B. 6. 2001

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
معهد علوم الطبيعة

MEMOIRE

1/03

En vue de l'obtention du diplôme
d'études supérieures en biologie moléculaire et cellulaire
Option : Biochimie

THEME

Electrophorèse des protéines sériques chez les rats traités par un extrait de *Ranunculus repens*

Jury composé de :

- Président : HENDIS Mohamed Saddek
- Encadreur : LEGHOUCHI Assaid
- Examinateur : MAIZA M'hamed

Réalisé par :

- BOUCHEMOUKHA Soumia
- DEBBACHE Hafida

جامعة وحدة الطارف الجامعي
مكتبة الجامعة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Promotion 2000-2001

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي

N° d'ordre :

تشكرات

الحمد لله على ما من و أعطى، و الشكر له على تسييره لنا هذا العمل و ما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله.

نتوجه بالشكر الجزيل إلى :

- الأستاذ المؤطر : الأستاذ لغوشي سعيد، الذي تكبد عناء كبيرا في توجيهنا، رغم المشاغل التي تحوطه، و قلة الإمكانات، و كان في كل هذا صابرا محتسبا مثابرا على نصحنا و تشجيعنا، جزاه الله عنا كل خير.
- إلى جميع الأساتذة الذين عكفوا على تدريسنا و كذا الأساتذة التقنيين الذين ساعدونا من قريب أو بعيد في تحقيق هذا العمل، و خاصة الأستاذ "لحول مصباح" و الذي كان له الفضل في توصلنا لإتمام القسم التجريبي.
- إلى الدكتور "معيزة محمد"، رئيس مخبر مستشفى ولاية جيجل على قوة تحمله و جلده و كذا المخبري القائم على تشغيل جهاز الـ Densitomètre و الصديقة العزيزة "آسيا" العاملة هناك.

دباش حفيظة

بوشموخة سمية

إهداء

- إلى روح معلم الأمة و ناصحها، رسول الله، محمد صلى الله عليه و سلم.
- إلى من أثمرت جهودهما هذا العمل، إلى رمز الصدق و العطاء و منبع الحنان الغزير، إلى من أرجو الله أن يجزيهما جنات النعيم، إلى والدي الحبيبين.
- إلى من دعوت الله أن ينبتهم نباتا حسنا، إلى اخوتي :" محمد، نبيل، سفيان، أمال، شعبان، فارس".
- إلى من ناشدت ربي أن يكون بها خلاصي يوم الحشر، يوم لا ظل إلا ظله، إلى من غمرتني بفيض حبها و كرمها ترقب بعدها مرضاة ربها، إلى من قاسمتني هذا العمل الصريحة الأمينة، إلى الغالية "سمية".
- إلى من علمتني إسلامي، و كيف أكون فردا في المجتمع، إلى من وجدت فيها شتات شخصيتي، إلى الرابطة الوطنية للطلبة الجزائريين معقل التضحيات الجسام.
- إلى من كن لي خير صحبة، و خير عون في أحلك المحن، إلى من جمعتني و أيا هن أواصر الدين و الأخوة فوحدتنا، إلى من أدين لهن بالشكر و العرفان و الوفاء على مدى الأيام، إلى حبيباتي في الرابطة.

حفيظة

إهداء

إلى كل من رضي و رضيت

بـــــــــالله ربـــــا

و بالإســــــلام ديـــنـــا

و بسيدنا محمد "ص" نبيا و رسولا.

أختكم سمية

Sommaire

I- Introduction 1

II- Analyse bibliographique

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 3

II-1-2- Les protéines sériques 3

II-1-3- Biosynthèse des protéines 14

II-1-3-1- Mécanisme de la biosynthèse protéinique 14

II-1-3-2- Rôle des acides nucléiques dans la biosynthèse protéinique 15

II-1-4- Biosynthèse des protéines sériques 15

II-1-4-1- La première théorie 16

II-1-4-2- La deuxième théorie 16

II-1-5- La régulation de la biosynthèse protéinique. 18

II-1-5-1- La régulation génétique 18

II-1-5-2- La régulation hormonale 21

II-2- Etude de la plante *Ranunculus repens* 25

II-2-1- Les Ranunculacées 25

II-2-2- La *Ranunculus repens* 25

II-2-3- Les propriétés thérapeutiques de *Ranunculus repens*. 25

II-2-4- La toxicité des Renoncules. 26

III- Matériel et méthodes.

III-1- Préparation de l'extrait brut de la *Ranunculus repens*. 27

III-2- Entretien et traitement des animaux 27

III-3- Prélèvement sanguin 27

III-4- Dosage des protéines 28

III-4-1- Dosage des protéines totales. 28

III-4-2- Dosage des protéines sériques par électrophorèse 28

III-4-2-1- Principe de la séparation électrophorétique 29

III-4-2-2- Facteurs qui régissent la migration 30

III-4-2-3- Electrophorèse des protéines sériques 32

III-4-3- Evaluation quantitative des protéines sériques par le densitomètre 34

IV- Résultats 38

V- Discussion. 46

VI- Conclusion 49

VII- Bibliographie et annexes 51

I

Introduction

I- Introduction

Au cours des siècles, l'évolution a modelé le médicament vers toujours plus d'efficacité. Au moyen-Age, les remèdes étaient préparés à partir d'un nombre considérable de matière première végétale, animale, voir minérale. C'était l'époque des « thériaque » véritable « soupes » érigées en panacées, que se préparaient quelque fois avec plus d'une centaine d'espèce végétales différentes [8].

Actuellement, le pourcentage des médicaments à base de produits animaux et en diminution constante, en raison notamment des problèmes liés à la contamination virologique .

Ces substances pourtant indispensable à l'homme (insuline, glucagon...) sont de plus en plus produites par les biotechnologies. La consommation des substances minérales sous forme de médicament est relativement stable.

En revanche, la mode, dit-on est tout orienté vers l'utilisation de molécules assurant la prévention de la santé, le développement harmonieux a la fois physique et psychique. Dans cette optique nombreuse sont ceux qui se tournent vers les produits végétaux et la demande ne cesse de croître [8].

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.

Notre travail consiste à étudier l'évolution des protéines sériques des rats traités par un extrait brut d'une plante, *Ranunculus repens,* cette dernière est utilisée localement dans la médecine traditionnelle dans le traitement du cancer .

II

Analyse bibliographique

II-1- Rappel sur le sang

* Le sang est un liquide circulant pompé par le cœur à travers un réseau interne d'artères et de veines depuis avant la naissance jusqu'à la mort, fournissant de l'oxygène et d'autres substances essentielles aux tissus et, en revanche, extrayant le gaz carbonique et d'autres produits résiduels qui, sinon pourraient empoisonner le système .

* Le sang aussi aide à détruire des micro-organismes porteurs de maladies et par sa capacité à coaguler il représente une partie importante du mécanisme de défense naturelle de l'organisme.

* Le sang n'est pas simplement un liquide, sa viscosité notable est du à la présence de millions de cellules dont les activités en font un tissu du corps outant qu'un os ou un muscle. Il est constitué d'un liquide incolor appelé plasma dont le quel flotent des globules rouges (érythrocytes), des globules blancs (leucocytes) et de très petites cellules appelées plaquettes [2].

II-1-1- Les constituants du sang :

II–1-1-1- Le plasma :

Le plasma est un véhicule pour le transport des carburants importants tels le glucose et les lipides de base. Parmi les autres substances acheminées par le plasma, se trouve le fer indispensable à la formation de l'hémoglobine et de nombreuse et importantes hormones, telle l'hormone thyroïdienne [2].

Le plasma se compose donc d'une solution aqueuse, de substances minérales, nutritives et de faibles quantités de molécules aussi

essentielles que les hormones plus d'autres constituants fondamentaux, les protéines qui en forment la majeur partie [2].

Le sérum c'est la partie liquide qui se sépare du sang après coagulation, de même composition que le plasma mais sans fibrinogène [9].

II-1-1-2- Les éléments figurés : sont les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes.

II-1-2- Les protéines sériques :

Les différentes fractions des protéines sériques obtenu par une électrophorèse pour un sérum humain adulte ce sont [5] :

- Albumine 50-60 %
- α_1 – globuline 3 – 5 %
- α_2 – globuline 7 – 10 %
- β – globuline 10 – 14 %
- γ – globuline 06 – 23 %

- **La fraction Albumine :**

C'est la fraction la plus importante du complexe protéinique [1]. L'albumine est fabriquée dans le foie c'est a la foie une source de nourriture pour les tissus et le responsable de la pression osmotique, qui maintien la partie liquide du sang dans les vaisseaux et donc dans les cellules [2]. C'est pratiquement la seule holoprotéine du sérum, sa part est selon les méthodes, de l'ordre de 60 p.100, son poids moléculaire est de 66000, elle est à chaîne unique mais, se polymérise facilement en milieu de PH acide, la séparation des différentes formes moléculaires est réalisée par une électrophorèse en gel de polyacrylamide [3].

Chaque molécule contient environ 570 acide aminé la demi- vie de la sérum albumine est de 17 a 26 jours. Un adulte normal en fabrique 12g par jour.

50 % de l'albumine du corps circule dans le sang et 50 % se trouve dans le compartiment extra-cellulaire, elle a pour valeur N = 40 - 50 g/l [1] / N : concentration g/l dans le sang.

Elle sert de matériau de base a l'édification de protéines plus complexe, permet le transport du calcium, et des pigments biliaires, et joue le rôle de système tampon du sang [6].

Le rôle biologique fondamental de la sérum albumine est la fixation et le transport des molécules de petites tailles, les conditions de se transport sont les suivantes :

- Il consiste aussi bien les molécules d'origine endogène que les molécules d'origine exogène, c'est ainsi que se fixent sur la sérum albumine des ions des acides gras, de la bilirubine, des hormones (thyroxine, cortisol, etc ....), de même que des antibiotiques (Pénicilline, auréomycine, des sulfamides, des vitamines (Vit C)).
- La fixation est solide, mais dans la plupart des cas, elle ne comporte pas la participation de liaisons covalentes.
- La fixation des métabolites est réversible.

- **Les variations pathologiques :**

La sérum albumine baisse physiologiquement pendant le second et le troisième trimestre de la grossesse est retrouvée a un taux au dessous de la normal encore 3 mois après l'accouchement. Son augmentation ne semble pas être caractéristique d'un ou plusieurs maladies.

Par contre sa diminution s'observe en cas de baisse de la synthèse de la sérum albumine, de l'augmentation de son rythme de dégradation ou d'une perte accrue de l'organisme en albumine c'est –à- dire principalement dans les circonstances suivantes [1] :

- Traumatisme grave spontané ou chirurgical.
- Brûlure étendues.
- Hémorragie prolongées, maladies cœliaques, résection digestives.
- Cirrhose.
- Altérations hépatique sévères, néphrose lipoidique et pratiquement tous les syndromes néphrotiques les néphrites chroniques avec Albuminurie permanentes [3].

Les variations pathologiques de la sérum albumine sont regroupées dans le tableau 1.

Protéines	**Taux sériques normale**	↓ **ou** ↑	**Pathologies**
L'Albumine	35 à 60 g/1	↓	- Malnutrition - Cirrhoses - Syndromes nephrotiques - Enthéropathie exsudative - Maladies infectieuses - Myélomes - Insuffisances cardiaques - Idiopathiques

Tableau 01 : Les variations pathologiques de l'albumine [4].

