

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur

وزارة التعليم العالي

et de la recherche scientifique

والبعث العلمي

Centre Universitaire

المركز الجامعي

Abdelhak Ben Hamouda de Jijel

محمد الحق بن حمودة - جيجل -

Institut des Sciences de la Nature

معهد علوم الطبيعة

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme
d'études supérieures en biologie moléculaire et cellulaire

Option : Biochimie

03/03
Thème

Intérêt des flavonoïdes (Daflon 500 mg)
sur les variations des Protéines sériques
au cours d'un traitement par un anticancéreux
(Cyclophosphamide 500 mg) chez le rat

Membres du jury :

Président M^r : HENDIS Mohamed essadak.
Examineur M^r : KEBIECHE Mohamed.
Encadreur D^r : DJEMAME Chahla

Réalisé par :

-LEBEZE Hanane
-BOUCHICHA Amel
-BOUMIMEZ Mounira

Promotion 2001

N° d'ordre :

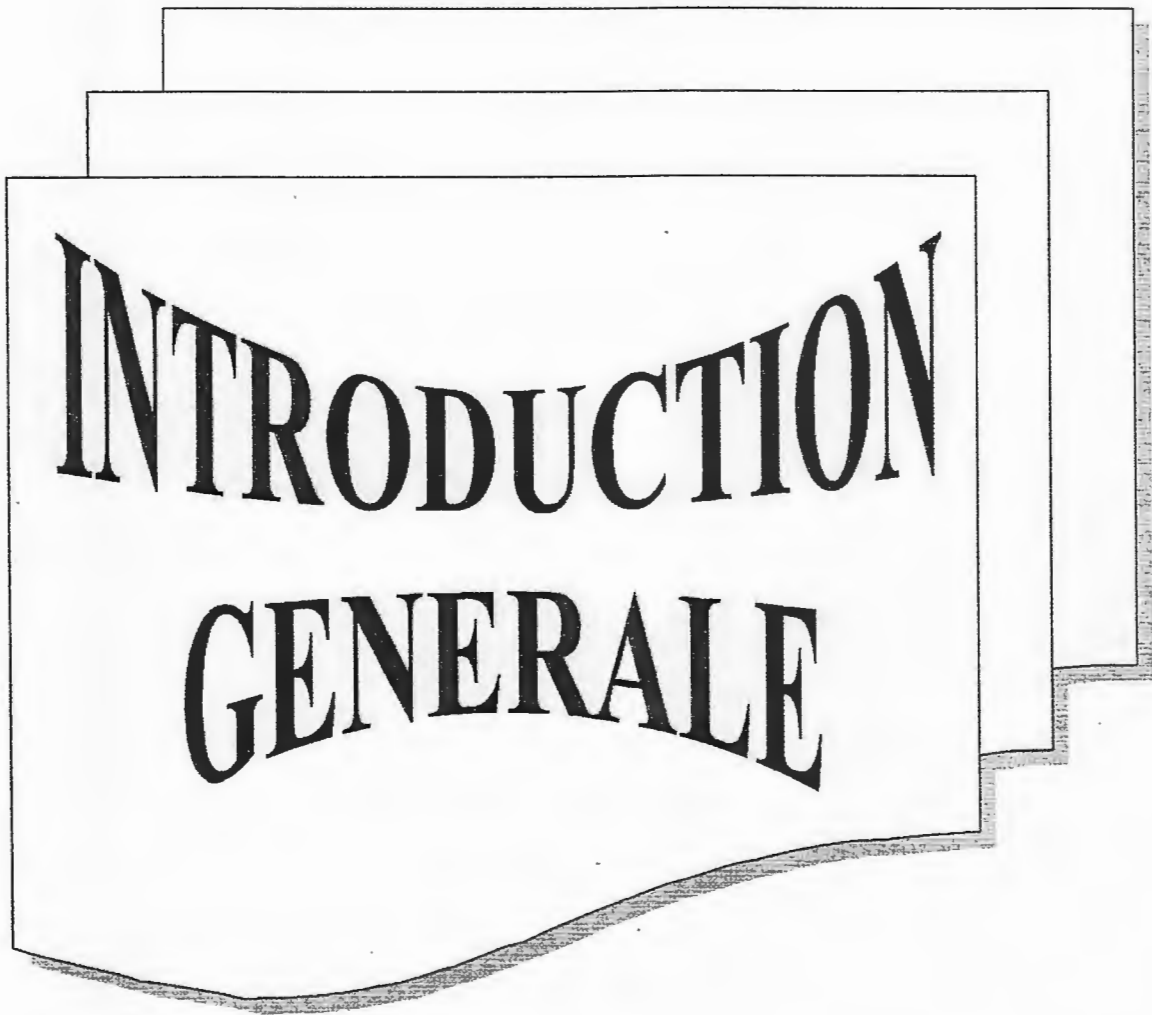


☆ Sommaire ☆

Chapitre I : Introduction générale.....	01
Chapitre II : Analyse Bibliographique	
II.1 Généralités sur les protéines.....	03
II.1.1 Biosynthèse des protéines.....	03
II.1.2 Structure des protéines.....	04
II.1.3 Propriétés des protéines.....	04
II.2 Les protéines sériques.....	06
II.2.1 Introduction.....	06
II.2.2 Propriétés physico-chimiques et biologiques.....	06
II.2.2.1 La sérum albumine.....	06
II.2.2.2 Les globulines.....	08
1- Les α et β globulines sériques.....	08
2- Les δ - globulines sériques.....	10
II.2.3 Evaluation quantitative des protéines sériques.....	11
II.2.4 les valeurs sémiologiques.....	11
II.3 Notions générales sur le cancer.....	19
II.3.1 Biologie du cancer.....	19
II.3.2 Diagnostic du cancer.....	19
II.3.3 Traitement du cancer.....	21
II.4 la chimiothérapie anticancéreuse.....	23
II.4.1 Introduction.....	23
II.4.2 Lieu d'action des médicaments anticancéreux.....	24
II.4.3 Classification des agents cancéro-statiques.....	26
II.4.4 Mécanismes généraux de l'action cytotoxique.....	26
II.4.5 Toxicité aigue et chronique des médicaments anticancéreux.....	28
II.4.6 Les Alkylants.....	28
• Oxazophorines.....	29
-Cyclophosphamide.....	29
1- Structure chimique.....	29
2- Mécanisme d'action.....	29
3- Pharmacologie.....	29
4- Toxicité.....	30
5- L'influence de la toxicité hépatique, rénale et hématologique sur les taux des protéines plasmatiques.....	32
II.5 Les Flavonoïdes.....	33
II.5.1 Généralités.....	33
II.5.2 Classification et origine des Flavonoïdes.....	34
II.5.3 Structure et biosynthèse.....	35
II.5.4 Propriétés et actions des Flavonoïdes.....	38
II.5.5 Mode d'action des Flavonoïdes.....	39
II.5.6 Flavonoïdes et Cancer.....	39



II.6 Electrophorèse	42
II.6.1 Généralités	42
II.6.2 Mobilité électrophorétique en milieu liquide	42
II.6.3 Mobilité apparente d'une macromolécule en électrophorèse sur support	42
II.6.4 Facteurs qui régissent la migration	43
II.6.5 Méthodes électrophorétiques	45
II.6.6 Immunoélectrophorèse	48
II.6.7 Electrofocalisation	49
II.6.8 Electrophorèse des protéines	49
Chapitre III : Matériels et Méthodes	
III.1 Matériels	50
III.1.1 Entretien des animaux	50
III.1.2 Traitement des animaux	50
III.1.3 Voies d'administrations des médicaments	50
III.1.4 Prélèvements sanguins	50
III.1.5 Matériels et réactifs utilisés	51
III.2 Méthodes	52
III.2.1 Etude de la toxicité	52
III.2.2 Dosage des protéine totaux	54
III.2.3 Electrophorèse des protéines	55
III.2.3.1 Principe général	55
III.2.3.2 Mode opératoire	55
III.2.4 Evaluation statistique	57
Chapitre IV : Résultats	59
Chapitre V : Discussion	67
Chapitre VI : Conclusion	69
BiBliographie	



INTRODUCTION
GENERALE

Les protéines sont des macromolécules fonctionnelles et structurales considérées comme des machines du transport d'énergie; les protéines sériques sont présentes dans le sérum sanguin, leurs biosynthèse s'effectuent dans le foie [4].

La biodisponibilité des médicaments consiste à trouver des fractions libres non liées aux protéines sériques, ces fractions représentent l'effet thérapeutiques de ces médicaments [37].

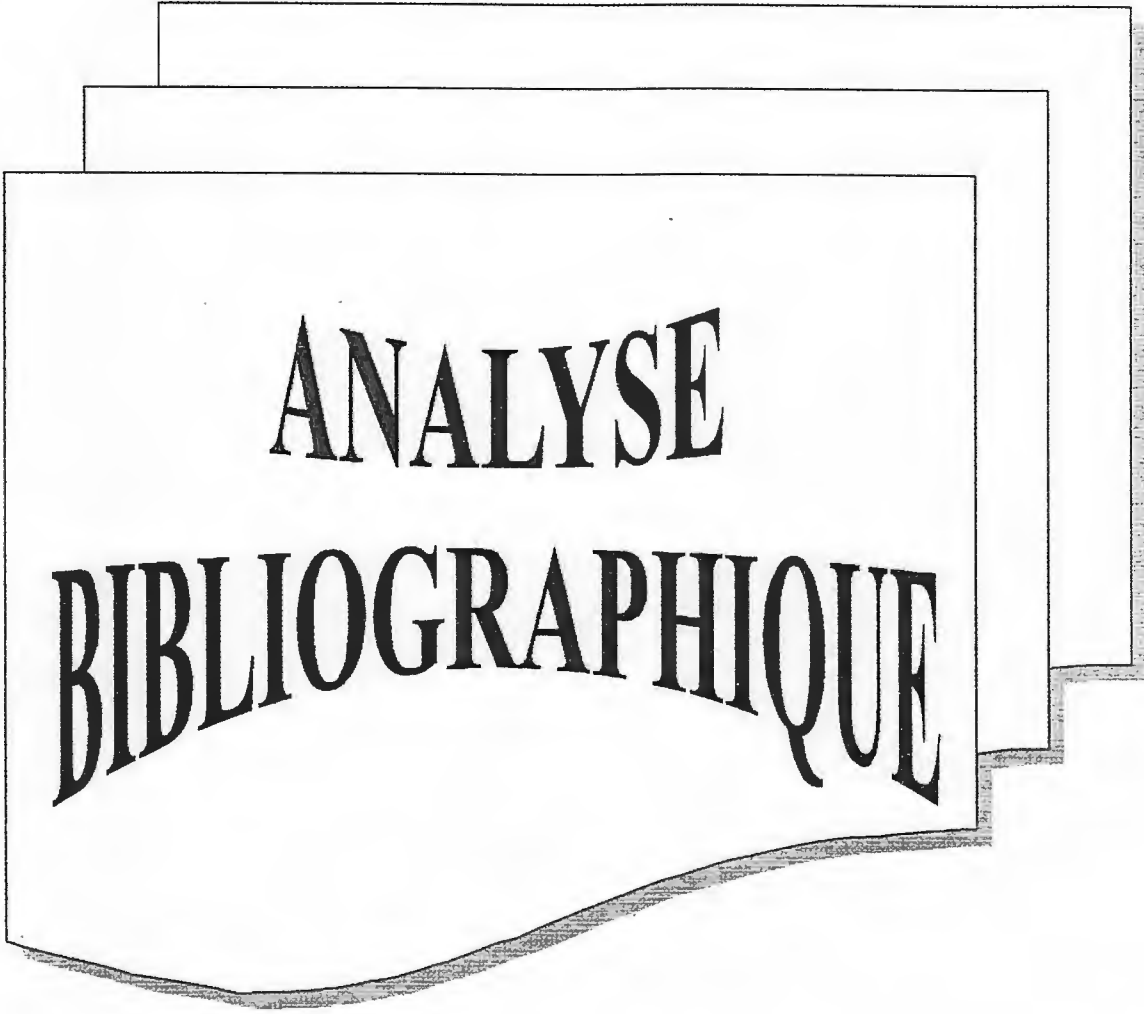
L'électrophorèse est une technique parmi les trois techniques de séparation des protéines. Cette technique a connu son premier développement en 1937 par **TISELIUS**. Cette méthode actuellement et largement utilisée, elle permet de séparer les principales protéines du sérum sanguin et déterminer leurs pourcentages [22]. Les effets indésirables des médicaments constituent un cas particulier des effets toxiques possibles des produits chimiques [28].

