorticoides . Ce récepteur est sous forme dimère couplé avec un inhibiteur qui sera déplacé par l'hormone . la liaison d'hormone au récepteur provoque une modification de la forme du récepteur (un changement allostérique).

Le nouveau complexe récepteur-hormone pénètre dans le noyau et se lie à l'ADN, sur la séquence appelée éléments rependant. Il en résulte ainsi une augmentation de la transcription du gène correspondant, ce qui aboutit donc à une synthèse des protéines . Quant au récepteur, il suit un cycle avec diffusion passive du noyau vers le cytoplasme . [ETIENNE ,2000]

II-2- Etude de la plante chêne – liège :

Le chêne – liège est une essence de valeur économique intéressante en raison de son écorce précieuse, utilisée dans des domaines très divers.

Le chêne-liège : (*Quercus Suber* L.)

II -2-1 classification :

Le chêne-liège a été décrit pour la première fois par LINNE en 1753, il appartient à :

- **Embranchement** : Angiospermes.
- **Classe** : Dicotylédones.
- **Famille** : Fagacées au cupulifères.
- **Genre** : *Quercus*.
- **Espèce** : *Quercus* L.

II -2-2- Caractères botaniques :

Le quercus est un arbre de moyenne grandeur, pouvant atteindre 10 à 12m de hauteur et exceptionnellement 20 à 22m.

Il est caractérisé par son écorce, le liège de 2 à 3cm d'épaisseur.

[NATIVADE, 1956]

La racine du chêne -liège montre, dès son plus jeune âge, une disposition naturelle à s'enfoncer verticalement et avec vigueur. Ce qui lui permet de bien fixer l'arbre dans les sols légers .

Les feuilles sont coriaces, ovales-lanceolées, persistantes et vivent plus d'une année , mais dans les terrains les moins secs, elles persistent deux ans.

La floraison est monoïque et les glands se forment dans l'année et tombent d'octobre à janvier. les bons glands ne sont observés que tous les deux à trois ans.[MOUZAOU, 1994]

Lorsque l'épaisse couverture de cuticule est imperméable jusqu'à l'épiderme, la communication des tissus avec l'extérieur se fait à l'aide des stomates. Dès que l'épiderme se forme, ces derniers sont remplacés par les lenticelles qui permettent les échanges gazeux. [NATIVADE, 1956]

II-2-3 La toxicité des tanins du chêne-liège :

Les tanins de chêne-liège exercent leur effet toxique soit directement soit par l'intermédiaire de leur produits d'hydrolyse. Celle-ci peut avoir lieu sous l'action des bactéries du Rumen, nutriment et notamment de l'azote alimentaire, est expliquée par l'aptitude de ces molécules à se combiner avec les protéines alimentaires, les rendant inattaquables par les enzymes protéolytiques. En outre, les tanins peuvent inactiver directement les enzymes digestives.

[ABDERAZAK, 2000]

II-2-4 Propriété thérapeutique :

Si Le chêne-liège riche en tanins peut être dangereux, il peut être utilisé comme antidote dans les intoxications par les plantes à alcaloïdes, car les tanins ont, en effet, la propriété de précipiter, certains d'entre eux. [ABDERAZAK, 2000]

MATERIELS & METHODES



III- Matériel et méthode :

III-1- Préparation de l'extrait brut de Tanins de chêne-liège :

Pour préparer l'extrait brut du Tanin de chêne liège on a procédé au séchage et broyage de l'écorce, ensuite 100 g de cette matière sont pesé et mis dans 300 ml d'ethyl d'acetate à 10% pendant 72 heures, après filtration la solution a été concentré par le Rotavapeur. Cependant la solution n'a pas été totalement évaporisée suite à une défection du Rotavapeur, alors le produit restant est celui administré aux rats .

III-2- Entretien et traitement des animaux :

Les animaux ont été traités par l'extrait brut du Tanin de la plante chêne-liège. L'administration a été faite par voie orale. Les animaux qui ont servi pour cette étude sont des rats Wistars femelles pesant 150 gr environ et sont répartis en deux lots :

- Premier lot ; deux animaux témoins
- Deuxième lot : deux animaux traités par l'extrait brut de tanin.

III -3- Prélèvement du sang :

Pour une analyse biochimique qui consiste à un dosage des protéines sériques, le sang est généralement prélevé au niveau de l'œil (sinus recto -orbital) du rat par des tubes d'hematocrites secs, il est ensuite centrifugé à 4000 tour/mn pendant 10 mn, le sérum ainsi obtenu peut être conservé à 20C°.