- **Les globulines sériques :**

Les globulines ont pour valeur N=25 - 35 g/l en électrophorèse sur papier, elle comporte les fractions suivantes : Alpha - 1, Alpha - 2, Bêta et Gamma [1].

- Les α - globulines :

Son poids moléculaire est de 120.000 environ, comprenant [1] :

* La sous fraction α_1: La plus faible des toutes physiologiquement, elle s'accroît modérément pendant les 6 derniers mois de la grossesse.

En pathologie :

- Après radiothérapie.
- Infections aiguës et chroniques.
- Néphropathies aiguës ou chroniques.
- Collagénoses (lupus érythémateux, périarthrite noueuse etc ..).
- Nécrose cellulaire hépatique.
- Syndrome néphrotique.

Les variations pathologiques de L'α_1 globuline sont regroupées dans le tableau 2.

Protéines	Taux sériques normale	↓ ou ↑	Pathologies
L'orosomucoide	0,4 g/l	↓	- Syndromes néphrotiques
		↑	- Le rhumatisme articulaire aigu (maladie de Bouilland) - Observations des voies biliaires

L'α_1 antirypsine	3 g /1	↑	- Processus inflammatoires - Les cancers - Les atteintes hépatiques - Les traumatismes - Au cours de la grossesse et lors de l'usage des contraceptifs oraux
		↓	- L'emphysème pulmonaire - La cirrhose hépatique juvénile
L'α_1 foetoprotéines	Sa concentration maximale (3,5) g/1 à la 12 semaines de la Gestation, pour decroite ensuite pratiquement disparaître à la naissance	↑ ↑	- Réapparaît anormalement lors du <u>Cancer primitif du foie</u> principalement (1 a 5 g/l) - On observe des taux moindres (1 a 5 g/l) mais cependant important, dans <u>les hépatites et les cirrhoses.</u>
La céruléoplasmine	0,35 g/1 chez l'homme 0,40 g/1 chez la femme	↑ ↑ ↑	- Augmente physiologiquement au cours de la grossesse, de même que sous l'influences d'une thérapeutique oestrogénique - Dans un autre domaine, on observe une augmentation nette du taux de céruléoplasmine sérique au cours des obstructions des voies biliaires

<u>Tableau 02</u> : Les variations pathologiques de L'α_1 globuline [10]

* La sous fraction α_2 : Augmentée au cours du deuxième et troisième trimestres de la grossesse .

- En pathologie :

- Thrombose de l'artère coronaire.
- Radiothérapie.
- Infections aiguës et chroniques.
- Néphropathies aiguës et chroniques, syndrome néphrotique.
- Hépatite virale , cirrhose.
- R.A.A polyarthrite rhumatoïde, goutte en poussée.
- Collagénoses (lupus érythémateux disséminé, périarthrite noueuse).
- Maladies de hodgkin et certains cancers.
- Sarcoidose.
- Syndrome de cushing.

Les variations pathologiques de L'α_2 globuline sont regroupées dans le tableau 3.

Protéines	Taux sériques normale	↓Ou↑	Pathologies
Les haptoglobines	1 g /l	↑	- Toutes les affections de type inflammatoire atteignant le tissu conjonctif.
		↑ ↑ (4 à 6) Fois le Taux normal	- Dans toutes les infections locales ou générales. - Les traumatismes - Les suites opératoires - Les pneumonies - Le rhumatisme - Les états cancéreux, etc.

		↑	- Tout taux d'haptoglobine contaminent supérieur a la normale, sans processus inflammatoire visible et sans fièvre, pendant des mois, est un excellent signe d'appel d'un infractus du Myocarde.
		↓	- Les atteintes hépatiques sévères (défaut de synthèse), cirrhose par exemple. - Les hémolyses
L'α_2 macroglobuline	2,5 g/l 5 g/l chez l'enfant	↑↑ (30 g/l)	- La néphrose lipoidique

Tableau 03 : Les variations pathologiques de L'α_2 globuline [10]

- Les β- globulines :

Son poids moléculaire est de 140.000 environ, comprenant les sous fractions β_1 et β_2 .La fraction β - globulinique sérique transporte entre autre des lipoprotéines, phospholipides et cholestérol, la prothrombine, la fibrinolysine .....etc [1].

Son augmentation survient en particulier chaque fois qu'il y a rétention lipidique pour une cause quelconque [1] :

- xanthomatose, hyperlipémie essentielle (athérosclérose).
- Cirrhose biliaire (rarement dans l'hépatite virale).
- Syndrome néphrotique.
- Myélome.

Les variations pathologiques de β globuline sont regroupées dans le tableau 4.

Protéines	Taux sériques normale	↓ ou ↑	Pathologies
La transférine ou Sidérophiline	2,5 g/l	↑	- La sidéropénie - En fin de grossesse - Les infections et les Inflammations
		↑ ↑	- La néphrose
		↓	- Les hémocromatoses et les hémosiderose après transfusion
			- Les cas d'atransferrinemie complète sont rarissimes (homozygolisme)

Tableau 04 : Les variations pathologiques de *β* globuline [10]

Les α et β globulines sériques ont été séparées par des méthodes électrophorétiques très résolutives, celles présentent le plus grand intérêt biologique sont [3] :

*** Dans le groupe des α_1 - globulines :**

- L'orosomucoide.
- L' α_1 - antitrypsine.
- L' α_1 - foetoprotéine.

*** Dans le groupe des α2 – globulines :**

- Les haptoylobines.
- L' α2 – macroglobuline.
- La ceruléoplasmine.

*** Dans le groupe des β – globulines :**

- La transférine.

Elle feront l'objet d'une brève étude de leur intérêt séméiologique chez l'homme, la céruléoplasmine et la transférine permettant le transport protéinique du cuivre et du fer [3].

- Les γ- globulines :

(Poids moléculaire moyen 300.000 environ).Ils forment un groupe hétérogène, constitué par 5 groupes d'immunoglobulines qui ont pour caractéristiques fonctionnelles essentielles, l'activités anticorps et sont produites sous l'influence de la stimulation antigénique par les cellules immunologiquement compétentes (taux normalement bas des globulines chez les nourrissons) [1].

Ces 5 groupes d'immunoglobulines sont [1] :

- Les groupes IgG ou γG globulines.
- Les groupes IgA ou γA globulines (anciennement B_2-A globulines).
- Les groupes des IgM ou γ - M globulines (anciennement B_2-M globulines).
- Le groupe des IgD ou γD globulines.
- Auquel s'ajoute le groupe des IgE ou γE globulines individualisés par des méthodes radioimmunologiques.

- En pathologie :

* Les hyper γ- globulines générales (ou polyclonales).

Elle se traduisent sur les électrophorégramme acétate de cellulose par la présence d'un pic important de γ- globulines, et en immunoélectrophorèse par l'existence d'un arc de γ- globulines très épaissie on les rencontre en clinique humaine pour l'essentiel dans [3] :

- Les infections.
- Les réactions d'hyperimmunisation (exemple de la périarthrite noueuse).
- Les maladies dites « du collagène » : elle sont nombreuses mais il s'agit surtout du lupus érythématheux décimées de la spondylarthrite ankylosante de la polyarthérite chronique évolution et de la sclérodermie affection hépatiques : cirrhose, hépatite infectieuse.

- Les hyper γ- globulines monoclonales :

Elles touchent spécifiquement une classe, une sous classe ou un allotype particulier d'imminoglobulines. Les deux principales sont : la macroglobulinémie de Waldenstrom Pedersen et les myélomes ou maladie de Kahler [3].

- Les hypo γ- globulinémies :

La diminution partielle du taux sérique ou l'absence en ce totale de γ-globulines s'observe dans certaines nombre d'affections et résulte soit d'un défaut de synthèse, soit d'un catabolisme ou d'une élimination accrus.

- **Défaut de Biosynthèse** : congénital, secondaire et transitoire.
- **Augmentation de l'élimination :** Ces causes sont multiples, a titre d'exemples, on peut citer l'hypogammaglobulinémie des grandes brûles ou celles du malade atteint de néphrose lipoidique dont l'élimination urinaire est particulièrement importante [3].

Les variations pathologiques de γ globuline sont regroupées dans le tableau 5.

Protéines	**Taux sériques normale**	**↓Ou↑**	**Pathologies**
γ - globulines	7-15 g/l		
IgG		↑	- Syndromes inflammat. - Cirrhoses - Myélome à IgG
IgA		↑	- Cirrhoses - Myélome à IgA
IgM		↑	- Maladie de Waldenstrom Parasitoses
IgD		↑	- Myélome à IgD - Maladie de Wilson
IgE		↑	- Allergies (Asthme) - Parasitoses - Myélome à IgE

Tableau 05 : Les variations pathologiques de γ globuline [4].

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 [12]. Pour être complète, la connaissance de la biosynthèse des 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. 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 [13].

II-1-3-1- Mécanisme de la biosynthèse protéinique :

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. On étudiera successivement [13, 3] :

- La transcription de l'AND en ARN messager,
- La traduction de l'ARN messager en protéines, qui comportera :
  - L'activation des aminoacides.
  - Leur fixation sur les ARN transfert.
  - L'initiation de la chaîne polypeptidique.
  - L'élongation de cette chaîne.
  - La terminaison de la chaîne et sa libération.

II-1-3-1- Rôle des acides nucléiques dans la biosynthèse des protéines :

Les deux grandes classes d'acides nucléiques, acide désoxyribonucléiques et ribonucléiques, sont impliquées à des titres divers dans le mécanisme de biosynthèse des protéines .

L'un, l'ADN, intervient dans la transmission de cette information. En d'autres termes, l'ADN est le support du génotype alors que l'ARN est impliqué dans l'expression phénotypique de ce génotype [13].

II-1-4- Biosynthèse des protéines sériques :

- **La sérumalbumine , les α et β - globulines :**

Sont synthétisés dans le foie et représentent à peu prés la moitié des protéines produites par cet organe. Leur demi-vie est très courte : 7 jours pour la sérumalbumine, 10 jour pour les globulines.

Il y a donc une synthèse et une dégradation très actives des protéines plasmatiques, elles sont utilisées par les tissus comme source d'aminoacide pour leurs propres synthèses et constituent donc une forme de transport des acides aminés, élaborée dans le foie à partir des acides

aminés alimentaires provenant de l'hydrolyse des protéines et absorbés par la muqueuse intestinale [13].

- **La synthèse des anticorps :**

A lieu dans les plasmocytes des ganglions lymphatiques, de la moelle osseuse et de la rate. On a cherché le mécanisme par le quel la formation des globulines anticorps s'inscrivait dans la chaîne des réactions de la biosynthèse des protéines.

- Deux théories ont été formulées avant l'avènement des conceptions actuelles sur les synthèses protéiques et la transmission de l'information génétique [13] :

II-1-4-1- La théorie sélective d'ehrlich :

Suggère que les antigènes sélectionnent parmi un grand nombre de protéine réceptrices celles qui peuvent se combiner spécifiquement à eux ; la combinaison une fois produite stimule la régénération et la sécrétion de ce type de molécules qui apparaissent dans la circulation

II-1-4-2- La deuxième théorie :

Invoque une interférence de la molécule d'antigène avec le processus normal de formation de globulines de telle façon que les molécules des globulines anticorps nouvellement formées s'ajustent par un appariement complémentaire aux déterminants spécifique de la molécule d'antigène pour concilier les diverses théories avec les notions actuelles de biologie moléculaire, il convient de préciser le stade de la biosynthèse des protéines avec lequel interférent les déterminants antigéniques .