Notre étude s'effectue sur les rats **Wistar** qui a pour objectif : l'étude de la possibilité d'éviter la toxicité du traitement anticancéreux représentée par le **Cyclophosphamide** en utilisant les flavonoides qui sont représentés par le **Daflon**.

l'agent anticancéreux peut être préférentiellement capté par les cellules tumorales, il peut exister certaine spécificité anti-tumorale, cette spécificité éventuelle est néanmoins très faible, et avec la plupart des médicaments anticancéreux, le rapport efficacité / toxicité est très bas [43]; alors les agents anticancéreux doivent tuer aussi sélectivement que possible les cellules cancéreuses visées [12].

Malgré les progrès considérables réalisés dans la spécificité des molécules développés, le traitement reste incapable de respecter totalement les cellules normales. La toxicité provoquée limite considérablement leur utilisation dans le traitement du cancer [10].

Pour résoudre ce problème, il faut d'abord essayer d'augmenter l'index thérapeutique de médicaments anticancéreux, c'est alors que notre travail est mené sur l'utilisation des flavonoïdes qui peut être un moyen pour diminuer cette toxicité.



ANALYSE
BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. Généralités sur les Protéines :

La matière vivante est essentiellement constituée de grosses molécules azotées que les biochimistes ont eu beaucoup de difficultés à étudier, en raison de leurs complexité.

L'hydrolyse de ces grosses molécules a permis d'y reconnaître la présence abondante d'acides amines, qui sont des unités structurales de base des protéines; toutes les protéines de toutes les espèces sont constituées à partir de même groupe de 20 aminoacides.

Les protéines sont, des macromolécules structurales et fonctionnelles élaborées par la cellule vivante, ce sont des polypeptides de masse moléculaire supérieur à 5000.

Ce qui caractérise les protéines par rapport aux glucides ou aux lipides, c'est leur haute teneur en azote, les protéines contiennent 16% d'azote [4]. De nombreux aminoacides habituellement plus d'une centaine, sont unis par des liaisons peptidiques pour former une chaîne polypeptidique, une liaison peptidique unit le groupe α -carboxyle d'un aminoacide à la fonction amine d'un autre aminoacide [16].

II.1.1 Biosynthèse des protéines :

Une protéine est synthétisée dans le sens de l'extrémité aminée vers l'extrémité Carboxylique par addition séquentielle d'acides aminés à l'extrémité carboxylique de la chaîne peptidique au cours d'élaboration.

Les précurseurs activés sont des aminoacyl T- RNA, dans lesquels le groupe carboxyle d'un aminoacide est uni à l'extrémité 3-OH d'un RNA du transfert. La liaison d'un aminoacide au RNA t qui lui correspond est catalysée par un aminoacyl ARN_T Synthétase.

La synthèse des Protéines est assurée par l'ATP. Cette dernière s'effectue en trois étapes : initiation, élongation et terminaison ; toutes ces étapes arrivent après la transcription de l'ARNm qui a lieu dans le noyau, puis sort dans le cytoplasme où ces étapes s'effectuent, après le signal d'initiation, le RNA occupe

le site P sur un ribosome. L'élongation commence par la liaison d'un aminoacyl tARN au site A sur le ribosome, une liaison peptidique se forme à ce niveau, puis déplacement de dipeptide ($A \rightarrow P$). La terminaison a lieu lorsqu'un signal stop sur l'ARN est lu, ce qui conduit à la dissociation de la chaîne polypeptidique [27].

II.1.2. Structures des protéines :

Quatre structures sont fréquemment cités dans les discussions sur l'architecture des protéines.

- **Structure primaire :** Les forces de répulsion sont minimes, alors elle se présente en structure linéaire qui résulte de l'enchaînement des polypeptides [16].

- **Structure secondaire :** la forme linéaire va subir un remaniement qui lui donnera une structure bidimensionnelle, il existe deux structures (helice α , conformation B) [16].

- **Structure tertiaire:** Sous l'influence des forces d'attraction ou de répulsion qui se manifestent entre les radicaux, la protéine subit un remaniement spatial qui conduira à la structure III (tertiaire) [16].

- **Structure quaternaire :** C'est l'association des sous unités des protéines polymériques ; avec l'introduction des éléments non protéiques indispensables à l'activité biologique de la protéine (même métaux). Actuellement on ne connaît que la structure III et quaternaire d'un petit nombre de protéine [27].

II.1.3. Propriétés des protéines :

- L'une des propriétés principales des protéines et leur capacités de former des liaisons permanentes (globine-hème) ou temporaires (immunoglobuline –antigène) [27].

- Propriétés physicochimiques :

Solubilité : Un grand nombre de protéines sont solubles dans l'eau, la solubilité est en fonction de la force ionique et du PH du milieu, d'autres protéines ne sont pas solubles dans l'eau mais solubles dans une solution diluée du NaCl [16].

- **Les protéines sont des poly-électrolytes amphotères :** elles migrent dans un champ électrique en fonction de leurs charges au PH du milieu [16].

II.2. Les protéines sériques :**II.2.1. Introduction :**

Il existe bien deux cent classes de protéines différentes dans le plasma sanguin, et 70 d'entre elles ont été obtenues dans un état de pureté convenable, les fonctions de ces protéines plasmatiques sont multiples : transport, hormones, anticorps, facteurs de coagulation, activité enzymatique [15].

Le plasma sanguin contient 75 à 5 g de protéines par litre. La majorité des protéines sériques sont synthétisées dans le foie, la grande partie sont des immunoglobulines, la minorité sont synthétisées dans le tissu lymphoïde.

On peut séparer les protéines en divers groupes par de multiples techniques : électrophorèse, immunoélectrophorèse, ultracentrifugation ou précipitation fractionnée (méthode de **Cohn**).

La technique la plus utilisée en pratique courante, l'électrophorèse sur papier distingue :

- les albumines 55 – 60%
- les α_1 – globulines 3 – 6 %
- Les α_2 – globulines 8%
- Les β – globulines 10 – 14 %
- Les γ – globulines 15 – 20% [9].

II.2.2. Propriétés physico-chimiques et biologiques :**II.2.2.1. La sérum albumine :**

C'est la protéine plasmatique dont la concentration est de loin la plus importante, puisqu'elle représente 60% de la protidémie, c'est une holoprotéine, sa masse molaire est de 66000.

Elle est à chaîne unique, mais se polymérise facilement en milieu de PH acide [20].

Les rôles biologiques essentiels de la sérum albumine sont :

- Rôle dans la pression oncotique plasmatique :

Il faut d'abord rappeler que la pression oncotique n'est pas autre chose qu'une pression osmotique mais que l'on réserve ce qualificatif à la pression osmotique développée par les protéines.

Elle suit les mêmes lois et c'est ainsi que :

$$P_{\text{onc}} = \frac{C}{M} \quad \text{avec } C : \text{concentration}$$

M : masse molaire.

Malgré son peu d'importance quantitative, cette pression oncotique assure au niveau des capillaires les échanges entre secteur vasculaire et secteur interstitiel, c'est à sa diminution qu'est généralement attribuée l'apparition des oedèmes au cours de syndrome hypo-albuminémique [7].

- Réserve d'amino-acides :

Les micro gouttelettes de plasma sont captées par les cellules, l'albumine et les autres protéines plasmatiques sont alors hydrolysées dans les lysosomes, et les acides aminés réutilisés pour la synthèse des protéines cellulaires, la diminution de l'albumine ne met pas immédiatement en danger la survie de l'organisme, mais qu'elle peut être sacrifiée au profit de la synthèse d'autres protéines, c'est ainsi qu'au cours des dénutritions protéiques, l'albumine est une des premières protéines dont la concentration va diminuer afin de fournir les aminoacides indispensables à la synthèse de l'hémoglobine ou d'hormones dont la concentration n'est en générale pas modifiée. Cette notion est en accord avec le fait que les hypo-protidémies sont essentiellement des hypoalbuminémies [7].

- Rôle de transporteur :

Du fait de ses dimensions moléculaires relativement faibles et de sa structure, la molécule d'albumine possède une très grande surface ce qui lui permet de disposer d'un très grand nombre de sites de fixation et donc de transporter de très nombreux constituants plasmatiques. Certaines sont connus depuis longtemps :

Calcium, magnésium, zinc, cuivre, acides gras et acides biliaires, bilirubine et stéroïdes. D'autres sont de connaissance beaucoup plus récente comme les médicaments qui à trop forte dose peuvent entrer en compétition avec des constituants naturels mais qui sont toxiques à l'état libre. On voit ainsi que le rôle de transport de l'albumine est associé à un rôle antitoxique ou protecteur [7].

II.2.2.2. Les globulines :

Ce sont les protéines précipitables par le sulfate d'ammonium à demi saturation. Elles sont coagulables par la chaleur.

Elles contiennent tous les aminoacides usuels et sont spécialement riche en acides glutamiques et aspartique.

En pathologie, certaines globulines ont des propriétés physiques et chimiques spéciales, ainsi les cryoglobulines sériques précipitent à basse température, les macroglobulines ont des poids moléculaire supérieur aux autres globulines (PM>150000).

On trouve dans le sang humain plusieurs types de globulines qui se distinguent par leur migration électrophorétique : α , β et γ [20].

1. Les α et β globulines sériques :

Parmi les nombreuses globulines formant les groupes électrophorétiques α_1 , α_2 et β -globulines.

1.1. Dans le groupe des α_1 globulines :

1.1.1. L'orosomucoïde ou α_1 glycoprotéine acide :

est une glycoprotéine de poids moléculaire 44000, cette protéine est un témoin du degré de l'inflammation dont elle permet de suivre l'évolutivité.

- Augmentation au cours de l'infarctus du myocarde, des cancers en poussée évolutive, des différents syndromes inflammatoires comme le rhumatisme articulaire aigu, les collagénoses, la polyarthrite rhumatoïde. Diminution dans les syndromes néphrotiques [22].