III-4-Dosage des protéines sériques :

III-4-1- Dosage des protéines totales :

Quatorze tubes à essais ont été préparé contenant chacun 2,5 ml de réactif alcalin, le premier tube servant de blanc, le deuxième servant le standard ou 50 µl d'étalon à 100 g/l additionné au réactif alcalin, nous ajoutons pour les autres tubes 50 µl de sérum d'un rat correspondant.

Les tubes sont laissés 20 mn à température ambiante (20 – 25 C°)Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à 546 nm en réglant le zéro de l'appareil sur le blanc.

III-4-2- Dosage des protéines sériques par l'électrophorèses :

III-4-2-1-Le principe de l'electrophorèse ;

L'électrophorèse permet de séparer des molécules résolvant leur mélange dans un champ électrique dans lequel des molécules chargées en solution se déplacent à une vitesse qui dépend du rapport de leur charge à leur masse. Si par exemple deux molécules sont de masse et de forme identiques, celle qui porte la plus grande charge se déplace le plus vite vers l'électrode de charge opposée. On utilise couramment de nombreuses variantes de l'électrophorèse par exemple, la séparation de petites molécules, tel que les acides aminés et les nucléotides. On dépose une minuscule goutte de l'échantillon sur une bande de papier ou tout autre support poreux, que l'on imprègne d'une solution conductrice. Sous l'effet d'un champ électrique appliqué entre les extrémités de la bande de papier, les petites molécules dissoutes dans la solution conductrice migrent le long du papier à une vitesse proportionnelle à leur charge. [LODISH et al, 1997]

III-4-2-2- Facteurs qui régissent la migration. :

o La mobilité :

La migration proportionnelle à la mobilité U en électrophorèse de zone.

La migration apparente n'est plus proportionnelle à la mobilité U.

La mobilité d'une protéine dépend de sa charge et des forces de :

a- la charge :

La mobilité apparente d'une protéine est liée à sa charge d'après l'équation

$$U = \frac{1}{6\pi N} \times \frac{q}{r}$$

U : La mobilité électrophoretique , q : la charge ,

N : Coefficient de viscosité du milieu , r : rayon de la sphère.

La charge d'une protéine est liée au pH, et à la force ionique du milieu, il est donc indispensable d'opérer dans un système tampon de pH et de concentration convenables.

Exemple : Protéine sérique, on emploie tampon veronal de pH= 8,6 et de force ionique : $I= 0,05 \text{ mol/l.}$ A ce pH. Toutes les fractions sont chargées négativement et migrent vers l'anode.

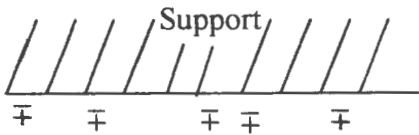
b-Le champ électrique :

En électrophorèse de zone, le déplacement d'une protéine dépend du champ électrique, il doit être maintenu constant durant la migration.

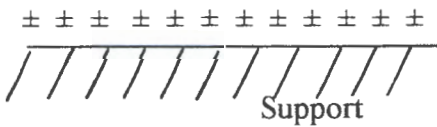
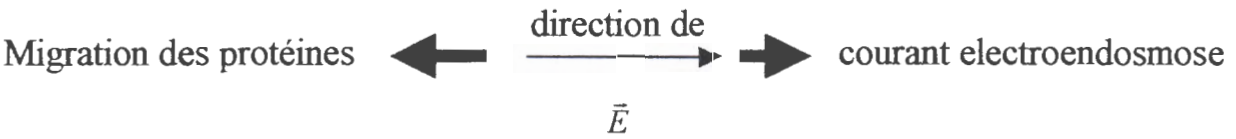
c-Les courants liquidiens :

Ils sont particuliers à l'électrophorèse sur support, la relation de la migration ;

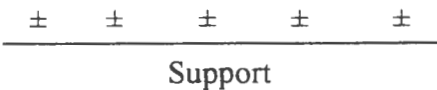
$d = U \times E \times t$ n'est plus vérifiée, il existe 3 sortes de courants liquidiens :