L'intervention à l'étape de la réplication de l'ADN peut être exclue, la principale objection étant que les cellules produisant des anticorps ne forment pas de cellules filles capables également de les produire en l'absence d'un contact avec l'antigène.

On a réuni par contre des données suggérant l'intervention des antigènes au cours de la transcription de l'information génétique de l'ADN au $_m$ARN ou pendant la biosynthèse des chaînes polypeptidiques avec la participation des divers ARN .

Des différences légères mais significatives ont été mises en évidence dans le comportement chromatographiques des peptides provenant des anticorps antisérumalbumines de l'homme et du cheval, et des anticorps produits par des poly- saccharides du pneumocoque .

La mise en évidence de déterminants antigéniques dans la fraction microsomale et mithochondriale de la rate et des cellules du foie, et de combinaisons de fragments d'antigènes avec l' ARN ou d'autres fractions d'ARN suggère une interférence avec le processus de la formation de la chaîne polypeptidique.

- Aussi une hypothèse a - t- elle été formulée selon la quelle des déterminants antigéniques se lient aux ribosomes ou aux $_m$ARN de telle façon que des forces intermoléculaires entre l'antigène et la machinerie qui préside à la naissance de la chaîne peptidique conduisent à l'éjection des amino-acyl-t ARN qui ne forment pas une chaîne peptidique susceptible de se plier d'une façon complémentaire avec la matrice de l'anticorps, et à leur remplacement par d'autres .on assisterait en somme à une modification de la « lecture » du code inscrit dans l'm ARN, comme dans le cas de la streptomycine.

L'objection essentielle à une telle théorie le maintien de la formation d'anticorps longtemps après l'introduction de l'antigène.

Il faut cependant noter que les essais effectués sa l'aide d'antigènes marqués ont démontré leur persistance dans les cellules de très longues périodes et qu'avec l'éloignement du délai de l'introduction de l'antigène, le taux d'anticorps diminue.

En somme, si de réels progrès ont été réalisés dans nos connaissances sur la biosynthèse des anticorps, de nombreux problèmes restent encore à résoudre.

II-1-5- Régulation de la biosynthèse :

II-1-5-1- Régulation génétique :

Le mode de régulation de l'activité de la synthèse n'est par encore élucidé, mais des hypothèses fondées sur un grand nombre de faits expérimentaux méritent d 'être exposées dés à présent [fig.1].

Ainsi selon Jacob et Monod, des associations de gènes se trouvent situées tout le long de la chaîne d'ADN. Des fragments de cette chaîne, qui correspondent à des gènes opérateurs et promoteurs, commandent l'arrêt ou le déclenchement de la transcription de l'ARN messager des séquences de nucléotides d'autres fragments d'ADN qui constituent les gènes de structure.

L'activité de ces opérateurs peut être inhibée par des répresseurs ou s'exercer grâce

A l'inactivation du répresseur par un composé exogène : un inducteur spécifique. La production du répresseur se trouverait sous la dépendance d'un autre fragment d'ADN qui constitue le gène régulateur.

Par exemple, dans le car du galactoside qui induit chez l'E.coli la formation de B-galactosidase , le répresseur sera inactivé par le galactoside : c'est l'induction enzymatique .

* A l'opposé, un acide aminé présent dans le milieu agit comme corépresseur, activant le répresseur qui transmettra l'information à l'oppérateur four faire cesser la transcription des $_{m}$ARN des enzymes nécessaires à la production de cet acide aminé : c'est la répression enzymatique.

Le mécanisme de régulation, qui s'inspire d'observation faites chez les bactéries, peut-il s'applique aux animaux supérieurs !

Chez ces derniers, il existe des phénomènes d'induction enzymatique : l'administration de certains acides aminés provoque dans le foie la synthèse d'enzymes capables de les métaboliser, on a également observé que certains aliments stimulent la synthèse des enzymes digestifs qui les dégradent.

Il faudra en tout cas expliquer l'action de facteurs qui modifient le niveau de synthèse protéique chez les animaux supérieurs, telles les hormones par exemple.

On sait aussi que, chez les être supérieurs, une régulation de dégradation se surajoute à la régulation de biosynthèse [13].

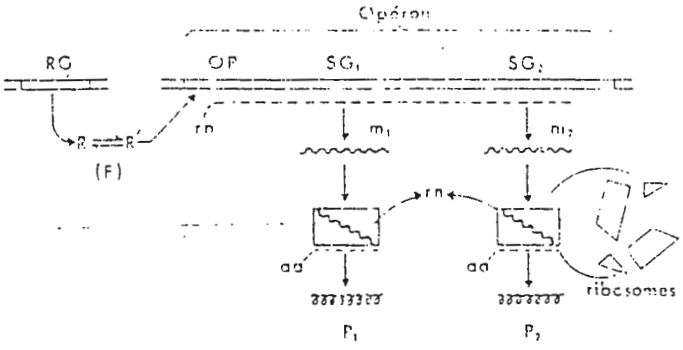


FIG. 4. — *Représentation schématique de la régulation de la synthèse des protéines* (d'après Jacob et Monod).

RG : gène régulateur, O : opérateur, P : promoteur, SG : gène structural, *rn* : ribonucléoside triphosphate, *m* : ARN messager, *aa* : acide aminé, P_1, P_2 : protéines, R : produits fournis par le gène régulateur, R' : répresseur qui résulte de l'action d'un composé exogène sur le produit du gène régulateur. [13]

II-1-5-1- Régulation hormonale de la biosynthèse des protéines :

Actuellement, on sait que les hormones ont des actions multiples. Que chaque cellule ou tissu possède diverses modalités sélectives de réponse à l'action hormonale, que la biosynthèse protéinique ne dépend pas que d'une seule hormone, que divers tissus répondent très différemment à une même hormone et qu'enfin dans l'ensemble, les hormones agissent sur la biosynthèse des macromolécules lorsqu'elles sont à très faible concentration, exerçant un effet toxique à doses élevées.

L'effet des hormones se manifeste sur la biosynthèse des ARN l'administration d'œstrogènes ou d'hormone thyroïdienne stimule rapidement pour les premiers, plus lentement pour la seconde, la biosynthèse des acides ribonucléiques nucléaires in vivo comme in vitro [13].

- Dans les résultats in vivo, on observe pour l'utérus de rat une stimulation de 500 p.100 au bout de quelques minutes par les œstrogènes.

Tous ces résultats ont été acquis en observant l'incorporation de précurseurs nucléotidiques radioactifs.

- Toutes les classes d'acides nucléiques sont affectés par cette augmentation, et non pas la seule classe d'ARN messager. Cependant, il est remarquable de constater que la stimulation de l'ARN polymérase in vitro par action hormonale est spécialement marquée dans les conditions ou cet enzyme produit de l'ARN ribosomal.

Garren avait même proposé ce métabolite comme intermédiaire dans l'action exercée par l'ACTH sur la biosynthèse protéinique dans le tissu surrénal. Il est possible que l'AMP cyclique puisse, dans certains cas, expliquer les réactions rapides à l'administration d'hormone. Il versement, on explique mal ainsi les réactions tardives, pas exemple la biosynthèse des structures membranaire du réticulum endoplasmique.

- Le problème du mécanisme d'action des hormones sur la biosynthèse des protéines a donc bénéficié d'un grand nombre de résultats. Mais les mécanismes moléculaires précis sont encore pour une large part du domaine de l'hypothèse [13].

II-2- Etude de la plante Ranunculus repens :

II-2-1- Les Ranunculacées :

La famille des ranunculacées qui, selon les botanistes comprendrait une quarantaine de genres et 1500 à 1800 espèces est cosmopolite mais surtout présente dans les région tempérées et froides de l'hémisphère nord [15].

Certaines-ranunculacées se classent parmi les plus toxiques de la flore terrestre c'est le cas des aconits d'autres constituent une réelle menace pour les trou peaux, c'est le cas des dauphinelle.

Certaines plantes très abondantes comme les boutons d'or, les clématites ou les anémones peuvent induire de sérieux problèmes cutanés du fait des lactones qu'elles libérant [16].

II-2-2- La Ranunculus repens :

La *Ranunculus repens* est une espèce de la famille des ranunculacées, sa souche est courte, ces racines fibreuses. L'appareil végétatif comprend habituellement des rosettes et des stolons rampants, radicants aux nœuds des feuilles des rosettes, longuement pétiolées, comptent 3 segments tripartites incisés- dentés pétiolulés. Les tiges florifères sont dressés le pédoncule floral est sillonné, les sépales étalés, le réceptacle couvert de poils, le fruit est un akène à bec grêle [16].

II-2-3- Les propriétés thérapeutiques de Ranunculus repens :

comme toutes les ranunculacées, le bouton d'or ne doit pas être employer par voie interne , sa saveur âcre, on le dit vénéneux à cause du principe actif de renoncule présent dans toute la plante, on l'utilise rarement par voit externe en cataplasme cellulaires myalgies du nerf

sciatique, les racines de certaines renoncules sont antihémoroidales (*Ranunculus ficaria*)

Leurs feuilles sont utilisées comme cicatrisant pour les ulcérés tropides [15].

II-2-4- La toxicité des Renoncules :

On peut trouver des allusions à la toxicité des renoncules pour le bétail, l'expérimentation a démontré que les vaches pouvaient consommer jusqu'à 25kg par jour de renoncule acris, pendant deux semaines, sans inconvénients on peut cependant signaler la mort, après un épisode de difficultés respiratoires et de diarrhée sanglante, de 5 vaches sur le point de vêler, 14 jour après avoir été mise dans une prairie pauvre à forte densité renoncules : les constatations faites post mortem font état d'une hémorragie intestinale, d'un foie et de reins graisseux. On a également signalé des boursoufles (museau, lèvres, etc) chez un chien (R. acris)[16]

- La plante sèche n'induisant que des troubles mineurs, il est possible que la protoanémonine soit, au moins pour partie, à l'origine de l'effet toxique . Il a effectivement été démontré que cette espèce renferme, au début de la période de floraison 2,5% de sa masse sèche de protoanémonine, ultérieurement, cette teneur diminue (1.1 à 1.2 %) lors de la fructification[16]

Assez récemment, une photosensibilisation secondaire à une hépatotoxicité observée au tennesse chez une génisse charolaise à été attribuée, font d'autres explications plausibles, a une consommation excessive de renoncule bulbeuse; curieusement, les autres bêtes du troupeau- 600 têtes- n'ont pas été atteintes. Enfin, et de façon tout à fait anecdotique[16]

III
Matériel et méthodes

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي

III -1- Préparation de l'extrait brut de Ranunculus repens

Pour une préparation de l'extrait brut de la *Ranunculus repens,* la plante à été laissée sécher puis broyée ensuite, une quantité de 200g de cette matière a été imprégnée dans un mélange de 70 % du méthanol et 30 % de l'eau distillée pendant 72 heures, puis filtrée. Après, le méthanol et l'eau ont été éliminés par évaporation par le Rota vapeur.

Enfin, un extrait a été récupéré du Rota vapeur ce dernier est l'extrait brut administré aux rats.