1.1.2. L' α_1 - anti-trypsine : α_1 AT :

Est une glycoprotéine de P.M d'environ 45000. Elle représente la principale antiprotéase du sérum à activité antitrypsine puisque responsable à elle seule de 90% de cette activité. Il s'agit d'une protéine présentant un polymorphisme génétique, caractérisée par la présence de nombreux allotypes différents. En effet l' α_1 AT joue un rôle important au niveau de la paroi alvéolaire en neutralisant les protéases issus de la lyse leucocytaire.

La diminution de α_1 -antitrypsine est observée également au cours des cirrhoses infantiles.

L'augmentation de α_1 -antitrypsine est observée dans certains syndromes inflammatoires ou infectieux, dans l'asthme allergique, et dans certains cancers du foie ou du pancréas [22].

1.1.3. L' α_1 -foetoprotéine [22].**1.2. Dans le groupe des α_2 globulines :****1.2.1. L'haptoglobine : HP**

Est une glycoprotéine de mobilité α_2 qui est caractérisée par sa propriété de former un complexe avec l'hémoglobine Hb/ Hp. Le taux sérique moyen de l'Hp est \cong 160 mg/100 ml.

L'haptoglobine représente un témoin des processus inflammatoires, dans les affections coronariennes et dans certaines hémopathies malignes comme la maladie de **Hodgkin**, des augmentations importantes de l'haptoglobine apparaissent au cours de poussées évolutives. Tous les syndromes inflammatoires comme le rhumatisme articulaire aigu, la polyarthrite rhumatoïde, les collagénoses, entraînent en général une augmentation des α_2 globulines à l'haptoglobine. Dans les syndromes néphrotiques, l'haptoglobine est également très augmentée.

Par contre, la diminution de l'haptoglobine peut être due à deux facteurs principaux :

- Peut relever d'une altération de la synthèse hépatique de cette protéine.
- Peut être liée à un syndrome d'hémolyse intravasculaire par augmentation du catabolisme de l'haptoglobine ayant formé des complexes avec l'hémoglobine circulante.

1.2.2. L' α_2 macroglobuline [22].

1.2.3. La céruléoplasmine [22].

1.3. Dans le groupe des β - globulines :

1.3.1. La transferrine : Tf

Est une β -globuline de P.M de 80000 qui est définie par sa propriété de fixation du fer (fixation de deux atomes de fer libre par molécule de Tf), la transferrine est augmentée physiologiquement pendant la grossesse.

L'augmentation du taux de Tf évoque une anémie par carence de fer.

La diminution de Tf est observée au cours des infections chroniques, des cancers, des affections hépatiques du type cirrhose, dans la néphrose [22].

2. Les γ -globulines sériques :

Les immunoglobulines représentent une classe complexe de glycoprotéines qui constituent pour l'essentiel l'ensemble des γ -globulines isolables par électrophorèse. Leur importance biologique principale tient au fait qu'elles sont des anti-corps [30].

On sait que le rôle des anticorps est la reconnaissance des déterminants de l'antigène qui a suscité l'élaboration de l'anticorps.

Cinq classes d'Ig peuvent être distinguées par l'utilisation d'antisérums spécifiques et par différents caractères structuraux, ce sont :

- Les IgG (les γ_G - globulines)
- Les IgA (les γ_A - globulines)
- Les IgM (les γ_M - globulines)
- Les IgD (les γ_D - globulines)
- Les IgE (les γ_E - globulines) [22].



II.2.3. Evaluation quantitative des protéines sériques :

Le taux normal des protéines sériques est de 72g/litre. Ce taux est abaissé dans les hypoprotéïnémies qui résultent :

- soit d'un défaut d'apport ou de synthèse (sous alimentation protéinique prolongée, altérations du parenchyme hépatique etc...)
- soit d'une perte accrue (syndrome néphrotiques, néphrites chroniques avec protéinurie prlongée, amylose rénale,etc)

Ce taux est augmenté dans les hyperprotéïnémies :

- Syndrome d'hémo-concentration par déshydratation (c'est la concentration sérique des protéines qui augmente et non la teneur totale du sérum en protéines).
- Ou lors de l'apparition d'une protéine spéciale en quantité anormale (maladie de **Kahler** ou myélome multiple des os) [7].

II.2.4. Les valeurs sémiologiques :**II.2.4.1. La sérum albumine :**

Le taux d'albumine sérique est stable, la valeur sémiologique de l'albumine se justifie par ses anomalies primitives ainsi que par ses relations particulières avec d'autres constituants plasmatiques.

On observe des variations pathologiques qui sont essentiellement des hypoalbuminémies, nous examinerons de façon plus détaillée le syndrome néphrotique puisque l'hypo-albuminémie en est le signe majeur. La protéinurie et l'hypoprotidémie qui l'accompagnent en sont respectivement la cause et la conséquence. C'est la perte rénale d'albumine qui est la cause de l'hypoalbuminémie malgré une capacité de synthèse hépatique parfaitement conservée. Il faut savoir que dans ces cas, la filtration massive de l'albumine est suivie dans le tubule par l'hypercatabolisme de cette protéine, ce qui a pour effet de minimiser la protéinurie .

Enfin, il est indispensable d'insister sur la relation albumine-médicaments en particulier avec ceux qui sont fortement fixés. Dans ce cas, une hypo-albuminémie peut entraîner une augmentation de la fraction libre du médicament et être responsable d'une intoxication [7].

II.2.4.2. Les globulines sériques :

1. Les α et β globulines sériques :

Tableau 1(a)

- Groupe des α 1-globulines [20].

Protéines	Taux sériques normaux	↑ Ou ↓	Pathologies
L'orosomucoïde	0,4 g/l	↓	Syndromes néphrotique
		↑	- le rhumatisme articulaire aigu. (maladie de bouillaud) - obstructions des voies biliaires.
L' α 1 antitrypsine	3g/l	↑	- 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



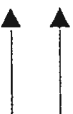
L'α1-foeto-protéines	Sa concentration maximale 3,5 g/l à la 12 semaine de la gestation, pour décroître ensuite pratiquement disparaître à la naissance		<ul style="list-style-type: none"> - réapparaît anormalement lors du cancer primitif du foie principalement 1 à 5g/l. - on observe des taux moindres 1 à 5 g/l, mais cependant important, dans les hépatites et les cirrhoses.
----------------------	---	---	--

Tableau 1 (b)

Tableau 2 (a)

- Groupe des α2-globulines [20].

Protéines	Taux sériques normaux	↑ Ou ↓	Pathologies
Les haptoglobines	1 g/l		- toutes les affections de type inflammatoires atteignant le tissu conjonctif.
		 4 à 6 fois le taux normal	<ul style="list-style-type: none"> - dans toutes les infections locales on générales. - Les traumatismes. - Les suites opératoires. - Les pneumonies. - Le rhumatisme articulaire aigu. - La tuberculose. - Les états cancéreux, ... etc.

		↑	- Tous taux d'haptoglobine supérieur à la normale, sans processus inflammatoire visible et sans fièvre, pendant des mois, est un excellent signe d'appel d'un infarctus du myocarde
		↓	- Les atteintes hépatiques sévères (défaut de synthèse), cirrhose par exemple : Les hémolyses.
L'α2- macro-globuline	2,5 g/l jusqu'à 5 g/l chez l'enfant	↑↑ (30 g/l)	- La néphrose lipoïdique
La céruléo-plasmine	0,35 g/l chez l'homme 0,40 g/l chez la femme	↑	- Elle augmente physiologiquement au cours de la grossesse, de même que sous l'influence d'une thérapeutique oestrogénique

Tableau 2 (b)

		↑ ↑	- Dans un autre domaine, on observe une augmentation nette du taux de cruléoplasmine sérique au cours des obstruction des voies biliaires
--	--	-----	---

Tableau 2 (c)

Tableau 3

- Groupe des β-globulines.

Protéines	Taux sériques normaux	↑ Ou ↓	Pathologies
La transferrine ou sidérophiline	2,5 g/l	↑	- la sidéropénie. - Enfin de grossesse - Les infections et les inflammations.
		↑ ↑	- La néphrose.
		↓	- Les hémochromatoses et les hémosideroses après transfusion
		↓	- Les cas d'atransferrinémie complète sont rarissimes (homozygotisme)

Tableau 3

2. Les γ -globulines sériques :

2.1. Les hyper γ -globulinémies :

Elles peuvent être et sont souvent des diagnostics électrophorétiques .

On peut distinguer deux groupes d'hypergammaglobulinémies :

- Celles qui concernent l'ensemble des immunoglobulines et qui sont dites **générales** ou **polyclonales**.

- Celles qui résultent de l'augmentation d'une seule catégorie d'immunoglobuline et qui sont dites **monoclonales** [7] (*Figure 1*) .

2.1.1. Les hypergammaglobulinémies générales ou polyclonales :

Elles sont le plus souvent sans retentissement sur la protidémie, leur origine relève :

- Des infections parasitaires et des infections chroniques, pour ces dernières on remarque souvent une diminution de l'albumine.

- Des réactions d'hyperimmunisation, conséquence des sallicitations antigéniques au cours des vaccinations.

De certaines affections hépatiques : cirrhose, hépatite infectieuse [7].

2.1.2. Les hypergammaglobulinémies monoclonales :

Elles touchent spécifiquement une classe, une sous classe ou un allotype particulier d'immunoglobulines.

Les deux principales sont : la macroglobulinémie de **Waldenstrom** et le Myélome ou maladie de **Kahler** [7].

2.2. Les hypo γ - globulinémies :

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

- Défaut de biosynthèse : congénitale, secondaire et transitoire.

- Augmentation de l'élimination : ces causes en sont multiples, on peut citer l'hypogammaglobulinémie des grandes brûlures ou celle du malade atteint

de néphrose lipidique dont l'élimination urinaire est particulièrement importante

- **1- Albumine**
 - Analbuminémie
 - Bisalbuminémie
 - Hypoalbuminémie → Dénutrition
 - Cirrhose hépatique
 - Syndrome néphrotique
 - Escudation digestive

- 2- Alpha 1 et 2**
 - hyper α_2 → syndrome néphrotique
 - hyper α_1 et α_2 → syndrome inflammatoire

- 3- Gamma**
 - hyper γ -polyclonales à IgG → - LED
 - Kala-azar
 - SIDA
 - hyper γ -polyclonales à IgA → cirrhose éthylique
 - hyper γ -monoclonales malignes → myélome (IgA ou G)
 - Waldenstrom (IgM).
 - hyper γ -monoclonales bénignes
 - hypo γ -polyclonales → génétiques
 - syndrome néphrotique
 - hyper- γ -monoclonales malignes (30% des cas)

Interprétation d'une électrophorèse des protéines sériques [7].

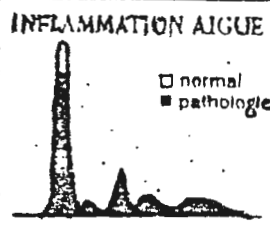

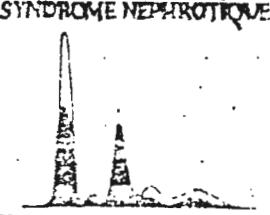


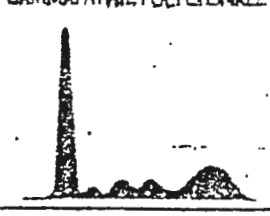
	Protéines	Albumine	Alpha1	Alpha2	Bêta	Gamma
INFLAMMATION AIGUE  □ normal ■ pathologie		↓N	↑	↑		N↓
SYNDROME HEPATIQUE 	↓N	↓↓	↓	↓	↓	↓
SYNDROME NEPHROTIQUE 	↓↓	↓↓		↑↑		N↓
HYPOGAMMAGLOBULEMIE 						↓↓↓
GAMMAPATHIE MONOCLONALE 	N↑	↓	↓	↓	Pic homogène	
GAMMAPATHIE POLYCLONALE 	N↑	↓				↑

Figure 1 : l'illustration par les tracés des principaux cas pathologiques en électrophorèse des protéines sériques [49].