Couches fixes de charge négative



couche mobile de charges positives



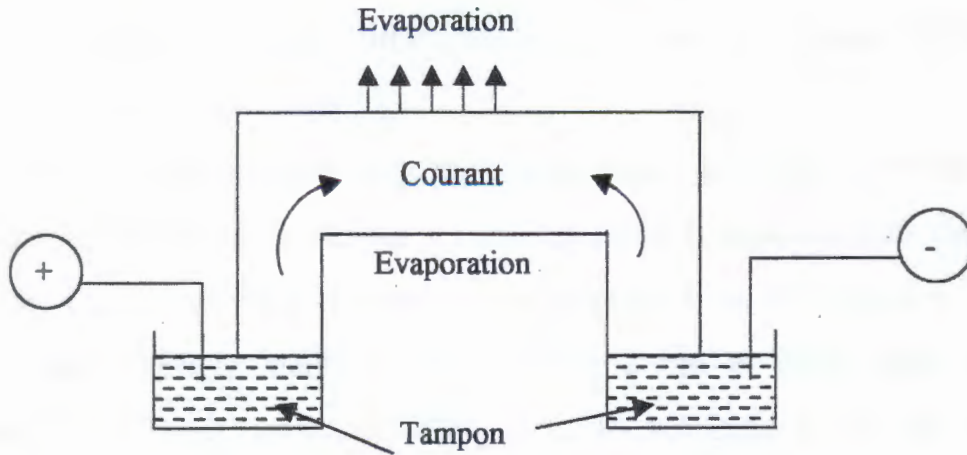
Couche mobile de charges positives

\vec{E} : le champ électrique , t : temps

Les protéines migrent dans la direction inverse du champ, donc le courant d'electroendosmose s'oppose au déplacement des protéines.

d-Le courant d'évaporation (ou de rheophorèse)

L'eau s'évapore au niveau de la surface de la bande.



Comme celle-ci plonge dans le tampon, il n'établit depuis chaque extrémité un courant liquide qui tend à compenser l'évaporation.

e- La durée de migration :

La migration proportionnelle au temps ($d = U.E.T$).

Le support poreux favorise la diffusion des protéines.

Une trop grande durée aboutirait à l'étalement des zones. Celles-ci se superposent et le pouvoir de résolution de l'ectrophorèse diminue.

f- Facteurs liés au support :

Les propriétés absorbantes du support se manifestent à l'égard des protéines et vont bloquer leur migration.

La distance de migration mesurée est par conséquent nettement inférieure au déplacement réel, ce qui explique qu'en électrophorèse de zone, on ne mesure qu'une mobilité apparente. [BOUCHAKRA, 1990]

III-4-2-3- Electrophorèse des protéines sériques :

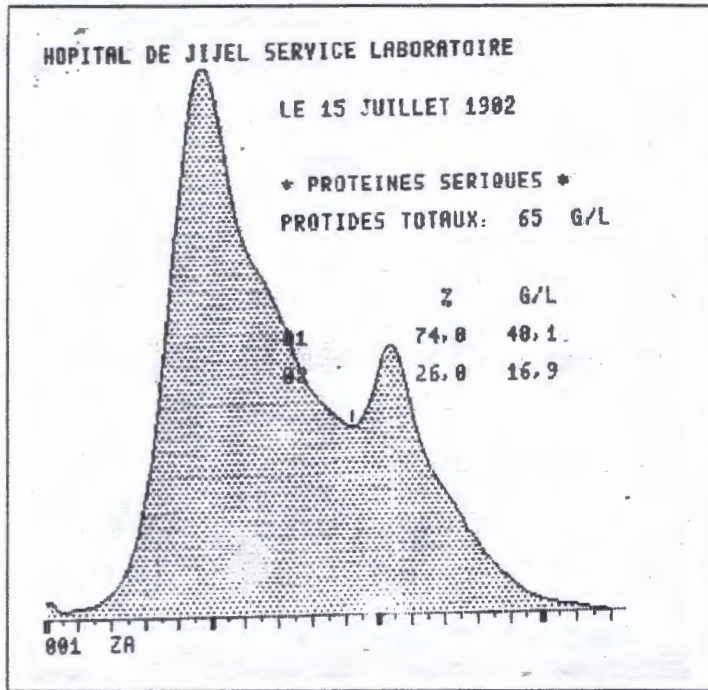
Une bande d'acétate de cellulose est immergée dans une solution tampon composée du TRIS-Véronal buffer d'une $pH = 8,6$ pendant 20 mn.. Une quantité de 3 à 4 μl du serum (pour chaquechantillon) déposéeau centre de la bande à

Selon l'électrophoregramme obtenu on peut déterminer les quantités de chaque fraction protéiques à partir d'une lecture automatique dans le densitomètre qui trace la courbe des densités optiques obtenues pour chaque position de la bande.