III-2- Entretien et traitement des animaux :

Les animaux ont été traités par l'extrait brut de la plante *Ranunculus repens*. L'administration à été faite par voie orale, d'une dose unique de 5 ml/kg, les animaux sont réparties en deux lots :

- Premier lot : 2 animaux, servant de témoin.
- Deuxième lot : 3 animaux, traités par l'extrait brut de la plante, *Ranunculus repens* :

Les animaux qui out été utilisés pour cette étude, sont des rats Wistars femelles pesant 200g environ .

III-3- Prélèvement sanguin :

Le sang est prélevé au niveau de l'œil (sinus recto orbital) du rat par des tubes d'hématocrite. Pour une analyse biochimique qui consiste à un dosage des protéines sériques, le sang est prélevé sur tube- sec, il est en suite centrifugé à 4000 tour /mn pendant 10 mn, le sérum ainsi obtenu peut être conservé à 20 °c.

III-4-Dosage des protéines sériques :

III-4-1- Dosage des protéines totales :

Il est réalisé par la technique de Bioret vingt tubes a essais sont préparés, le premier servant d'étalon, contenant 0.05 ml du réactif témoin et 2.5 ml du réactif de Bioret.

Les autres tubes contenant chacun 0.05 ml de sérum a analyser au quel on additionne 2.5 ml de réactif de Bioret, dont 1 l de ce réactif contient 100mmol de la soude, 16 m mol du tartrate de sodium et de potassium , 15mmol d'iodure de potassium et 6mmol de sulfate de cuivre .La préparation d'un flacon du réactif de Bioret consiste a le dilué avec 400 ml d'eau distillée.

Les tubes sont laissés 30 mn à la température du laboratoire (20 - 25) °c et a l'obscurité. Les densités optique sont lues au spectrophotomètre (A.S.A, Junior) à 546 nm en réglant le zéro de l'appareil sur l'eau distillée.

III-4-2- Dosage des protéines sériques par électrophorèse :

Le terme « électrophorèse » fut introduit en 1907 par Michaelis, pour caractériser la migration de particules coloidales dans un champ électrique, cette technique a connu son premier développement en 1937, grâce a l'appareillage d'électrophorèse en vaine liquide mis au point par Tiselius [3] .

La vraie découverte de l'électrophorèse été en 1892 par SE . Linder H. Picton [8].

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي

III- 4-2-1- Principe de la séparation électrophorétique :

Une particule chargée soumise a un champ électrique continu, se déplace avec une vitesse qui est la somme de 3 composantes; VE , Ve , VF telles que : V= VE +Ve + VF.

Ainsi avec une solution tampon dont le PH est supérieur au point isoélectrique de la particule. (La particule étant alors en partie ou en totalité) sous forme anionique.

- VE représente la vitesse électrophorétique dirigée vers l'anode.
- Ve symbolise la vitesse du courant d'électroendosmose : le support se charge négativement par rapport à la solution et il se forme un flux liquidien dirigé vers la cathode.
- VF est l'expression de la vitesse du courant de liquide qui compense l'eau évaporée par l'échauffement du tampon (courant d'évaporation ou rhéophorèse).

En supposant que le dépôt ait été réalise prés de l'extrémité cathodique, la superposition des trois phénomènes aboutit pour chaque particule chargée à l'existence d'une zone d'équilibre pour laquelle VE=Ve + VF. Dans la moitié cathodique du support VE et VF sont de même sens mais dans la moitié anodique, Ve et VF s'opposent tous deux à VE. Comme VF diminue au fur et a mesure que l'on s'approche du centre du support, il existera toujours une zone ou la résultante de ces vitesses est nulle à condition que l'évaporation soit suffisamment importante. Cette zone se situe généralement dans la moitié anodique pour une particule non chargée, il existe également un équilibre pour Ve= VF et cet équilibre ne peut se produire que dans la moitié cathodique du support : c'est la zone neutre (matérialisable par le

déplacement de la ligne de dépôt , ce qui réduit l'espace utilisable pour la séparation) [5].

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

▪ 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 [11].

▪ La charge :

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

$$U = \frac{1}{6\pi\eta} \times \frac{q}{I}$$

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

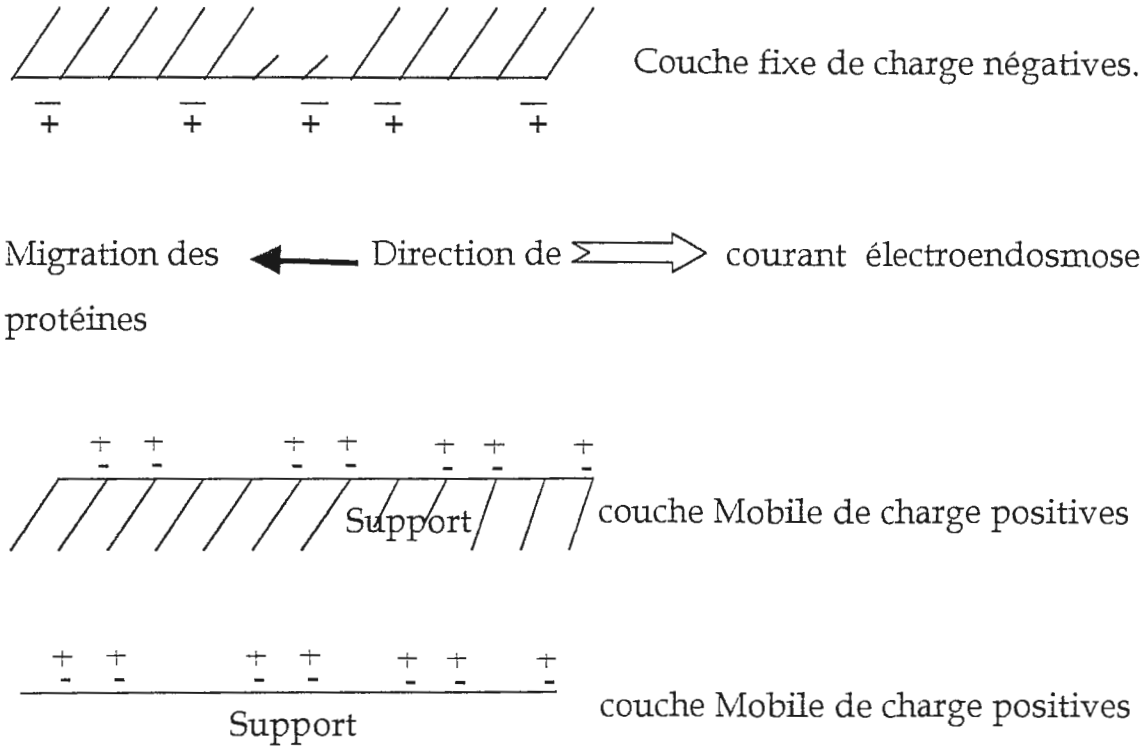
Exemple : protéine sériques, on emploie tampon véronal de PH = 8.6 et de force ionique I = 0.05. A ce PH, toutes les fractions sont chargées négativement et migrent vers l'anode [11].

▪ Le champ électrique :

En électrophorèse de zone , le déplacement d'une protéine dépend du champ électrique. Il doit être maintenu constant durant la migration [11].

▪ Les courants liquidiens :

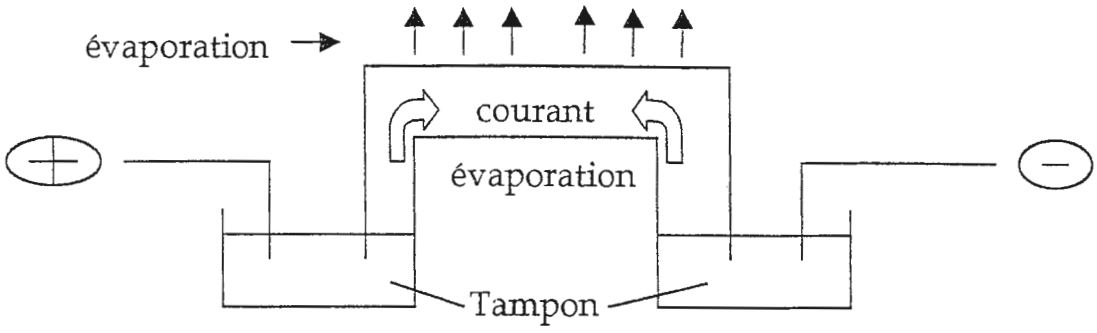
Il sont particuliers à « l'électrophorèse sur support ». La relation de la migration d = U x E x t n'est plus vérifiée. Il existe trois sortes de courants liquidiens.



Les protéines migrent dans la direction inverse du champ , donc le courant d'électroendosmose s'oppose au déplacement des protéines [11] .

▪ Le courant d'évaporation (ou rhéophorèse) :

L'eau s'évapore au niveau de la surface de la bande comme celle-ci plonge dans le tampon, il s'établit depuis chaque extrémité un courant liquide qui tend à compenser l'évaporation [11] .



- **La durée de migration :**

La migration est 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. Celle-ci se superposent et le pouvoir de résolution de l'électrophorèse diminue.

- **Facteurs liés au support :**

Les propriétés adsorbantes du support se manifestent à l'égard des protéines et vont freiner leur migration [11].

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

Une bande d'acétate de cellulose est marquée sur son extrémité qui sera le coté cathodique puis immergée dans une solution à PH= 8.6 et une force ionique de 0.05 pendant 20 mn. La solution tampon est composée du véronal acide et du véronal basique. Après une quantité de 3ml (pour chaque échantillon) du sérum est déposée au niveau de la bande à l'aide d'un applicateur centrale et 4mm des bords de la bande pour éviter les effets de bords. Ensuite, après la préparation de la cuve par ajustement des niveaux de liquide dans les deux compartiments, la bande est déposée dans la chambre de migration soumise d'un champ

électrique (courant continu de 180 v). La continuité électrique est assurée par des ponts papier imbibés eux mêmes de tampon . Les protéines migrent différentiellement selon leurs charges électriques, sous l'influence du champ électrique. Après 15mn de migration, les protéines sériques sont révélés par une coloration spécifique. La bande est trompée successivement dans du rouge panceau (une boite diluée dans 100 ml d'eau distillée).

Pendant 6mn précises , puis dans des bains successifs d'acide acétique a 5% pendant 5mn pour la décoloration . Ensuite dans un bains de méthanol pur pendant 4 mn pour la déshydratation et enfin dans un mélange composé de (67 % de méthanol pur 29 % d'acide acétique , 4 % de la solution clarifiante pour la transparisation pendant 5 - 10 mn. Après le dernier bain , la bande est égouttée pendant 1 mn (en le plaçant verticalement sur un coin) puis mise dans l'étuve (acétate vers le haut) pendant 10 mn entre 50 °c et 60 °c . En fin , elle est introduite dans un appareil qu'on appelle densitomètre pour une lecture final a une langueur d'onde de 525 nm (Fig2,3) .