II.3. Notions générales sur le cancer :

II.3.1. Biologie du cancer :

Le cancer est l'ensemble de cellules indifférenciées qui, échappant au contrôle de l'organisme, se multiplient anarchiquement, envahissent les tissus voisins en les détruisant et se répandent dans l'organisme en métastases, la maladie atteint alors le stade de : **tumeur maligne** [35].

Le cancer peut atteindre tous les organes et tous les tissus, quelle que soit la localisation, la cellule cancéreuse présente des anomalies caractéristiques reconnaissables au microscope [18].

Le tissu cancéreux a une structure anarchique profondément modifiée par rapport au tissu d'origine et il envahit les tissus voisins. Il se dissémine à distance par voie sanguine ou lymphatique (métastase) [32].

Le facteur déclenchant qui transforme une cellule normale en une cellule cancéreuse peut être, chimique (constituant de la fumée de cigarette), physique (rayonnement ionisants) ou biologique (infection virale). Il induit un déséquilibre entre deux sortes de gènes cellulaires :

Les oncogènes (qui cause le cancer) et les gènes suppresseurs de tumeurs (qui s'opposent au cancer) [31].

Selon l'organe atteint, le cancer se manifeste par une grande variété de signes chimiques, un diagnostic de plus en plus précoce fondé essentiellement sur l'examen d'anatomie pathologique (biopsie), et par le dosage de marqueurs tumoraux, permet d'instituer un traitement plus efficace (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie et immunothérapie) [9].

II.3.2. Diagnostic du cancer :

Le diagnostic du cancer repose donc uniquement sur l'examen anatomo-pathologique (au microscope) d'un fragment de tissu suspect.

Le diagnostic du cancer est plus ou moins aisé, suivant son siège profond ou non, suivant la netteté ou le caractère banal des symptômes [33].

L'examen clinique complet en est le premier stade, les examens complémentaires : numération, vitesse de sédimentation sont souvent peu parlante.

Ce sont surtout les investigations complémentaires qui permettent de localiser, de voir la lésion, et parfois d'en permettre la biopsie par des moyens externes.

Les examens radiologiques sont multiples :

Examens simples du thorax ou après opacification des bronches, examens radiologiques de l'estomac et du colon après ingestion ou lavement contenant de la baryte, examens radiologiques des reins et de la vessie après injection intraveineuse de produits iodés radioopaques, examens du cholédoque et de la vésicule biliaire après ingestion ou injection intraveineuse de produits opaques se concentrant dans la bile [3].

D'autres techniques radiologiques plus complexes peuvent être nécessaires, injection d'huile iodée dans la cavité utérine.

Toutes ces investigations radiologiques ont pour but de déceler une anomalie, d'en voir la fixité, et d'orienter l'examen endoscopique ou la chirurgie.

Le diagnostic définitif du cancer repose en fait sur l'examen au microscope d'un prélèvement tissulaire (biopsie) ou d'un produit obtenu par raclage, frottis ou ponction (cytodiagnostic) [1].

Il peut précéder une intervention chirurgicale et doit toujours être pratiqué avant les traitements chimiothérapeutiques [9].

Les différents marqueurs permettent de suivre la tumeur pour déterminer le lieu du cancer et surtout le stade de développement du cancer (bénin ou malin) sont :

II.3.2.1. Les marqueurs sécrétés par la tumeur : ils existent deux classes :

- les protéines embryonnaires qui contiennent les antigènes oncofoetaux (ACP, AFP) et les protéines placentaires (HCG, hormone lactogène placentaire, phosphatase alcaline placentaire).

La 2^{ème} classe c'est les marqueurs des cellules matures qui contiennent les hormones.

II.3.2.2. Les marqueurs témoignant d'une réaction de l'hôte, à l'envahissement tumoral comme la ferritine, la B2 microglobuline, les marqueurs viraux associés à la prolifération.

Ces deux types de marqueurs s'apprêtent bien à des dosages sanguins ou urinaires, ce qui facilite le diagnostic et le suivi d'un traitement anti-tumoral.

II.3.2.3. Les marqueurs présents sur la tumeur elle même : ces marqueurs non excrétés dans la circulation deviennent utilisables grâce au développement de nouvelles techniques telles que l'immunohistochimie, la cytométrie de flux, l'immunoscintigraphie et l'utilisation des radioligands [18].

II.3.3. Traitement du cancer :

Les traitements traditionnels du cancer incluent, la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie, cette dernière désigne le traitement d'un cancer par des substances chimiques spécifiques qui réduisent le rythme de multiplication des cellules cancéreuses. Il en est actuellement de même pour le cancer, qui traité correctement et surtout à temps, peut et doit guérir dans un grand nombre de cas [21].

II.3.3.1. Chirurgie : Elle se propose d'extirper le processus cancéreux avec ses ramifications, au besoin ses métastases, en passant par conséquent à distance de la tumeur maligne, pour éviter de laisser quelques cellules en place.

La chirurgie est également utilisée soit comme moyen thérapeutique, en cas de douleurs rebelles, soit avec des visées pathogéniques (certains cancers hormono-dépendants comme le cancer du sein) [9].

II.3.3.2. Electrocoagulation : c'est une technique surtout dermatologique qui consiste à détruire sur place, par coagulation, le tissu tumoral [9].

II.3.3.3. Les radiations : l'efficacité des radiations sur le tissu cancéreux résulte de l'action qu'ont ces radiations sur les tissus vivants. Elles provoquent, en effet, une ionisation de la cellule, désorganisent ses métabolismes, détruisent son noyau, bloquant en outre les divisions cellulaires.

Les méthodes de traitement sont avant tout fonction du type de tumeur, de sa localisation et de sa sensibilité aux rayons.

- La radiothérapie locale : elle consiste à irradier la tumeur avec des rayons pénétrants.
- La radiothérapie de contact : utilise surtout des rayons mous.
- La télérontgénéthérapie et la cyclothérapie consistent en une irradiation totale.
- La curiethérapie s'effectue au moyens de sels de radium.
- Le traitement par les isotopes radioactifs [9].

II.3.3.4. Chimiothérapie : Elle prend une place de plus en plus grande dans le traitement des cancers, utilisant soit des composés chimiques, soit des hormones.

- Les hormones agissent soit comme antagonistes, d'autres hormones qu'elles ont un effet stimulant sur le cancer (oestrogènes, testostérone, A.C.T.H.) soit comme inhibiteurs du système hématopoïétique (corticoïdes utilisés dans les leucémies) [24].
- Les composés chimiques : dont le nombre s'accroît sans cesse, inhibent ou ralentissent l'évolution du cancer en agissant sur les cellules.

Le mécanisme d'action de ces corps chimiques se fait soit par blocage des mitoses, les cellules ne se multipliant plus (antimitotiques), soit par destruction des cellules (cytolytiques), soit par blocage de leur métabolisme (antimétabolites, tels que les antifoliques).

Ces différents corps chimiques sont utilisés tantôt seuls, tantôt associés (polychimiothérapie) [25].

Le traitement du cancer n'est jamais univoque, et toutes ces armes servent de façon très précises en fonction du malade, du type tumoral et de la localisation, tantôt en association (chirurgie, radiations par exemple) ; tantôt en se succédant dans le temps (radium, chirurgie, rayons, chimiothérapie, poly chimiothérapie) [6].

II.4. La chimiothérapie anti-cancéreuses :**II.4.1. Introduction :**

La chimiothérapie constitue la troisième arme thérapeutique pour lutter contre le cancer, elle représente le traitement médicamenteux de ce dernier [43].

Cette thérapeutique qui connaît des progrès de plus en plus marqués utilise des substances cytotoxiques, qui agissent sur les cellules cancéreuses, soit en les détruisant, soit en empêchant leur multiplication. Elles agissent aussi sur les cellules de l'organisme tel que : les cellules malignes, ceux qui se développent rapidement, ce qui explique les effets secondaires de ces médicaments [28]. La chirurgie et la radiothérapie constituent le traitement de base des affections tumorales, lorsqu'elles restent localisées. Par contre, ces techniques s'avèrent insuffisantes dans le cas de tumeurs plus évolutives, compliquées par des métastases aux localisations aléatoires. Dans ce cas, seules la chimiothérapie et l'immunothérapie s'avèrent efficaces [19], l'association entre les trois armes thérapeutiques représente la chimiothérapie préventive ou adjuvante [31].

Chaque année depuis 1942, des milliers de nouvelles molécules sont élaborées et testées *in vitro* et *in vivo* chez l'animal, seulement quelques unes seront utilisées en clinique [43]. L'objectif de la chimiothérapie est d'obtenir une concentration suffisante de la substance cytotoxique dans la tumeur pendant une durée qui permet une efficacité maximale, c'est à dire la destruction du plus grand nombre possible de cellules tumorales et la sauvegarde de maximum de cellules normales [29]. L'utilisation de la combinaison de substances cytotoxiques permet de réaliser une polychimiothérapie susceptible de détruire les cellules tumorales, en augmentant l'efficacité du traitement et en potentialisant les effets secondaires cytotoxiques sur les cellules normales [31].

Il faudra cependant attendre de nouveaux progrès technologiques pouvant améliorer des actions spécifiques, en éliminant les effets secondaires et en agissant par micro-dose au niveau des cellules atteintes du mal [10].

II.4.2. Lieu d'action des médicaments anticancéreux :

La seule différence entre une cellule normale et une cellule cancéreuse réside dans l'intensité de l'activité mitotique. La cellule cancéreuse est chimiosensible, elle prolifère selon le même cycle cellulaire qu'une cellule normale [43]. On ne peut jamais expliquer le lieu d'action de ces médicaments sans passer par les étapes du cycle cellulaire, la connaissance du lieu d'action des médicaments anticancéreux sur le cycle cellulaire à un grand intérêt thérapeutique, certains médicaments sont dits : « **cycle dépendant** » car ils agissent exclusivement sur les cellules dans le cycle et d'autres sont dits : « **phase dépendant** » car ils agissent seulement sur cellules qui se trouvent souvent dans une phase du cycle cellulaire : G1, G2, S et M [29] (Figure 3).

II.4.2.1. La phase G1 : est la plus longue et la plus variable, et alors appelée G0 pour des cellules pratiquement quiescentes. Tous les métabolismes cellulaires à l'exception de la synthèse d'ADN s'effectuent pendant cette phase.