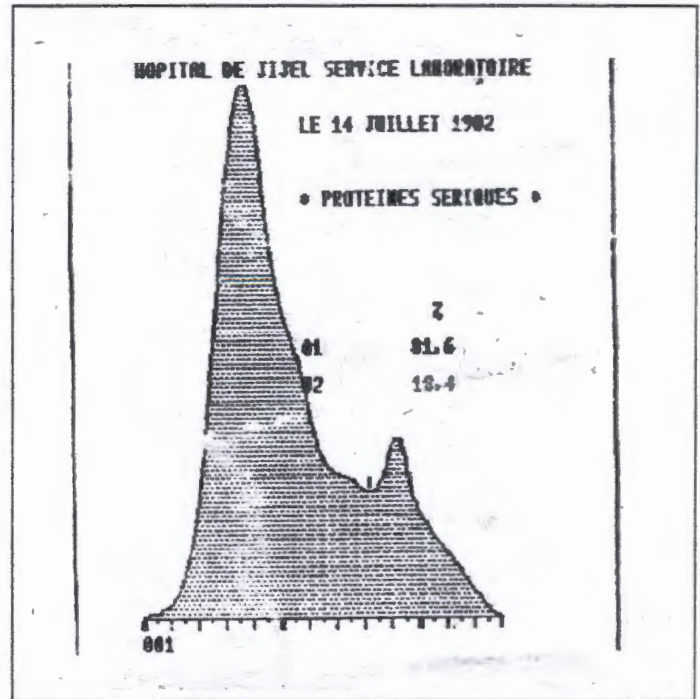
Le pourcentage d'une protéine est calculé à partir du rapport de la surface de la pic de cet protéine sur la surface totale.

La bande d'électrophorèse passe entre une source lumineuse et une cellule photoélectrique. La quantité de lumière parvenant à celle-ci est inversement proportionnelle à la quantité de colorant présente sur la bande.

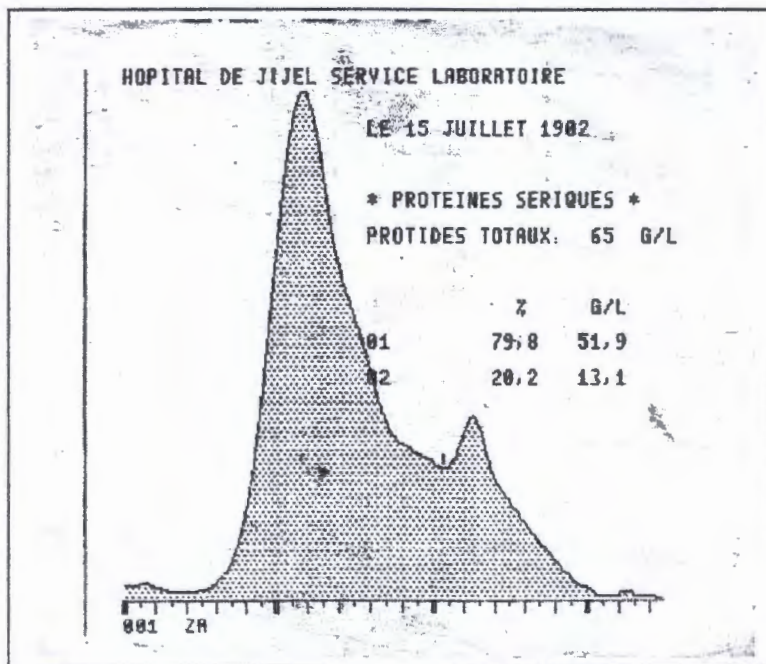
On admet en première approximation que cette quantité de colorant est elle même proportionnelle à la quantité de protéine présente. La cellule photoélectrique (ou le dispositif plus moderne et plus sensible qui joue le même rôle) débite un courant électrique d'intensité proportionnelle au flux lumineux qui lui parvient, ce courant est amplifié, analysé par des composants électriques et traduit sous forme d'un enregistrement graphique. C'est le graphique de la densité optique de la bande en fonction de la longueur dans lequel chaque groupe de protéines de charge identique correspond à un pic. L'appareil mesure la surface de chaque pic et en déduit le pourcentage ainsi que le taux des protéines totales. On peut en déduire la quantité de chaque fraction en grammes par litre. [BOREL. J, 1984]



2^{ème} Jour.



1^{er} Jour.



3^{ème} Jour.

Figure 2 : exemple des electrophoregrames issus de la lecture densitometrique

RESULTATS

IV- Résultats :

IV-1- Les résultats :

Afin d'évaluer l'effet du tanin de chêne-liège sur les protéines sériques une dose unique de celui-ci a été administrée aux rats .

a- Variations quantitatives des protéines totales :

Tableaux I; variations quantitatives des protéines totales en fonction du temps après administration d'une dose unique de l'extrait brut de tanin de chênes-liège.