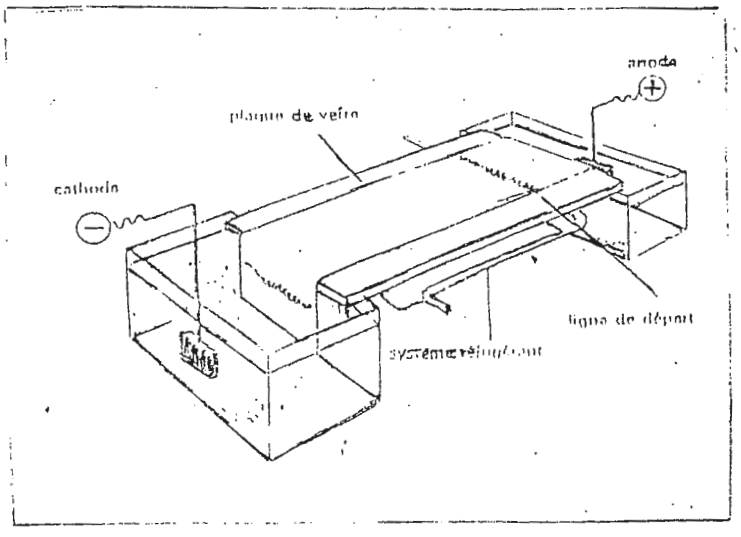


Fig. 2 : Electrophorèse sur acétate de cellulose.

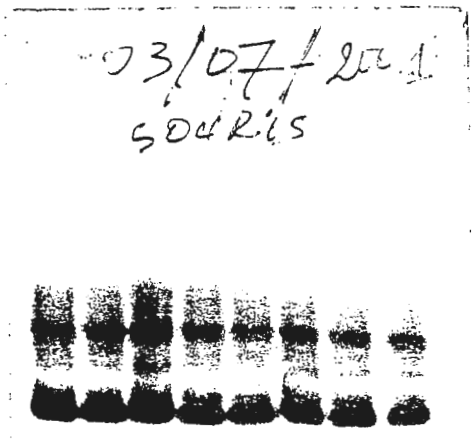


Fig.3 : La séparation des protéines sériques par électrophorèse sur acétate de cellulose.

III-4-3- Evaluation quantitative des protéines sériques par le densitomètre :

Sur l'électrophorégramme obtenu après fixation et coloration des bandes d'acétate , on distingue cinq fractions d'épaisseur et d'intensités différentes :

Albumine , α_1, α_2,β et γ globulines .

Pour la détermination quantitative de chaque fraction protéique, la bande est introduite, dans un densitomètre a lecture automatique qui trace la courbe des densités optiques obtenues pour chaque position de la bande .

La courbe obtenue est schématisée (fig.4).

L'air sous la courbe, représente l'ensemble des protéines sériques et la surface de chaque pic l'une de ces protéines .

Le rapport de la surface de chaque pic de protéine sur la surface total exprime alors le pourcentage de cette protéine [18] .

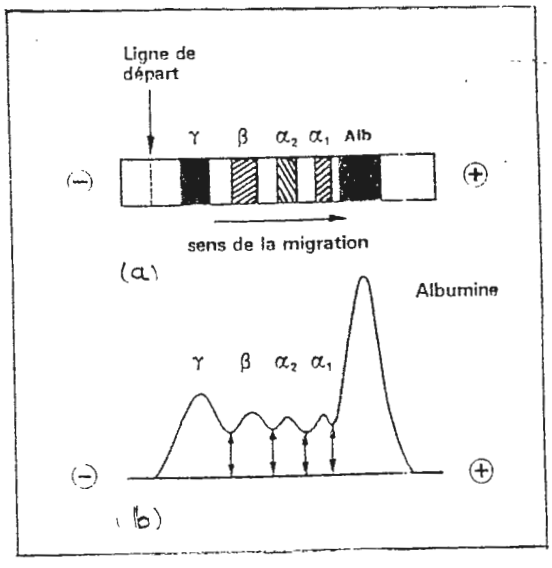
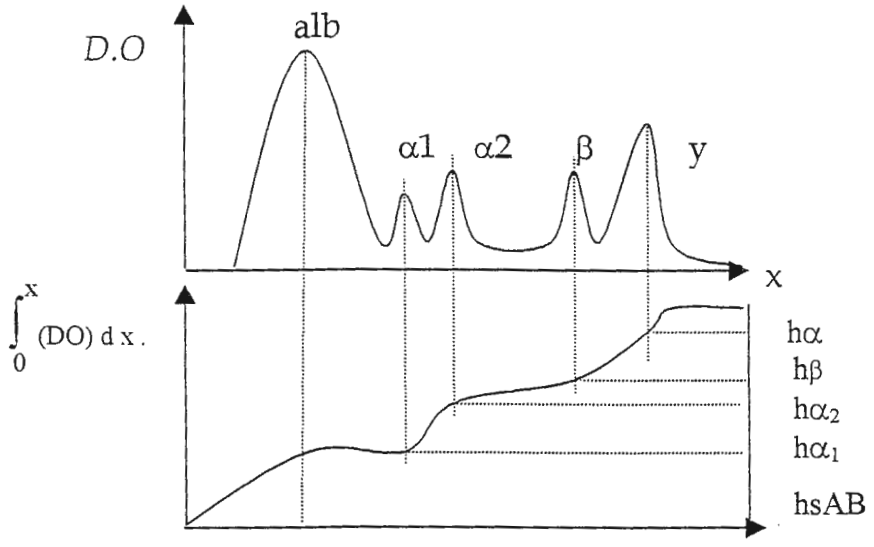


Fig.4 : Schéma d'un l'électrophorégramme (a) et la courbe correspondante obtenue après lecture densitométrique de chaque bande d'un sérum de rat témoin [18]

Dans la lecture densitométrique , un photomètre mesurant l'absorbance des fractions colorées . Pour tracer la coudre D.O = F. (x) .

Les densitomètres sont équidés d'un intégrateur qui trace la courbe :

$$s = \int_0^x (DO)\, dx .$$



La hauteur h_x est proportionnelle à la concentration de la fraction protéique.

La teneur d'une fraction x est égale à : Teneur = $\frac{h_x \times 100}{H}$ [11].

Dans la plupart des cas , toutefois on utilise un appareil enregistreur qui permet de mesurer les variation de la quantité du colorant fixée a la bande tout au long de celle-ci . C'est ce qu'on appelle , un densitomètre (Fig. 5) .

La bande d'électrophorèse passe entre une source lumineuse et une cellule photoélectrique, la quantité de lumière parvenant à celle-ci est inversement proportionnel 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 présentes. 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 chumineux 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 langueur, 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 comme le taux des protéines totales a été mesuré par ailleurs.

On peut en déduire la quantité de chaque fraction en grammes par litre [17].

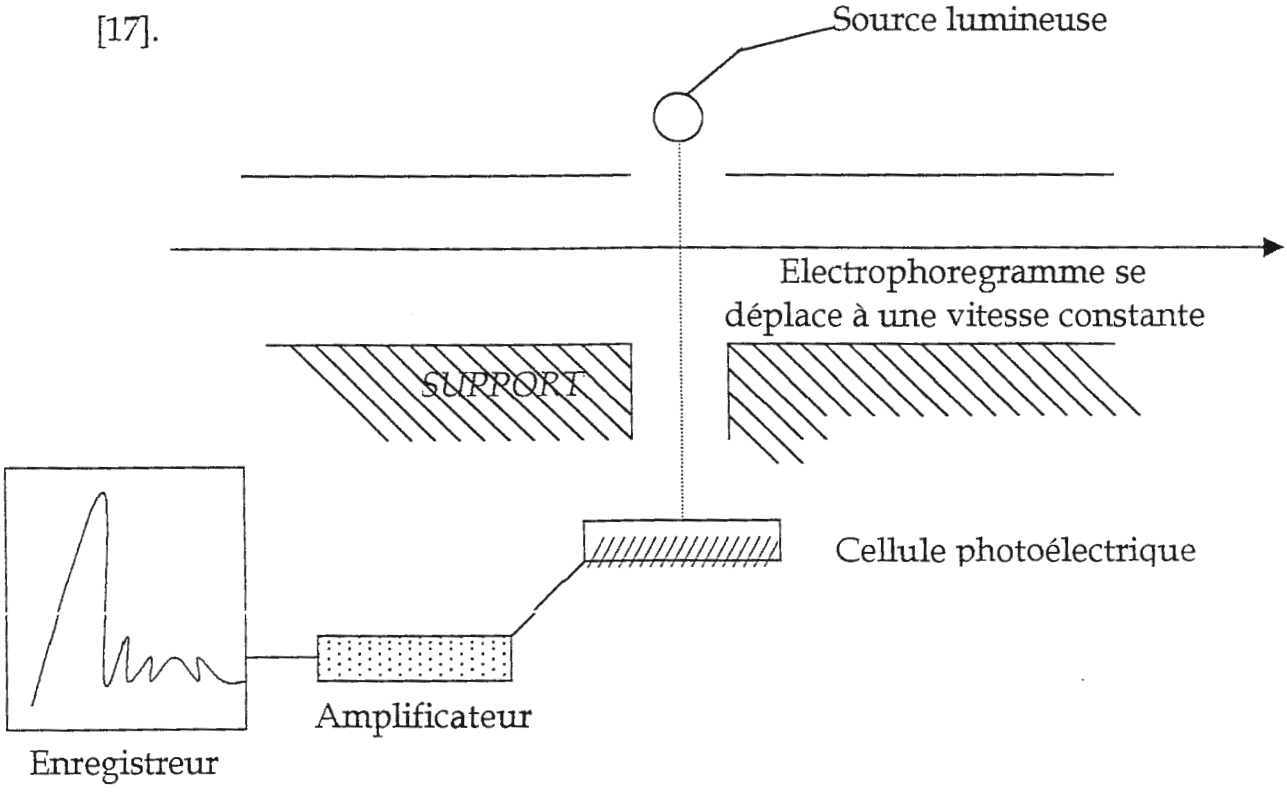


Fig. 5 : Lorsque la bande d'électrophorèse se déplace entre la source lumineuse et la cellule photoélectrique, celle-ci débite un courant variant avec la quantité de lumière absorbée par le colorant lié au zone correspondant les protéines, et ces variations apparaissent sur l'enregistrement [17].