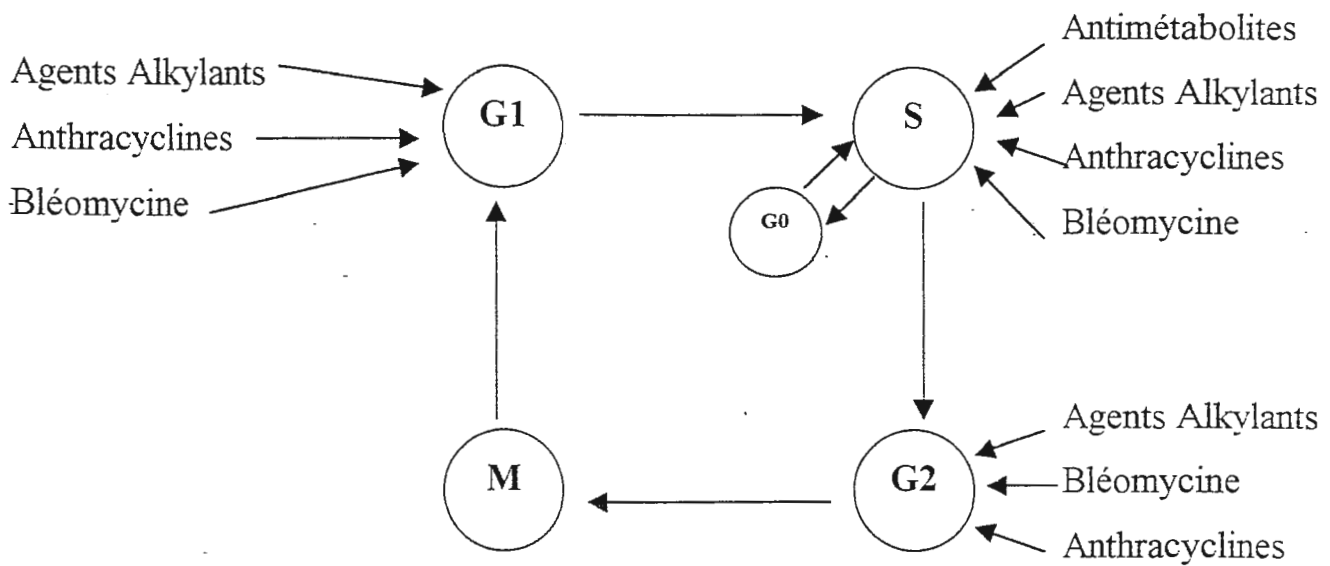
II.4.2.2. La phase S : est marquée par la synthèse d'ADN pour obtenir à sa réplication.

II.4.2.3. La phase G2 : de repos pré-mitotiques, permet la constitution de l'appareil mitotique.

II.4.2.4. La phase M : est représentée par la mitose [31].

- **Exemple d'action sur les phases :**

- S pour les antimétabolites.
- G1,G2 très exceptionnellement G0 pour les **alkylants**.
- M pour les **poisons du fuseau** (Figure 4).



Poisons du Fuseau

Figure 3 : Lieu d'action des médicaments anticancéreux

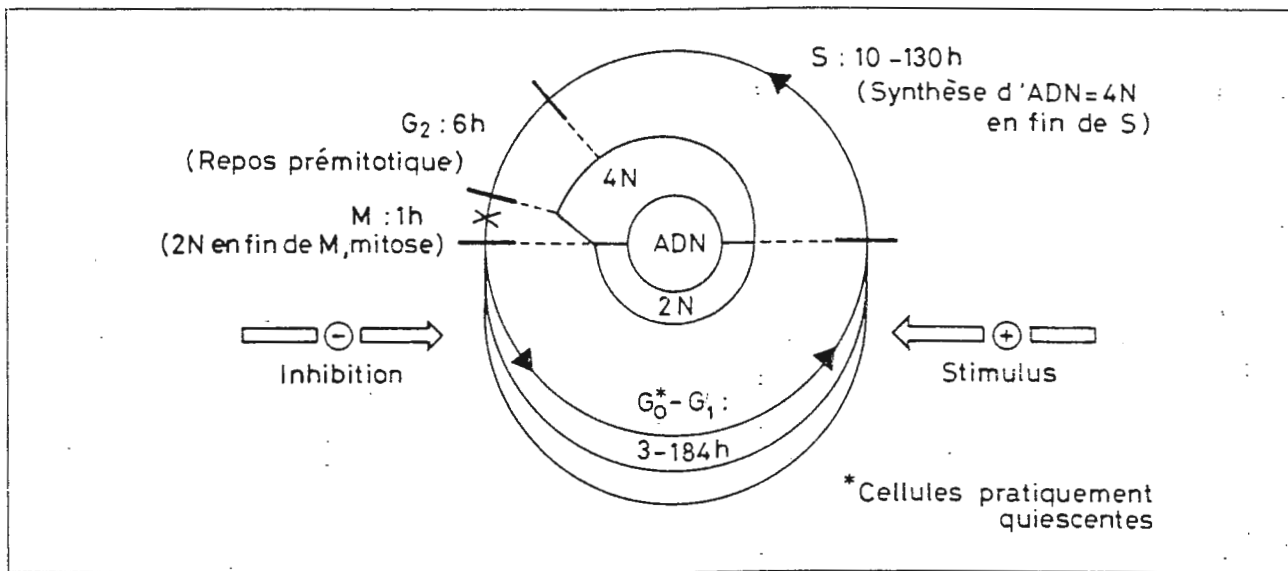


Figure 4 : schéma des phases du cycle cellulaire des cellules cancéreuses.

II.4.3. Classification des agents Cancéro-statiques :

Les substances cytotoxiques sont classées selon leur mécanisme d'action.

- * Inhibition de la synthèse des matériaux génétiques (bases puriques et pyrimidiques)
- * Inhibition des polymérisations génétiques (réplication du DNA, transcription du DNA en ARN.
- * Inhibition de la synthèse protéique [31].

Les médicaments anticancéreux sont classés en cinq groupes :

- Intercalants (anthracyclines...)
- Alkylants (Nitrosurées).
- Antimétabolites.
- Poisons du fuseau (bléomycines..)
- Agents divers [19].



II.4.4. Mécanismes généraux de l'action cytotoxique :

Les agents anticancéreux peuvent être schématiquement distingués en agents cytotoxiques, responsables de mortalité, par des mécanismes très variés et souvent complexes, et en modifications du comportement biologique.

Pour la très grande majorité des agents anticancéreux cytotoxiques, c'est une interaction directe ou indirecte avec l'ADN, qui sera responsable de la mort cellulaire (figure 5). Une interaction directe peut être caractérisée avec de l'ADN purifié, d'autres stigmates de cette interaction directe ne sont caractérisés que sur l'ADN extrait de cellules prétraitées par la molécule étudiée.

Les molécules responsables d'interaction directe avec l'ADN sont certes avant tout actives sur des cellules en phase de synthèse de l'ADN, mais interfèrent également avec sa transcription (en phase G1).

Les agents anticancéreux et/ou leurs métabolites peuvent également agir indirectement sur l'ADN, en inhibant des réactions enzymatiques nécessaires à sa réplication ou à sa transcription.

Enfin, il existe d'autres cibles cellulaires : acides ribonucléiques (ARN) qui peuvent faire l'objet également d'une interaction directe ou indirecte, protéine, en particulier enzymes du métabolisme énergétique et protéines du cytosquelette [25].

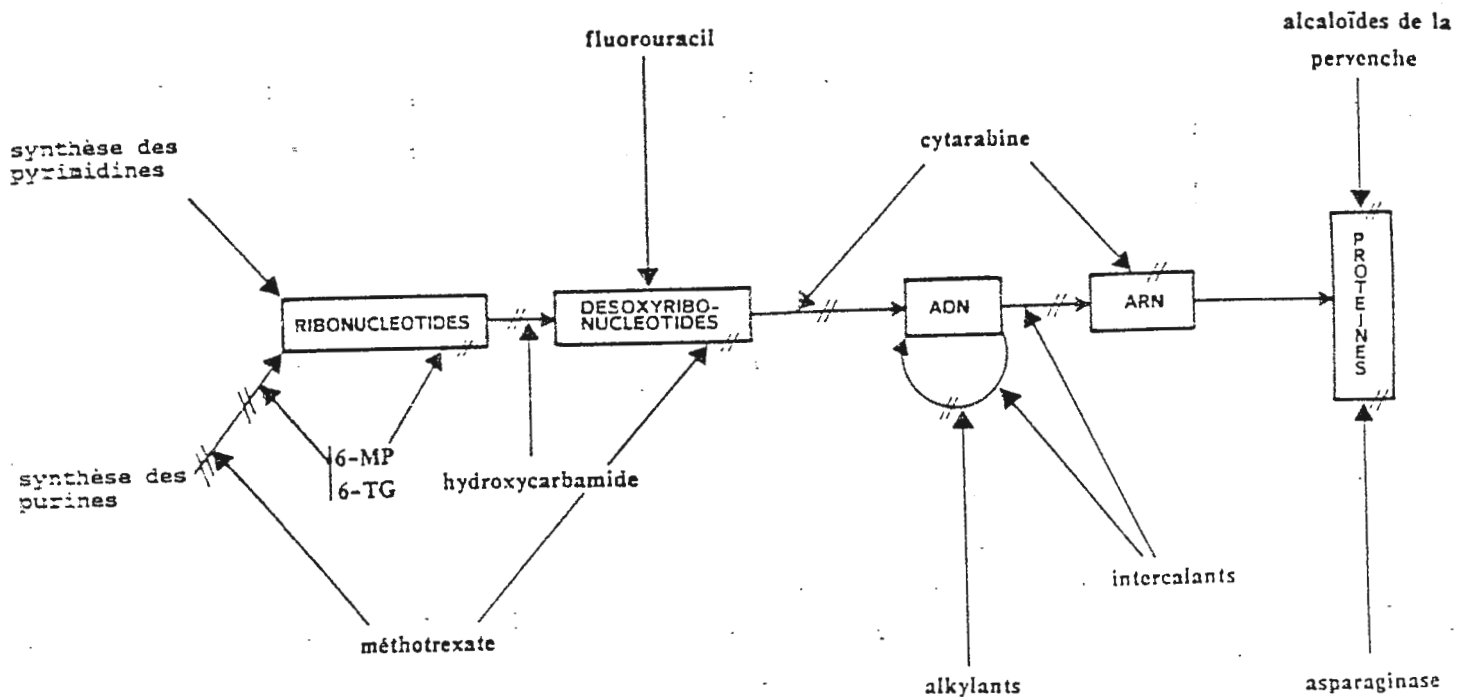


Figure 4 : Site d'action des principales familles d'agents anticancéreux (6-MP : mercaptopurine, 6 TG : thioguanine)[25] .

II.4.5. Toxicité aiguë et chronique des médicaments anticancéreux :

II.4.5.1. Toxicité aiguë :

Ces toxicités s'observent de quelques heures à quelques jours, et durent de quelques heures à 4-8 semaines après l'administration d'un médicament anticancéreux, leur incidence et leur sévérité sont souvent liée à la dose administrée, et peuvent dépendre de manière importante de la modalité d'administration.

Parmi plusieurs systèmes de définition et de dégradation nécessaires pour comparer les toxicités des différents médicaments anticancéreux, de leurs associations, des différentes modalités d'administration, et pour l'établissement des relations dose-effet, le plus utilisé est l'échelle de toxicité de l'OMS. Cette échelle n'est pas exhaustive mais recense les toxicités les plus fréquemment observées, ni les toxicités, ni leur sévérité ne sont intrinsèquement liées à une dose d'un médicament cytotoxique anticancéreux, mais dépendent très largement du sujet et en particulier de son état générale tel que : les échelles de **Karnofsky** et de l'OMS qui permettent de le définir et de définir les traitements associés ou antérieurs [29].