Temps	1 ^{er} jour		2 ^{ème} jour		3 ^{ème} jour	
	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
Moyennes des protéines totales g/l	96	86	94	71.6	93.2	65

b- Evolution du taux des protéines sériques en fonction du temps :

1- Après 24 heures :

Tableaux II : variations quantitatives des protéines totales après 24 heures

Protéines	Pt		Alb		α1		α2		β		δ	
	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
La moyenne %	-	-	58	82.06	5.6	00	7.5	00	15.8	17.4	13.1	00
La moyenne g/l	96	86	55.7	71.1	5.4	00	7.00	00	15.16	14.9	12.7	00

2- Après 48 heures :

Tableaux III : variations quantitatives des protéines totales après 48 heures :

Protéines	Pt		Alb		α1		α2		β		δ	
	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tr	Tr	Tm	Tr
La moyenne %	-	-	58.4	79.2	5.4	00	9.7	00	15.23	20.8	12.23	00
La moyenne g/l	94	71.6	54.9	56.7	5.1	00	8.17	00	14.31	14.8	11.5	00

c/ Après 72 heures :

Selon la figure (5) chez les rats traités on observe une faible diminution de l'albumine diminution évidante pour la β globuline et α_1 , α_2 et δ sont restent nulles par rapport aux rats témoins.

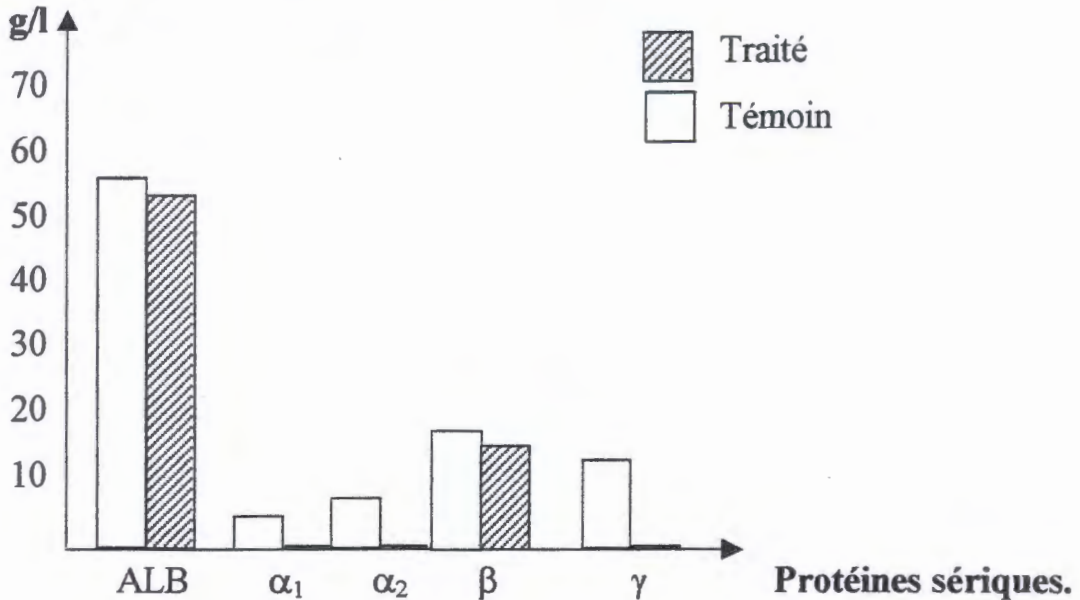


Figure 5.

IV-2-2- Evolution des différentes fraction protéiques en fonction de temps :

a/ Evolution de l'albumine:

Après 24 heures de l'administration, l'albumine augmente à 71.1 g/l, puis elle diminue jusqu'a 52.4 g/l pendant 72 heures.