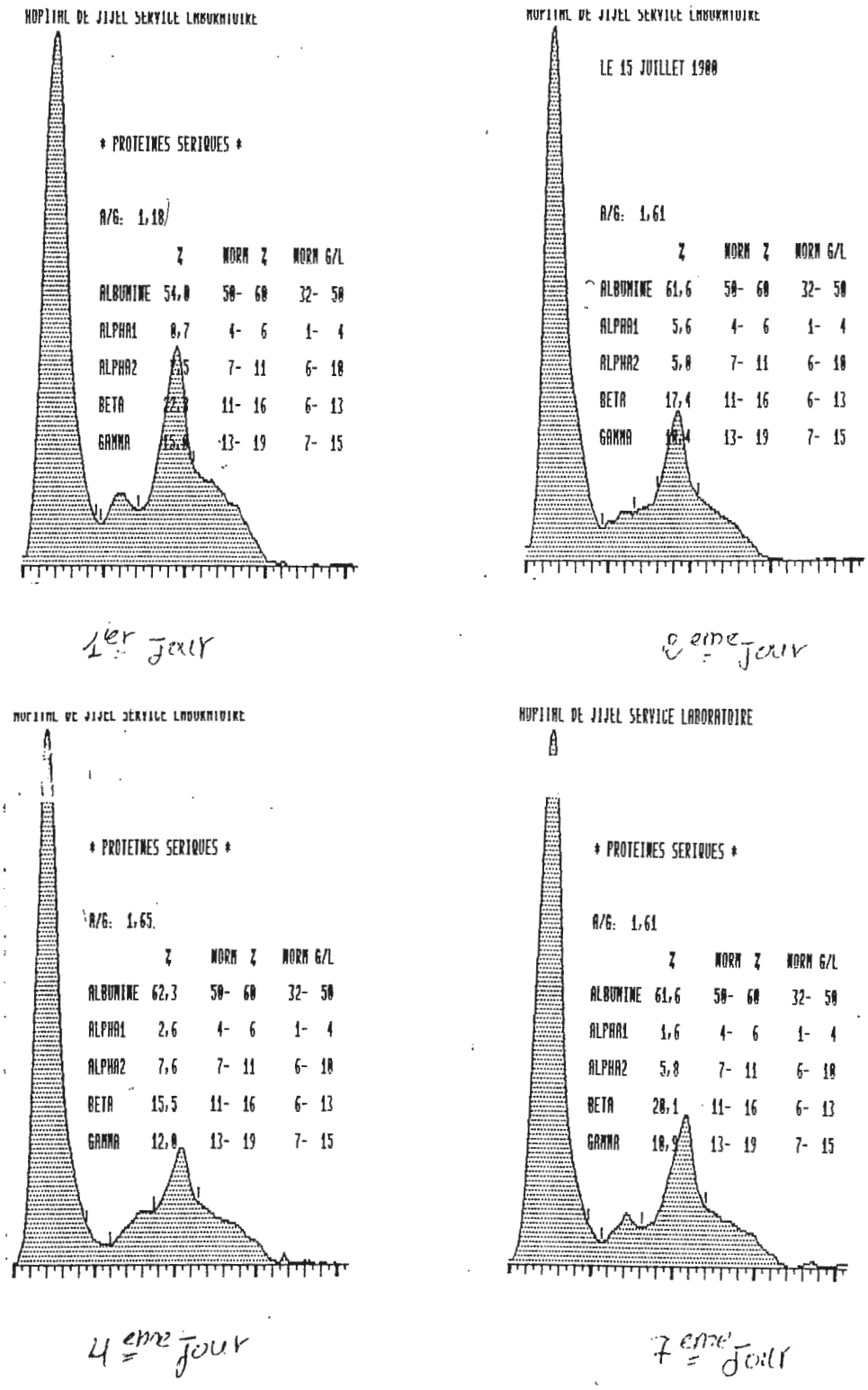


fig 5 : Exemples des électrophorégrammes issus de la lecture densitométrique

IV
Résultats

Afin de déterminer l'effet du *Ranunculus repens* sur les protéines sériques une dose unique de 5 ml/kg de l'extrait brut de la dite plante a été administrée aux rats Femelles Wistar, Albinos.

IV -1- Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux suivants :

a) Variation quantitatives des protéines totales :

Ces variations sont regroupées dans le tableau 6.

Temps	1er jour		2eme jour		4eme jour		7eme jour	
Moyenne des protéines totales (g/l)	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
	76	86	77,5	77	68	83	81	91,3

Tableau 6 : Variation quantitatives des protéines totale en fonction du temps après administration orale d'une dose unique de 5ml/kg du l'extrait brut du *Ranunculus repens*.

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

b-1- Après 24 heures :

Protéine	PT		*Alb*		α_1		α_2		β		γ	
La moyenne %	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
	-	-	59.2	56.03	1.6	1.5	8.8	5.63	18.6	23.2	11.8	13.63
La moyenne g/l	76	86	44.99	48.18	1.21	1.29	6.68	4.84	14.13	19.95	8.96	11.72

Tableau 7 : Variation quantitatives des protéines totales après 24 heures.

b-2- Après 48 heures :

Protéine	PT		*Alb*		α_1		α_2		β		γ	
La moyenne %	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
	-	-	58.8	58.76	5.15	4.23	6.95	6.1	18.45	22.03	10.65	8.86
La moyenne G/l	77.5	77	45.47	45.24	3.99	3.25	5.38	4.69	14.29	16.96	8.25	6.82

Tableau 8 : Variation quantitatives des protéines totales après 24 heures.

b-3- Après le 4eme jour :

Protéine	PT		*Alb*		α_1		α_2		β		γ	
La moyenne %	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
	-	-	42.63	52.2	1.56	1.18	4.14	5.75	11.18	13.47	8.46	10.7
La moyenne G/l	68	83	62.7	62.9	2.3	1.43	6.1	6.93	16.45	16.23	12.45	12.9

Tableau 9 : Variation quantitatives des protéines totales après le 4eme jour.

b-4- Après le 7eme jour :

Protéine	PT		*Alb*		α_1		α_2		β		γ	
La moyenne %	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
	-	-	51.8	61.65	2.7	2.1	14.2	7.05	17.3	15.65	14.8	13.1
La moyenne G/l	81	91.3	41.95	56.28	2.18	1.91	11.5	6.43	14.01	14.28	11.98	11.96

Tableau 10 : Variation quantitatives des protéines totales après le 7eme jour.

c) Le rapport albumine sérique / globulines sériques :

Temps	1er jour		2eme jour		4eme jour		7eme jour	
La moyenne g/l	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr	Tm	Tr
	1.45	1.28	1.44	1.51	1.69	1.65	1.08	1.61

Tableau 11 : le rapport albumine sérique/ globulines sériques

IV-2- Interprétation des résultats

III-2-1- Détermination quantitative des protéines sériques :

a) Après 24 heures :

Selon la figure (7), on observe une augmentation de l'albumine , la γ et la β- globuline des rats traités par rapport au rats témoins, en revanche on remarque une diminution de l'α_2 globuline, Cependant l'α_1 globuline reste stable.

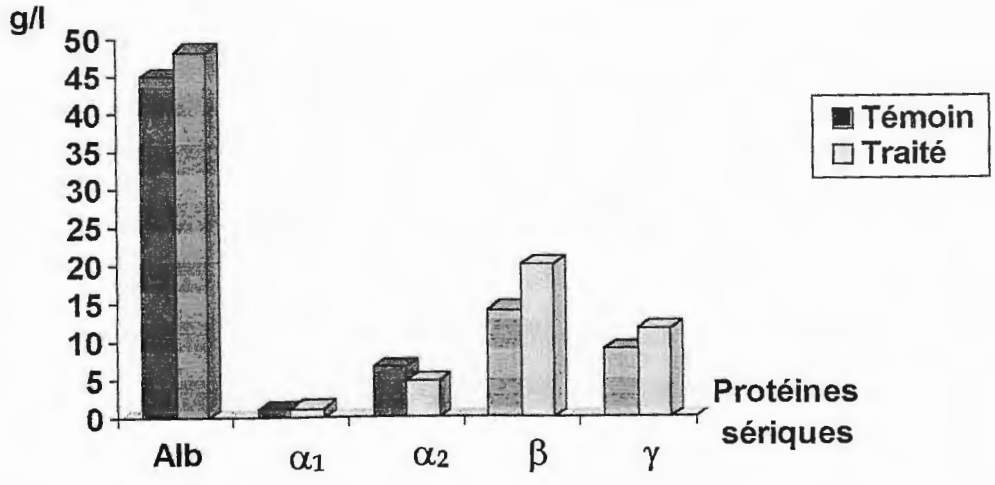


Fig .7 : Quantité des protéines sériques en g/l après 24 heures

b) Après 48 heures :

On remarque une faible diminution de l'albumine de l'α_1, l'α_2-globulines et du γ-globuline des rats traités par rapport au rats témoins. En revanche, on remarque une augmentation de la β- globuline (Fig 8).

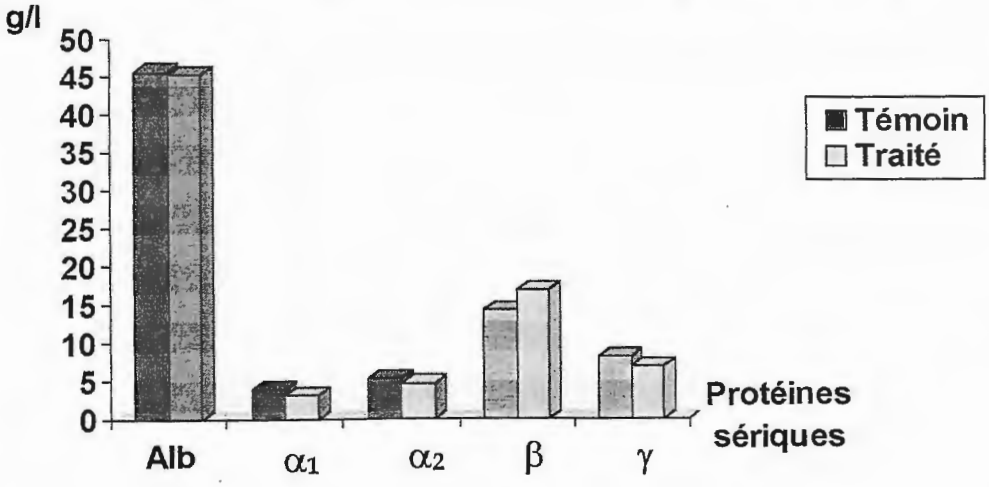


Fig 8 : Quantité des protéines sériques en g/l après 48 heures

c) Après le 4ème jour :

Selon la figure (9), on observe une augmentation légère de l'albumine, α_2 et γ-globulines des rats traités par rapport au rats témoins, par contre α_1 et β-globulines restent presque stables.

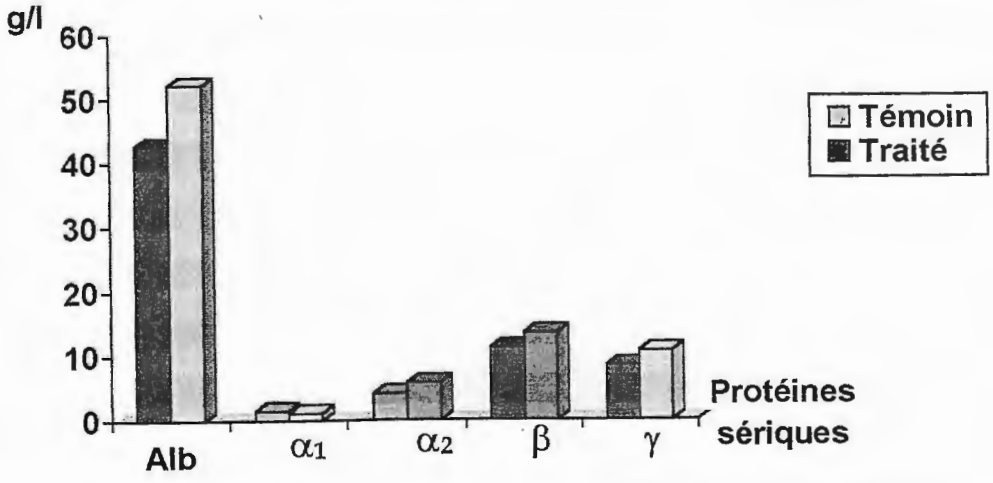


Fig 9 : Quantité des protéines sériques en g/l après le 4eme jour .

d) Après le 7ème jour :

On constate une augmentation importante de l'albumine et de l'α_2-globuline et une légère augmentation de l'α_1, β et γ-globulines des rats traités par rapport au rats témoins, cependant le taux de l'α_2 diminue (Fig. 10) .