II.4.5.2. Toxicité chronique :

Ces toxicités ne se manifestent qu'après plusieurs administrations d'un ou le plus souvent de plusieurs médicaments anticancéreux, ce qui rend l'imputabilité à un agent particulier souvent difficile. Il existe le plus souvent une relation entre le risque de survenue d'une toxicité chronique et la dose cumulative du médicament en cause [29].

II.4.6. Les Alkylants :

Regroupent les agents capables de remplacer un proton d'une molécule par un groupement alkyle (R-CH₂), seuls l'alkylation des bases hétérocycliques des acides nucléiques semble intervenir dans l'activité cytotoxique, ceux sont des médicaments qui ont une interaction directe avec l'ADN. Les Alkylants regroupent 9 familles de molécules d'entre eux on trouve [29] :

- **Oxazophorines** : appartenant à la famille des moutardes azotées agissant après transformation dans l'organisme, cette famille comporte des molécules assez différentes (cyclophosphamide, ifosfamide...), elles peuvent être isolées par leurs propriétés pharmacologiques particulières [29].
 - **Cyclophosphamide (Endoxan)** : est un moutarde dont le spectre d'activité démontré est le plus large [36].
1. **Structure chimique** : sa structure est représentée comme suit :

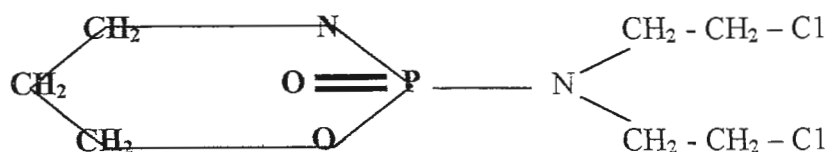


Figure 5 : Structure du cyclophosphamide (Endoxan)

Formule moléculaire : $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$

Poids moléculaire : 261,08 [36].

2. **Mécanisme d'action** : le cyclophosphamide est un agent alkylant bifonctionnel, agit par interaction directe sur l'ADN en formant des liaisons covalentes avec les substrats nucléophiles par l'intermédiaire de ses radicaux alcoyles. Ceci entraîne des modifications profondes chimiques ou enzymatiques de l'ADN, ainsi que la formation des ponts alcoyles intrabrin ou interbrins, avec pour conséquence une inhibition de la transcription et de la replication de l'ADN aboutissant à la destruction cellulaire. Cette action est cycle dépendante, elle respecte les cellules en G0 (immunodépresseur) [36].
3. **Pharmacologie** : le cyclophosphamide est administré par voie orale ou par voie intraveineuse en perfusion. La molécule initiale est une pro-drogue inactive [36]. Elle est hydroxylée dans le foie par les microsomes hépatiques aboutissant

essentiellement à la formation des 4 hydroxy-cyclophosphamide et a son tautomère l'aldo-cyclophosphamide puis à la moutarde phosphoramidée (métabolite actif) et a l'acroléine (métabolite urotoxique) [29].

Le temps moyen de demi-vie plasmatique varie de 4 à 7 heures, il est plus court chez l'enfant (4 heures) sous forme inchangée ; il n'est pas liée d'une façon significative aux protéines plasmatiques (12 à 14%), alors que ses métabolites le sont d'avantage (52 à 60%), son élimination est à l'état inchangée. Ainsi que celle de ses métabolites est essentiellement urinaire [36].

4. **Toxicité** : les tissus les plus fréquemment exposés sont : le foie, le rein, le sang et le cœur. Le cyclophosphamide qui n'est actif qu'une fois transformé en aldophosphamide ; son métabolite actif est représenté par le moutarde phosphoramidié, alors que l'autres métabolites sont inactifs ou toxiques (acroléine) donc sont à l'origine de la toxicité de l'Endoxan [28]. [Figure 6].

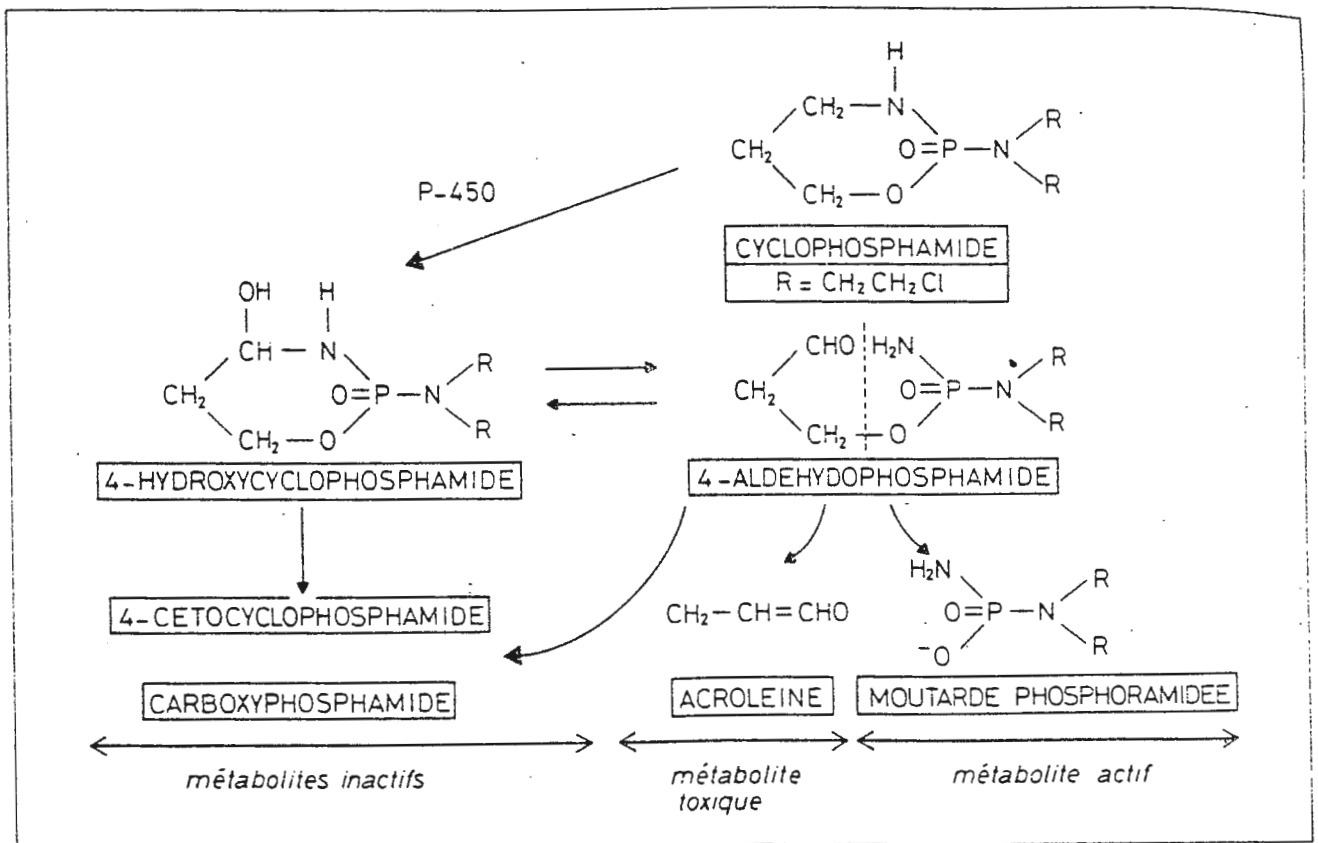


Figure 6 : Activation métabolique du cyclophosphamide [29].

Malgré que le cyclophosphamide a un plus large spectre d'activité que d'autres alkylants. Il représente un agent cytotoxique plus fréquent : au niveau hématologique, il est la cause de la destruction des cellules souches hématopoïétiques en voie de différenciation, il peut être alors une leucopénie, thrombopénie, anémie [28].

- Au niveau du foie : une perturbation fonctionnelle, hyper-bilirubénémie hypoglycémie, mais une diminution du taux de protéines plasmatiques, elle n'arrive pas aux lésions macroscopiques.
- Au niveau du rein : cette toxicité s'observe dans 60% des administrations qui provoquent une réduction de la filtration glomérulaire avec une atteinte rénale, qui peut être aggravée après plusieurs administration (Toxicité chronique) [28].

(Figure 7)

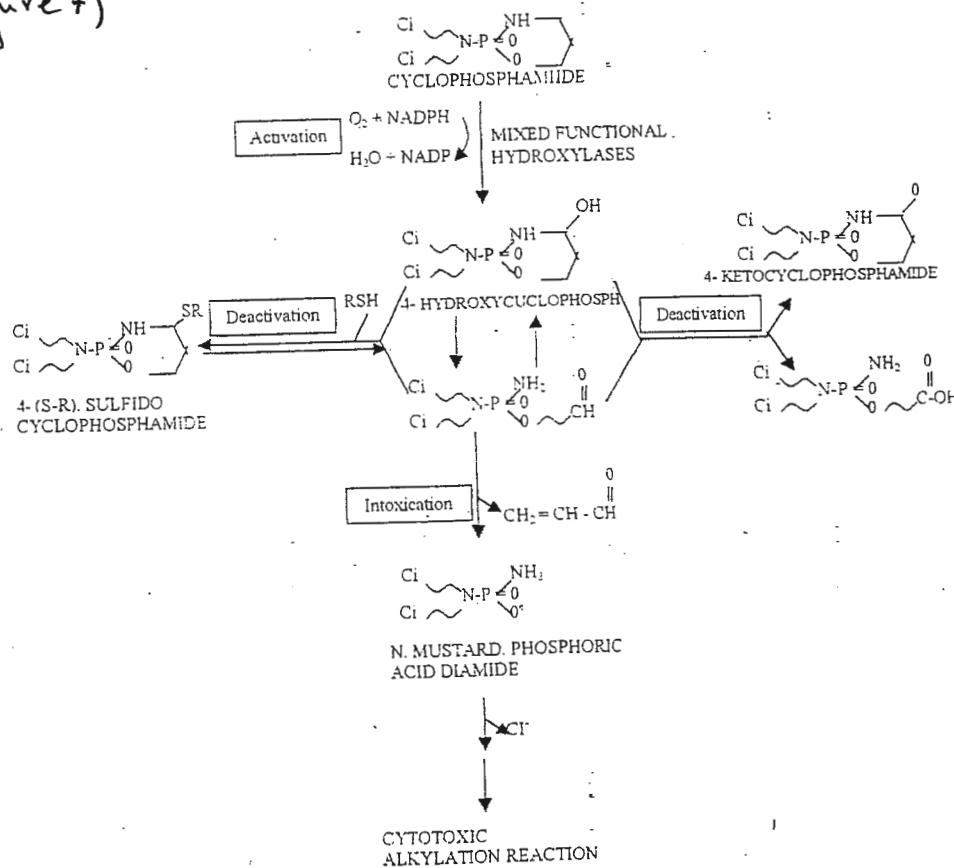


Figure 7 : Réactions cytotoxiques des alkylants (Endoxan) [29].