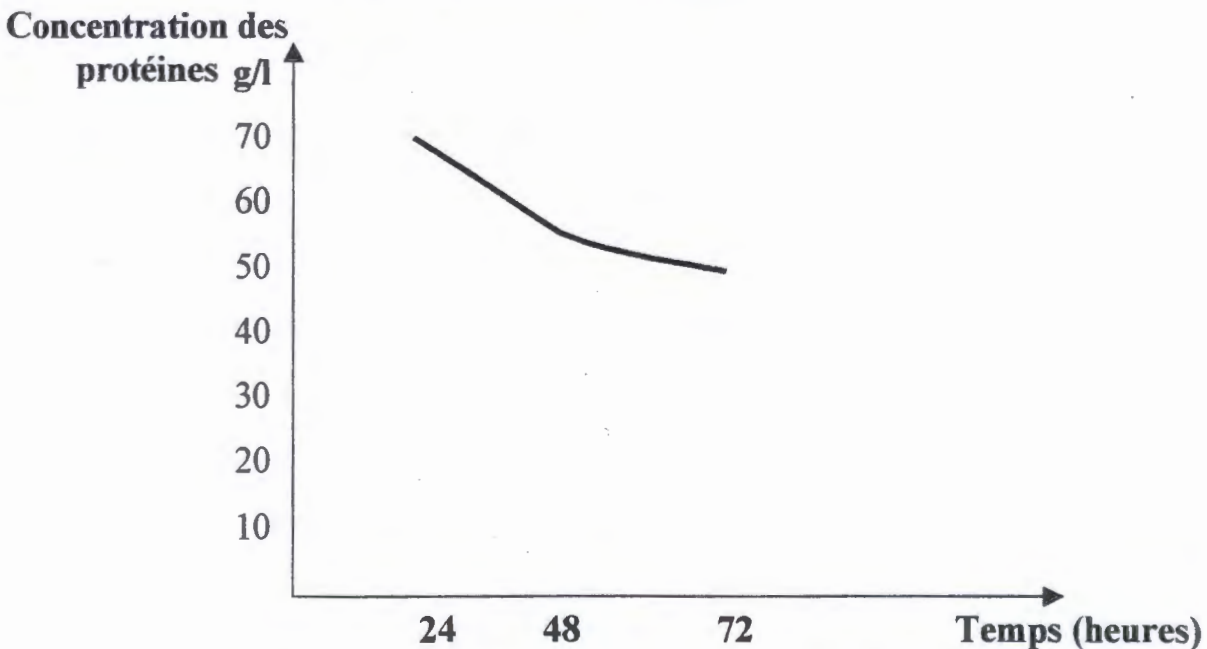


Figure 06 : Evolution de l'albumine en fonction de temps

b/ Evolution de la β globuline en fonction du temps :

La figure 7 montre que la β globuline est presque stable pendant les 48 heures après l'administration, soit 14.9 g/l à 14.8 g/l en dernier jours elle se diminue jusqu'au 12.6 g/l.

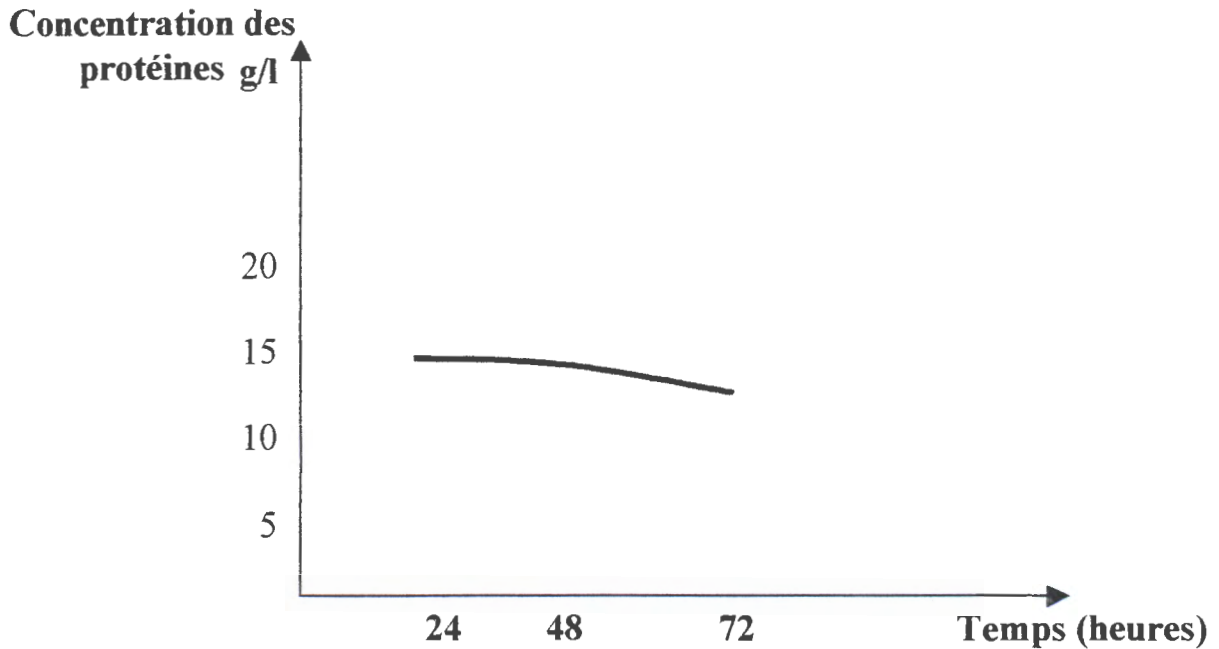


Figure 07 : Evolution de la β globuline en fonction de temps

c/ Evolution de α_1, α_2 et δ en fonction du temps :

Les α_1, α_2 et δ sont nulles .