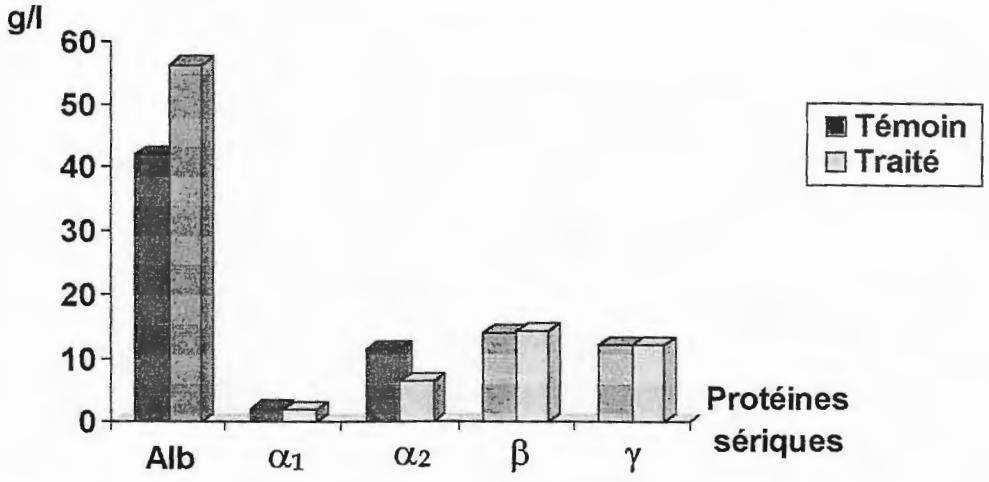


Fig. 10 : Quantité des protéines sériques en g/l après le 7eme jour

IV-2-1- Selon les courbes :

a) Evolution des différents fractions protéiques en fonction du temps :

On constate que l'albumine diminue après l'administration, elle passe de 46,5 g/l à 43 g/l. Au de la des 45 heures elle augmente sensiblement est atteint une concentration de 59g/l pendant le 7ème jour (fig. 11) .

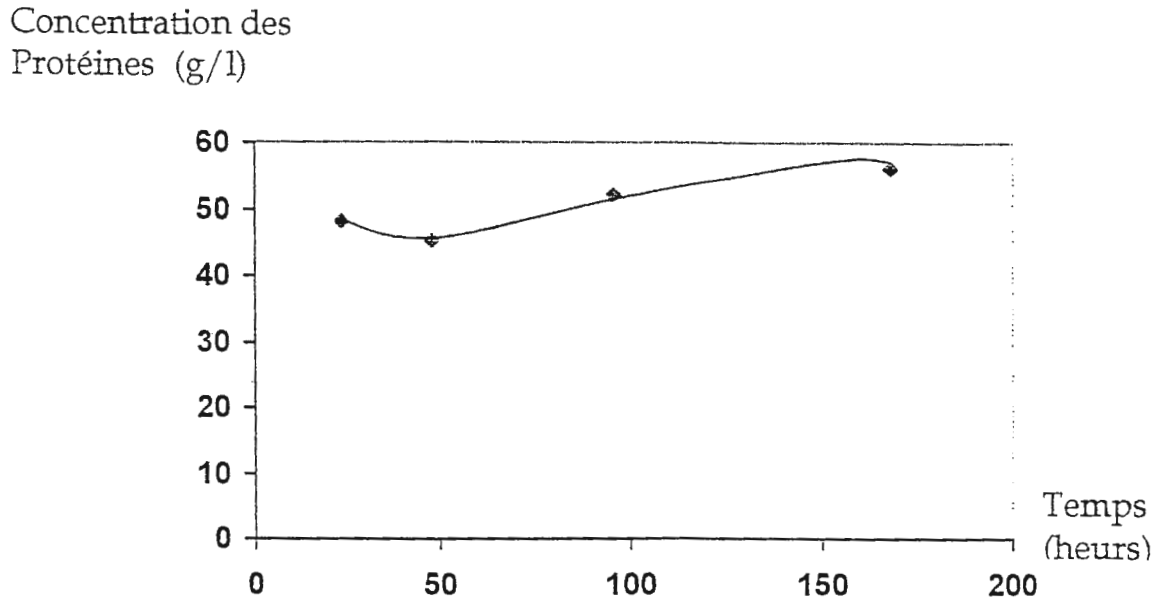


Fig. 11 : Evolution de l'albumine en fonction du temps

b) Evolution de l'α_1 globuline en fonction du temps:

La figure (12) indique une augmentation importante au de la de 3g/l (approximativement 3,3 g/l) entre le délai de 24 heures et 48 heures. Puis diminue de nouveau pour atteindre une concentration de 1,8 g/l. Elle augmente et prend une concentration de 2,1 g/l entre le 4eme et le7eme jour.

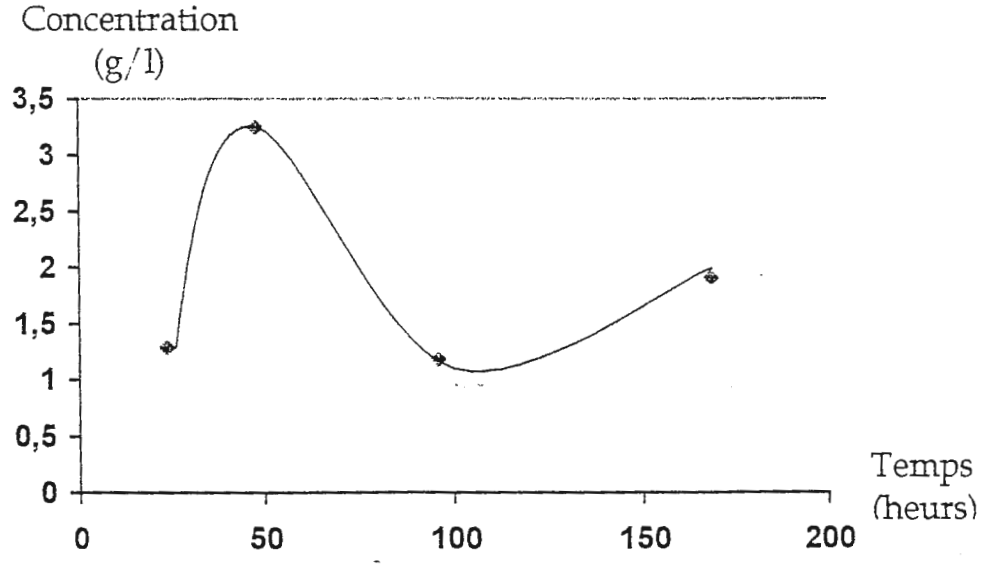


Fig. 12 : Evolution de l'α_1-globuline en fonction du temps

c) Evolution de l'α_2 globuline en fonction du temps :

La figure (13) montre une légère augmentation de la concentration d'α_2- globuline, elle passe à 5 g/l pendant 48 heures, ensuite elle diminue pendant le 4eme jour et prend une concentration de 4,9 g/l.

Elle reprend son augmentation rapidement pour atteindre une concentration de 6,4 g/l au délai de 4ème j et 7ème jour.

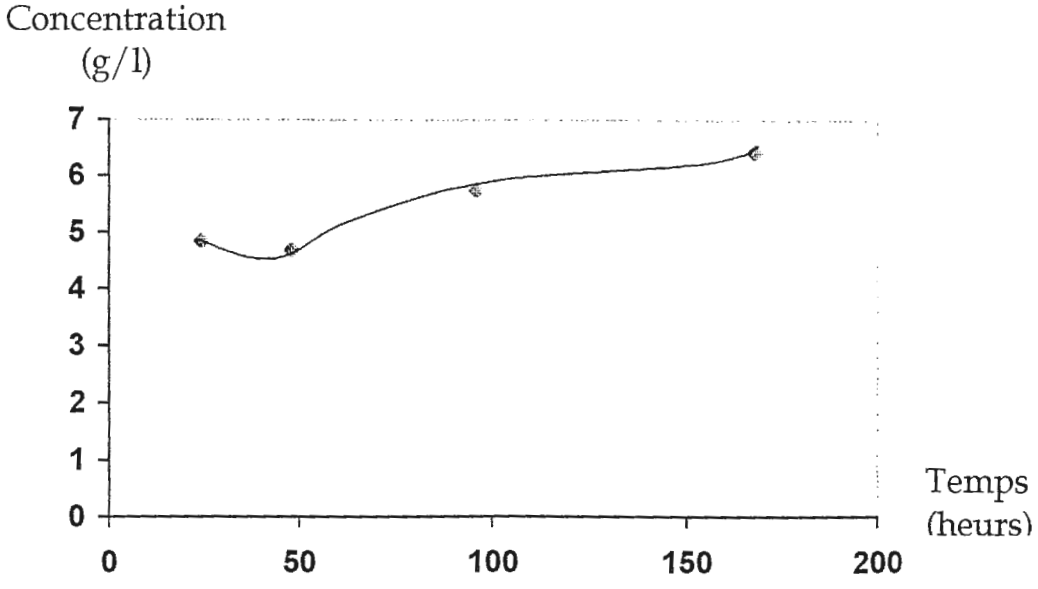


Fig. 13 : Evolution de l'α_2-globuline en fonction du temps

d) Evolution de β- globuline en fonction du temps :

Le taux de la β-globuline baisse rapidement pendant les 48 heures, elle continu a diminuer et prend une concentration de 13,50 g/l puis augmente au délai du 4ème et 7ème jour. Elle continu a augmenter encore pour atteindre une concentration de 15 g/l au délai du 4ème et 7ème jour (fig. 14) .

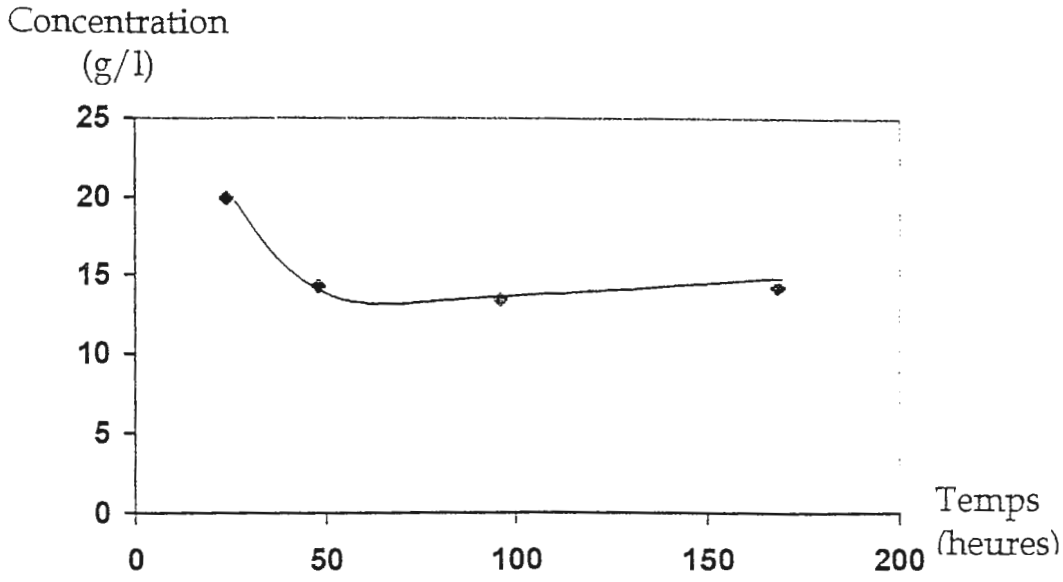


Fig. 14 : Evolution de β -globuline en fonction du temps

e) Evolution de γ - globuline en fonction du temps :

La figure (15) montre une diminution remarquable jusqu'à 6,8 g/l puis augmente rapidement et prend une concentration de 12,50 g/l pendant les 48 heures et le 7ème jour.