5. L'influence de la toxicité hépatique, rénale et hématoLogique sur les taux des protéines plasmatiques :

Le sang est une cible fréquente des toxiques pour plusieurs raisons ; d'abord la plupart des toxiques pénètrent dans l'organisme par le tube digestif, après la phase d'absorption le toxique passe au niveau sanguin où vient le stade de fixation au protéines plasmatiques [11]; c'est les fonctions libres non liées qui ont l'effet thérapeutique, cette fixation qui peut être faite avec des métabolites toxiques des médicaments ; influencent leur nature et leurs fonctions [37].

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme de la plupart des médicaments (ainsi le cyclophosphamide). Un grand nombre d'hépatites médicamenteuses est la conséquences de la formation d'une quantité excessive de ces métabolites (surtout cytotoxiques). En suivant la pharmacocénitique des médicaments anticancéreux, on trouve qu'après l'absorption ils vont passer par la veine porte au niveau du foie, cependant la Toxicité peut s'exercer sur différents organites des cellules hépatiques ; conduisant vers divers effets toxiques. Ses signes d'insuffisance hépato-cellulaire se traduisent par une **hypoalbuminémie de 40%**. Le foie est le lieu du biosynthèse des protéines plasmatiques et un dérèglement fonctionnel conduit à la diminution des taux des protéines plasmatiques dans le sang [29].

L'analyse des protéines plasmatiques est d'un grand intérêt pour la caractérisation d'atteinte rénale diverse, notamment celles des syndromes néphrotiques [19], alors c'est un passage de protéines plasmatiques du sang vers les urines à cause d'une atteinte rénale causée par les anticancéreux [36].

II.5. Les flavonoides :**II.5.1. Généralités :**

les progrès de la médecine et de l'hygiène fut reculés la mortalité causée par des maladies infectieuses, qui semblent être des miracles pendant des siècles, surtout dans les pays industrialisés, mais de plus en plus des individus succombent à des maladies dégénératives telles que : les cancers, les maladies cardiaques. Ce qui amène à la recherche de nouvelles propriétés alimentaires pour la santé [12].

Ce n'est que depuis quelques années que certaines propriétés pharmacologiques des Flavonoides ont été démontrées, celles-ci sont représentées essentiellement par la propriété: « **antioxydante** », ou le pouvoir capteur des radicaux libres [40].

Depuis les premiers produits apparus sur le marché dans les années 30. on peut considérer qu'il y a eu schématiquement 7 grandes vagues correspondant chacune à une décennie avec leur tendance particulière .

1^{ère} vague : Les précurseurs utilisant des plantes connues de longue date tels que : la vigne rouge, le marron d'inde ou l'hamamélis et affichent sur leur publicité le concept de « Stimulant circulatoire ». Il faut citer : le dépuratif rechelet vitamine PP mis sur le marché en 1905 ; l'introduit du marron d'inde en 1940 ...etc.

2^{ème} vague : Les années 50, la plante.

C'est à ce moment qu'apparaît le concept du médicament phlébotonique ; avec en tête de file le **Cyclo3** ® associant ruscus, hesperidine et vitamine C, ayant obtenu l'AMM en 1959. A cette époque plusieurs plantes sont citées comme tonique veineux.

3^{ème} vague : les années 60 ; la molécule .

Cette période correspond à une évolution vers un phlébotonique scientifique. Le chef de file de cette tendance est le **Daflon**® qui reste depuis des années en tête dans le monde.

4^{ème} vague : les années 70, la flambée.

La route tracée par les laboratoires Servier ; devenus depuis le premier laboratoire français, a permis l'éclosion de nombreux produits phlébotoniques utilisant les principes actifs identiques (**Diosmine**) ou voisin (**Rutine**) ® , c'est ainsi qu'obtient leur AMM. En 1976 le **Venotonyl**, en 1978 le **Grinkor** ...etc

5^{ème} vague : les années 80, les formes fortes.

La principale tendance de ces années, c'est la révision de l'AMM au profit du formes fortes contenant 2 à 3 fois plus de principes actifs. C'est ainsi que en 1987 apparaissent le **Daflon 500** ®, le **Cyclo 3 Fort** ®, le **Grinkor fort** ®...etc. Cette tendance continuera d'évoluer avec l'apparition du **Diovenor 600** ®, puis du **Daflon 1000** ® prévu pour l'année 2001.

6^{ème} vague : les années 90, la confirmation.

Les phlébotoniques confirment leurs actions, de nouvelles marques continuent régulièrement d'apparaître jusqu'à nos jours [38].

Les antioxydants Majeurs sont : Vitamines E, Vitamine C (acide ascorbique) Mais beaucoup d'autres substances dont les nombreux pigments caroténoïdes (carotène et xanthophylles) et les phénols (notamment les flavonoïdes). La perception des relations entre aliments et santé a profondément changé depuis le début de cette décennie, et l'intérêt c'est l'avantage préventif d'une alimentation diversifiée scientifiquement ; cet intérêt se focalise surtout sur les flavonoïdes qui semblent avoir une propriété « anti-tumorale » mais jamais vérifiée in vivo et doit être considéré avec prudence [42].

II.5.2. Classification et origine des Flavonoïdes :

Se sont un groupe important de substances très répandues à l'état naturel ; structurellement les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importants sont les suivantes : Flavones, Flavonoles, flavanones, Flavannonols, isoflavones, isoflavannones, chalcones, auronnes, anthocyanes et

tannins. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous la forme libre ou sous la forme de glycosides.

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois, légumes,... ils se trouvent surtout dans les vacuoles, et parfois dans le cytoplasme [42].

Ces différentes plantes de flavonoïdes : aurantiacées, rutacées, oléacées contiennent à des degrés divers les substances utilisées comme principe actif : la Diosmine, la rutine et l'hesperidine [38].

Ils sont responsables de la coloration jaunes de nombreux fleurs [41].

Ces composés polyphénoliques appartiennent biochimiquement à la famille des Benzopyrones.

Les flavonoïdes en particulier, les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs ; du jaune-orangé au bleu passant par le pourpre et le rouge [42].

II.5.3. Structure et Biosynthèse :

Le terme flavonoïdes, ressemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille de polyphénols. Ce sont des substances généralement colorées, nous les trouvons dissoutes dans des vacuoles, ils possèdent un squelette de base de quinze atomes du carbones. Leurs structures comprennent deux noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle oxygéné (c) [42].

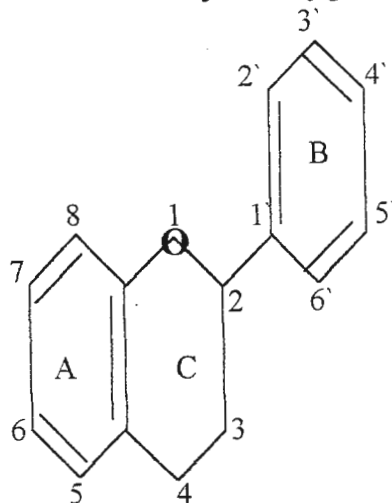


Figure 8 : La structure génétique des flavonoïdes [26].

Les différentes classes de Flavonoïdes se différencient par leurs structures ; ces derniers se différencient par les substitutions impliquées dans leurs structures génétiques [26] (figure 10).

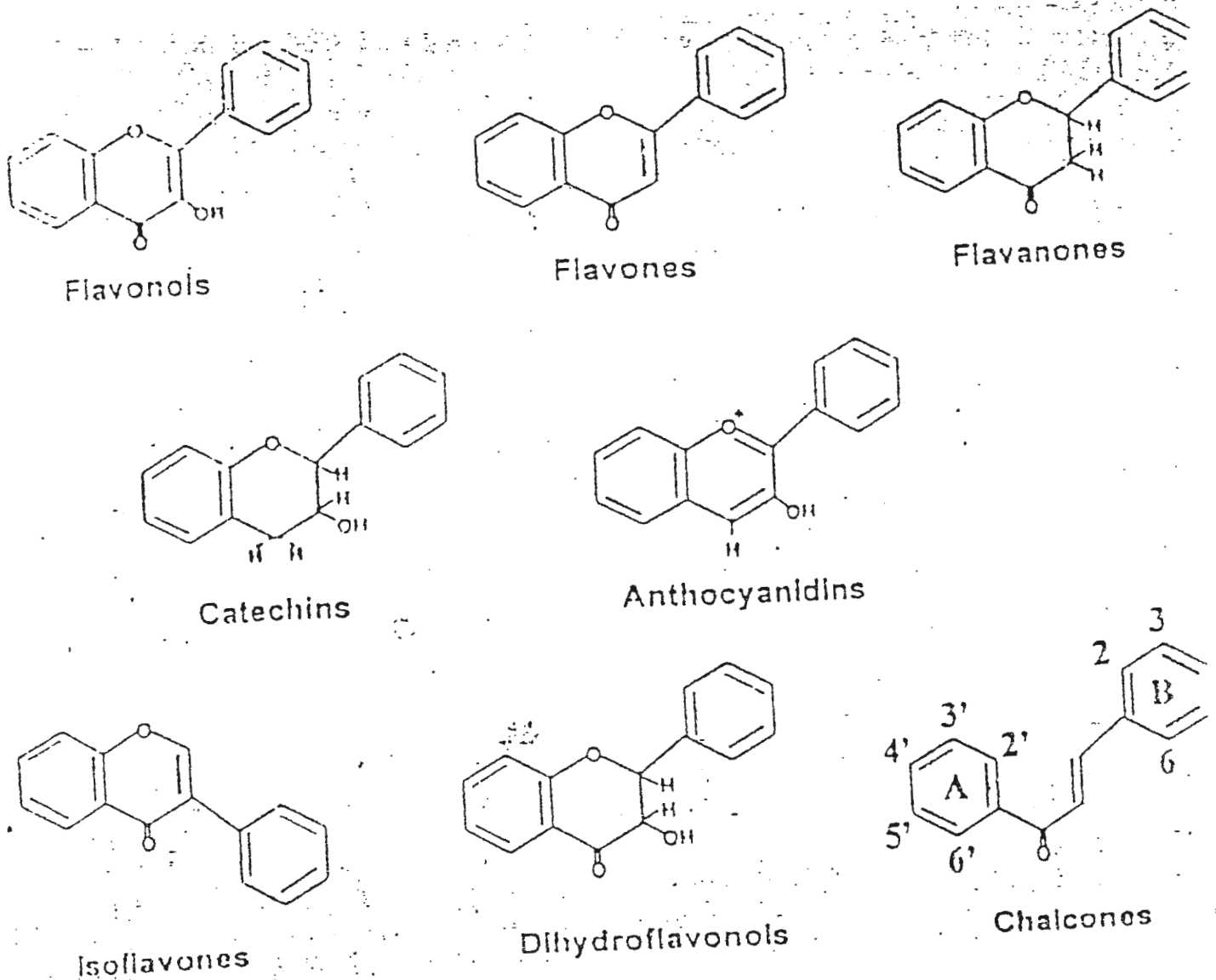


Figure 10 : structure des classes majeurs des flavonoïdes) [26].

Les Flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste à partir de Cinnamoyl co-A provenant du reticulum endoplasmique, Combinés sous forme d'hétérosides, ils quittent le chloroplaste et s'accumulent dans des vacuoles [41]. (Figure 10).