DISCUSSION

V-Discussion :

Pour une détermination quantitatives des protéines sériques on applique la méthode de l'électrophorèse qui est la meilleur méthode de séparation des différents fractions protéiques sous l'influence d'un courant électrique .

Les fractions protéiques par l'électrophorèse sont quantitativement différent à l'état normale , on trouve :

Le rapport :
$$A/G = \frac{\text{sérum albumine}}{\text{Sérum globuline}} = 1.5 \text{ à } 2$$

Les variations pathologiques produisent une diminution, voire une inversion de ce rapport .

* Par diminution des albumines : cirrhose , hépatite , néphrose lipoïdique

* Par une augmentation des globulines.

- α_2 : maladie inflammatoire, rhumatisme .

- β : diabète , artériosclérose, cirrhose .

- δ : cirrhose, maladies infectieuses.

Cette méthode apporte des éléments utiles quand la protéinurie dépasse 2g/l lors du dysglobulinémies en particuliers .

Cette études à pour but de déterminer l'effet du tanin de chêne-lièges. Cette plante utilisée en médecine traditionnelle .Sur les protéines sérique des rats. Pour cette effet une dose unique de l'extrait brut de tanin de chêne-liège à été administre aux rats femelle Wistar albinos .

Les contrôles sanguins ont été effectué régulièrement pendant la phase aiguë (24 à 72 heures).

Pendant la phase aiguë, on constate les modifications suivantes :

- Une augmentation de l'albumine pendant les premiers 24 heures puis il se diminue dans les 48 heures suivantes .

- α_1 globuline est nul .

- α_2 globuline est nul .

- β globuline presque stable pendant les premiers 48 heures et une faible diminution au dernier 24 heure
- δ globuline est nul .

Le rapport A/G des rats traités est plus élevé par rapport au témoin et cela est dû à :

- L'augmentation de l'albumine.
- L'absence du α_1, α_2 et δ pendant la phase aiguë.

La variation du rapport A/G est le résultat de l'effet du tanin sur les fractions protéiques.

Notons que dans l'interprétation des résultats, nous avons proposé que le deuxième pic (Figure 2) concerne la fraction B, selon la bibliographie.

CONCLUSION

VI- Conclusion :

L'utilisation des produits d'origine végétale nécessite tous d'abord une étude pharmacologique afin de déterminer leur efficacité, et une étude de leur toxicité vis-à-vis de l'être humain. Dans notre travail nous voulons connaître l'effet du tanin de chêne-liège, utilisé en médecine traditionnelle, sur les protéines sériques des rats. Ainsi deux lots de rats Wistar albinos ont reçu une dose unique de l'extrait brut de la dite plante. Les contrôles sanguins ont été effectués pendant la phase aiguë. L'étude a permis de connaître que cette plante a des effets importants sur les protéines sériques. Tel que une disparition des trois fractions protéiques α_1 , α_2 , γ globulines, et reste la β globuline. Alors que l'albumine subit une augmentation puis une diminution.

BIBLIOGRAPHIE

&

ANNEXE

Méthode de calcul

Le calcul des concentrations des protéines sériques à partir de leur pourcentage densitomètre.

- Pour calculer les concentrations des protéines sériques à partir de leur pourcentages issues des graphes de densitomètre ,on utilise la règle des trois

Exemple

Le pourcentage de l'albumine

La concentration des protéines total : 93.2

$$93,2 \text{ g} \longrightarrow 100\%$$

$$53,60 \text{ g} \longrightarrow x$$

$$\text{Donc : } x = \frac{53.60 \times 100}{93.20} = 57.50 \%$$

- Pour calculer la moyenne x des concentration

Exemple :

On prend 2 concentration de l'albumine correspondants au première et 2^{ème} rat : 42,90g/l , 54,30g/l

$$x = \frac{42.90 + 54,30}{2} = 53.60\text{g/l}$$

- **Abréviation**

- Tm : rat témoin
- Tr : rat traité
- PT; protéines totales
- ALB : albumine sérique
- $\alpha 1$: Alpha 1 globuline
- $\alpha 2$: Alpha 2 globuline
- β : bêta globuline
- δ : Gamma globuline
- d : Dalton
- ADN : Acide Desoxy Nucléotide
- ARN : Acide Ribonucléotide
- AMP_c : Adinosine Monophosphate Cyclique