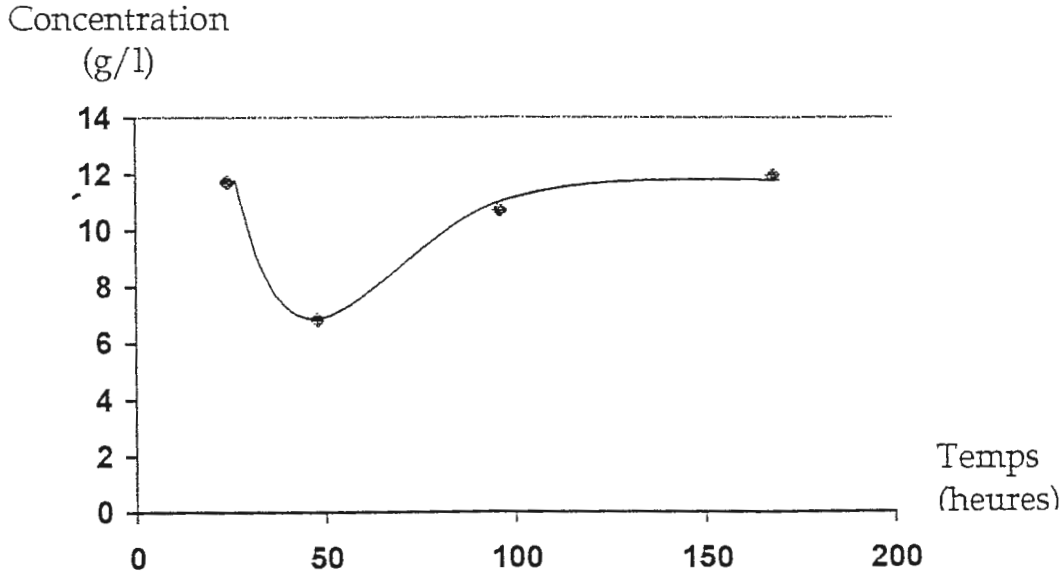


Fig. 15 : Evolution de γ -globuline en fonction du temps

V
Discussion

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي جيجل

L'électrophorèse est une méthode de séparation de différentes substances sous l'influence d'un courant électrique, la vitesse de migration d'une molécule dépend de sa charge électrique et de son poids moléculaire. Cette migration s'effectue sur un support de papier ou d'acétate de cellulose en milieu tamponné. On peut appliquer cette méthode à la séparation des glucides, des lipides et des protéines.

La séparation des protéines du sérum est devenue du domaine de la pratique courante. Il doit être accompagné du dosage des protéines totales. On trouve à l'état normal :

- protéines totales 70 à 75 g/l
- albumines 55 à 60 % soit 40 à 45 g/l
- globulines

  α_1 3 à 4 % soit 2 à 3 g/l

  α_2 9 à 11 % soit 5 à 7 g/l

  β 12 à 14 % soit 8 à 10 g/l

  γ 15 à 20 % soit 12 à 15 g/l

Le rapport normal :

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

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

- Par diminution des albumines : cirrhose, hépatites, néphrose lipoïdique.
- Par une augmentation des globulines.
- α_2 : maladies inflammatoires, rhumatismes.
- β : diabète, artériosclérose, cirrhose.

- γ : cirrhose, maladies infectieuses.

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

Cette étude à pour but de déterminer l'effet du *Ranunculus repens,* plante utilisée localement dans la médecine traditionnelle, sur les protéines sériques des rats. Pour cet effet une dose unique de l'extrait brut de *Ranunculus repens* a été administré aux rats femelles Wistar albinos.

Les contrôles sanguins ont été effectués régulièrement pendant la phase aiguë (24 à 72 heures) suivi par des contrôles pendant le 4ème jour et le 7ème jour.

Pendant la phase aiguë, on constate les modifications suivantes :

- Augmentation de l'albumine pendant les 24 heures.
- α_1- globuline est stable.
- α_2- globuline diminue.
- La β-globuline augmente.
- La γ-globuline ~~diminue.~~ augmente

Le rapport A/G diminue par rapport au témoin et cela est du à l'augmentation sensible de la β-globuline.

Pendant les 48 heures nous remarquons que les rapports A/G concernant les rats traités et les rats témoins sont égaux et cela malgré l'augmentation β-globuline et qui dépasse la concentration normale.

Pendant le quatrième et le septième jour nous constatons que le rapport A/G est normal. Par ailleurs une augmentation importante de l'albumine et de α_2- globuline pendant le septième jour a été observé.

En conclusion, malgré les variations constatées des différentes protéines des rats traités par l'administration de l'extrait brut de *Ranunculus repens,* ces variations restent dans la normale à l'exception de la variation du rapport A/G observé pendant les premières 24 heures.

VII

Bibliographie et annexes

* Méthode de calcul :

Le calcul des concentrations des protéines sériques a partir de leur pourcentage tirés des graphes de sensitomètre :

- Pour calculer les concentrations des protéines sériques a partir de leurs pourcentages issues des graphes de sensitomètre , on utilise la règle des trois :

Exemple :

Le pourcentage de l'Albumine : 57,7% .

La concentration des protéines totales : 80g/l

On a : 80 g → 100 %

x g → 57.7 %

Donc $x = \frac{80 \times 57,7}{100} = 46.16$ g/l.

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي جيجل

- Pour calculer la moyenne x des concentration.

Exemple :

On prend 3 concentration de L'Albumine correspondants au premier , 2 eme et 3 eme rat : 48,6 , 48,45 , 46,72

$$x = \frac{48,6 + 48,45 + 46,72}{3} = 47,92 \text{ g/l}$$

* Abréviation :

Tm : rat témoin.

Tr : rat traité.

PT : protéines totales.

Alb : Albumine sérique.

α_1 : Alpha 1 globuline.

α_2 : Alpha 2 globuline.

β : Béta globuline.

γ : Gamma globuline.

Bibliographie

(1) BLACQUE A. et FORESTIER M., 1980, Dictionnaire des constantes biologiques et physiques, ed. Maloine (5ème édition), p.641 .

(2), Atlas du corps humain, 1995, ed. Graficas Estella, Espagne, p.82.

(3) LOUISOT P., 1983, biochimie générale et médicale, structural, métabolique et sémiologique, ed. Villeurbanne/Paris, p.(368, 371, 426, 430).

(4) BASTIEN C., 1983, l'absorption des protéines, Diamant, actualités médicales, protéines et pratique quotidienne , ed. Spire/Paris, p.11.

(5) FRITSCH E., Méthodes d'analyse .

(6) FANCHIER P.,CATALAN F., FOUYE M.H., KUHN A.F.et CHAIMEIL C., Eléctrophorése des protéines, journal de l'institut Alfred Fournies, ed. Hélera France, p. (3-4).

(7) Encyclopédie universalis, France, 1997, p. 1 .

(8) WICHTL M.et ANTON R., 1999, plantes thérapeutiques , ed. Tec et Doc, p.13.

(9) MIVEL G.P., JENEVIEVE C., SILVY H., CLAUD S.K., DORINE M. et DU BOID J. 1977, le sérum, Larousse de la langue française, librairie Larousse, p. 1645.

(10) KHELIFI H., LAUICI F., 1999, Place de l'électrophorèse des protéines sériques et des hémoglobines en biologie médicale , p. (12,13,15).

(11) BOUCHAGRA T., 1990, Analyse instrumentale en biochimie, p. (34-40) .

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي

(12) BOREL, MAQUART, LE PENCH, RANDOUX, GILLERY, BELLON et MONBOISSE, 1997, Biochimie dynamique de boeck université, 1, p. (511-519) .

(13) BOULANGER P., POLONOVSKI J., TAYEAU F., MANDEL P. et BISERTE, 1973, Biochimie médicale , ed. MASSON et CIE, 1 , p. (289 , 295- 297 , 307 - 314).

(14) BENSALEM BENJELLOUL M. , 1998, La cellule et sa physiologie, office des publications universitaires, p. (17-18) .

(15) BOUHALI H., BOUHALI L.et BENBOUAZIZ F., 2000, Etude de l'effet préventif des flavonoides sur la nephrotoxicité de la doxorubcine (10mg/kg) chez le rat Wistar , p. (32,34).

(16) BRUNETON J., 1996, Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, ed. LON DRES NEW YOUK Paris.

(17) BOREL J , 1984, Comment prescrire et interpréter un examen de biochinie , ed. Maloine (2 ème édition), Paris.

(18) LAHOUEL M., 1985, Etude de la toxicité hématologique, hépatique et rénale de deux médicaments anticancéreux : la Doxoribucine et le CCNU chez le rat, Thèse doctorat, Université de Rouen, p. (23-24).

DEBBACHE Hafida BOUCHEMOUKHA Soumia	Electrophorèse des protéines sériques chez les rats traités par un extrait de *Ranunculus répens*	Date de Soutenance : 07 / 10 / 2001

ملخص :

النباتات التي كانت منذ العقد من الزمن محل إهمال تشهد اليوم إهتماما كبيرا، فقد كانت منذ زمن طويل و لازالت المحور الرئيسي للتداوي. لقد وجدت النباتات مكانتها في الطب لغناها و تنوعها.

و عملنا هذا يتمثل في متابعة تطور بروتينات مصل الفئران المعالجة بمستخلص خاص بنبات *Rununculum repens.*

و لتحديد كمية بروتينات المصل أستعملنا تقنية الهجرة الكهربائية فكانت النتائج المحصل عليها تبين أن نبات *Rununculum repens* ليس له تأثير مهم على بروتينات المصل.

The abstruct :

Plants so vilenpendees, does here again be one half-century know today a return in grace assorted of an official reconnaissanced? They were of all time centers him major of all therapeutic and become again merely today what they were always. They recover their room in a medicine whose wealth first vaiues the diversity.

Our work consists in following the evolution of rat proteins seriqueses treated by a raw excerpt of a plant. To quantify proteins seriqueses, the technique of the electrophorese has been used.

The gotten results show that *Rununculum repens* doesn't have an important effect on proteins seriqueses.

Résumé:

Les plantes si vilipendées, voici encore un demi-siècle connaissent aujourd'hui un retour en grâce assorti d'une reconnaissance officielle? Elles ont été de tout temps l'axe majeur de toutes les thérapeutiques et redeviennent simplement aujourd'hui ce qu'elles ont toujours été. Elles retrouvent leur place dans une médecine dont la richesse tient d'abord à la diversité.

Notre travail consiste à suivre l'évolution des protéines sériques des rats traités par un extrait brut d'une plante *Rununculum repens.* Pour quantifier les protéines sériques, la technique de l'électrophorèse a été utilisée.
Les résultats obtenus montrent que *Rununculum repens* n'a pas d'effet important sur les protéines sériques.

Mots -Clés :

Rununculum repeus - Electrophorèse – Protéines sériques