- 1- ABDERAZAK. M, 2000 « Dictionnaire de botanique ».
- 2- BELOUED. A, 1998 « Plantes Médicinales d'Algérie ».
office des publications universitaire.
- 3- BENHADDAYA.S, 1997 « Dosage des protéines plasmatiques en vue d'établir des normes Algérienne chez l'adulte »
Mémoire DES, Université. Constantine.
- 4- BERNARD.S, 1985 « Biochimie clinique, instrument et technique de laboratoire médicaux ».
Ed : Flemmardions et lie France.
- 5- BOREL.J, 1984 « Comment prescrire et entrepreter un examen de biochimie ».
Maloine 2^{ème} édition, Paris.
- 6- BOREL. MAQUART. Lepend. Randoux. Grillery. Bellon. Monboisse, 1997 « Biochimie dynamique ».
- 7- BOUCHAKRA. T, 1990 « Analyse instrumentale en biochimie ».
- 8- BOULANGER.P, POLONOVSKI.J, TAYEAU.F, MANDEL.P, BISERTE.G, 1973 « Biochimie médical ».
Edition Masson et clé.
- 9- CAMILLE. F, 1997 « biologie moléculaire de la cellule ».
L.B.B.Z.M.D, traduction de la 3^{ème} édition Américaine.
- 10- CLAUDE. N et NICOLE. G, 1995 « Larousse médicale ». Paris.
- 11- COUROIS.J, EPERLES.R, 1972 « Précis de chimie biologique »
Ed : Masson et clé, Tome2.
- 12- DEBBACHE.H, BOUCHEMOUKHA.S, 2001 « l'électrophorèse des protéines sériques chez les rats traités par un extrait de Ranunculus repens »
Mémoire D.E.S, université. Jijel.
- 13- DONIS. D, 1994 « Biochimie clinique »
Ed : Maloine (les éditions de griffon d'argiles).

- 14- ETIENNE.J, 2000 « biochimie génétique biologique moléculaire et cellulaire ».
- 15- HERMAN.H et CIER.J.F, 1970 « Precis de physiologie ».
Edition Masson-Paris.
- 16- JAQUES. A, 1995 « ATLAS du corps humain ». Paris.
- 17- LODISH.H, DERNELL.J, BALTIMORE.D, BERK.A, ZIPURSKY.S.L,
MATSUDAIRE.P, 1997 « Biologie moléculaire de la cellule ».
3^{ème} édition, Paris.
- 18- LOUISOT.P, 1983 « Biochimie structural ».
Ed : Simep.
- 19- LOUISOT.P, 1989 « Biochimie générale et médecine ».
Ed : Simep, Paris.
- 20- MICHEL.C, 1991 “Semiologie biochimique”
- 21- MIVELG.P, JENIVLEVE.C, SILVY.H, CLAUD.SK, DONIRE.H, et
DUBOID.J, 1977. « Larousse de la langue française ».
Libraire larousse.
- 22- MOUZAOUI.A, 1994 « contribution à l'étude de caractéristique physique
et mécanique du liège blanc et du liège caoutchouc ».
Thèse Ingeniera I.N.A. université ELHARRACHE. Alger.
- 23- NATIVADE.V.J, 1956 « Suberculture ».
E.N.E.F Nancy.
- 24- VALDIGUIE. P, 1995 “biochimie clinique, technique et documentation”
Ed, Lavoisier. Paris.

ملخص

لقد احتلت في السنوات الأخيرة النباتات الطبية إهتماما كبيرا في مجال الصناعات الصيدلانية. والهدف من هذا العمل هو متابعة التأثير الحقيقي لدباغة نبتة البلوط على بروتينات مصلى الفئران المعالجة بهذا المستخلص. ولمعرفة الكمية و تحديدھا استعمالنا تقنية الهجرة الكهربائية، فتبين أن دباغة نبتة البلوط لها تأثير هام على البروتينات المصلية .

Résumé

Ces dernières décennies, les plantes médicinales occupaient une grande importance dans le domaine de l'industrie pharmaceutique.

L'objectif de notre travail est l'étude de l'effet du tanin de chêne-liège sur les protéines sériques des rats traités, et afin de quantifier ces protéines, pour cela nous avons utilisés l'électrophorèse.

Les résultats obtenus montrent que le tanin de chêne-liège a un effet important sur les protéines sériques.

Summary

The latter decades, the medicinal plants occupied a great importance in the pharmaceutical field of industry.

The object of our work is the study of effect tanin of cork oak on serum proteins of the treated rats, and in order to quantify these proteins for that we used electrophoresis.

The results obtained show that the tanin cork oak has a significant effect on serum proteins.

Mots clé:

Chêne-liège – Tanin – électrophorèse- protéines sériques.