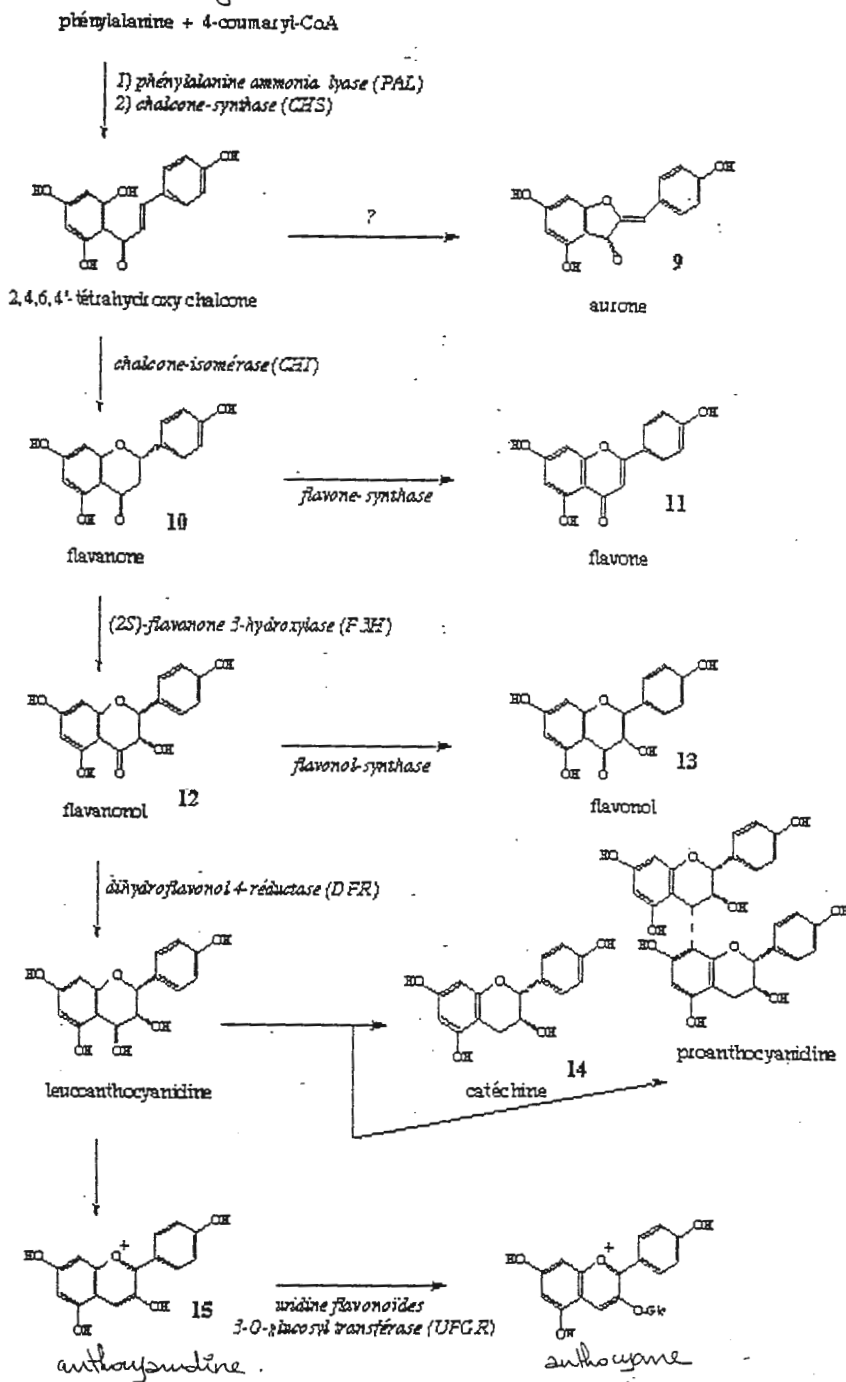


Figure 10: Les différentes réactions enzymatiques conduisant aux principales familles des Flavonoïdes [42].

II.5.4. Propriétés et actions des Flavonoïdes :

Au niveau biochimique ; la principale propriété des flavonoïdes c'est leur capacité **anti-oxydante** ; cette faculté leur permet de capter les radicaux libres, notamment l'ion peroxyde « **effet Scavanger** » ; ceci leur confèrent in vitro la capacité de diminuer l'activité d'enzyme comme : les cyclooxygénases, les hydrolases, les hyaluranidases, les béta-galactosidases, les oxydoreductases et d'autres possèdent également une grande affinité pour les ions divalents (Cu^{++} , Zn^{++} , Fe^{++} ...) [38].

Une autre action est remarquée au niveau vasculaire sur la perméabilité capillaire qui est assurée avec la participation de la vitamine C. notamment de la cyclooxygénase in vitro entraîne une diminution de l'activation plaquettaire, d'autres actions sont remarqués sur l'inflammation et sur les cellules tumorales (in vitro il a été observé une restauration de la fonction des pompes Na^+/K^+ , déficientes des cellules tumorales) ceci leur conférerait une propriété **anti-tumorale**; à considérer avec la plus grande prudence [46].

Les flavonoïdes peuvent être des pro-oxydants. Alors de nos jours les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical avec une activité antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoire, anti-allergique et anti-cancéreuse...etc. Plusieurs familles des flavonoïdes sont toxiques pour les insectes et les poissons, mais sans toxicité particulière pour les mammifères qui en ingèrent.

Une des propriétés majeurs est liée à la coloration des fleurs qui ont un effet attracteur [38].

II.5.5. Mode d'action des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont une structure qui leur permet de piéger les radicaux libres en les neutralisant par fixation de deux atomes d'hydrogènes fournis par deux fonction phénol.

Il semble que la capacité anti-oxydante d'un flavonoïde dépende de son affinité pour les radicaux libres et donc de sa structure [26] (figure 12).

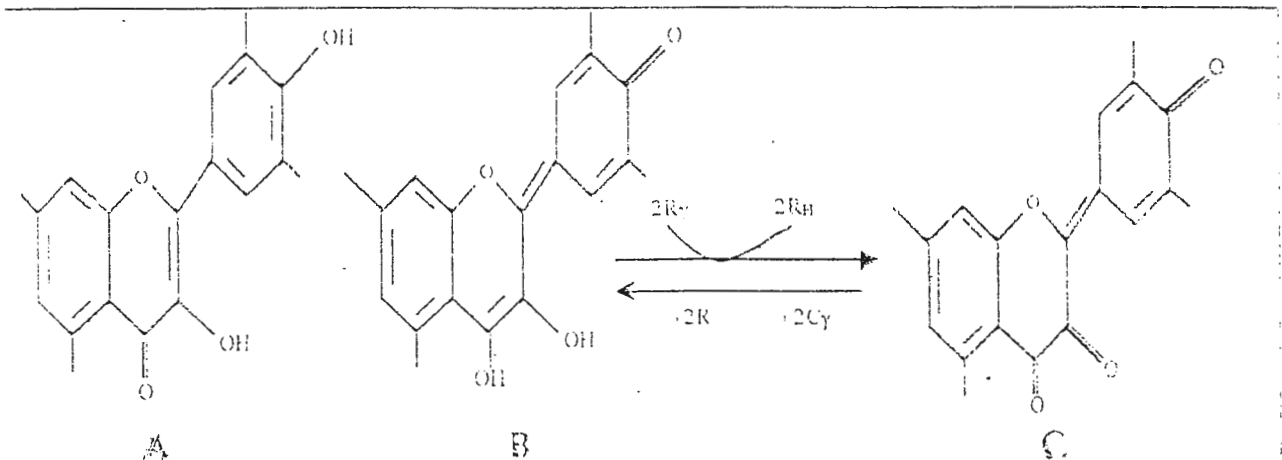


Figure 12 : Mode d'action des Flavonols (A et B) [39].

II.5.6. Flavonoïdes et cancer :

Le cancer est considéré essentiellement comme une expansion des cellules dans un tissu, au delà du nombre approprié à sa croissance et sa fonction normale. La phase de promotion débute lorsqu'une cellule primordiale acquiert une mutation, qui la rend différente de ses voisines et lui permet de se multiplier et former une lésion; d'autres cellules s'échappent et s'éloignent pour former des tumeurs secondaires dans la plupart des cancers humains, les mécanismes génotoxiques sont à l'origine des mutations [12].

Des substances cancérigènes et de nombreux agents mutagènes peuvent être la cause du cancer. De ce fait, les chercheurs s'intéressent également à ces agents mutagènes des espèces activées de l'oxygène, qui est par addition d'un électron forme le radical super-oxyde qui donne ensuite le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence d'ions féreux Fe^{+2} , Cu^{+2} . ce dernier peut se décomposer en radicaux

hydroxyls (OH) très réactifs qui endommagent directement l'ADN [13]. Pour lutter contre cette menace, des nombreux systèmes reposent sur des enzymes et sur des antioxydants solubles dans l'eau ou dans les lipides sont déployées sur les sites les plus vulnérables aux dommages oxydatifs, et dépendent souvent des antioxydants, fournis par l'alimentation d'origine végétale ; alors les substances phénoliques sont capables d'activer des mécanismes naturels de la défense anticancéreuse en activant la détoxification des substances cancérigènes ou les radicaux libres anti- ADN ou anti- membranes [12].

In vitro, de nombreux travaux ont démontré l'action des flavonoïdes aux premiers stades de phase d'initiation cancéreuse [26] .

Les avantages préventifs d'une alimentation diversifiée d'origine végétale sont apparus claires en stimulant des mécanismes naturels de défense du corps [40].

La quercétine ; flavonoïde le plus abondant dans l'alimentation peut supprimer la mitose des cellules cancéreuse et ainsi le renouvellement cellulaire[42].

Enfin ; les flavonoïdes font actuellement l'objet d'études pour mieux comprendre leurs effets protecteurs sur les maladies aussi graves que le cancer, ces effets reposent essentiellement sur leurs propriétés : « **anti radicaux libres** ». Malgré la multiplicité des études fondées sur les flavonoïdes et leurs effets préventifs sur les cancers, leur intérêt reste toujours à considérer avec prudence[11].

*** Présentation :**

- Dans la circularine.
- Dans Daflon 375 et 500 mg.
- Dans Fragiprel.
- Dans Soluridine – Papaverine. Fretard ;
- Difrarel.
- Relvene [5].

Nous avons utilisé dans notre travail le **Daflon 500** mg (fraction flavonoïque purifiée micronisée) qui est présenté comme suit:

- comprimé enrobé (saumon) boîte de 30.
- Modèle hospitalier : boîte de 100 comprimés sous plaquette thermoformée unidose.

Ce médicament est indiqué dans les cas suivants :

- traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veino-lymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primo-décubitus).
- Traitement des signes fonctionnels liés à la crise-hémorroïdaire.

Comme effets indésirables :

Quelques cas de troubles digestifs (1%), n'obligeant pas l'arrêt du traitement.

- **Pharmacocinétique** : chez l'homme après l'administration du médicament avec diosmine marquée au carbone 14 :
 - l'excrétion essentiellement fécale et l'excrétion urinaire est en moyenne de 14% de la quantité administrée.
 - La demi-vie d'élimination est de 11 heures.
 - Le produit est fortement métabolisé, ce métabolisme est objectivé par la présence de différents acides phénols dans les urines [48].

II.6. Electrophorèse :

II.6.1. Généralités :

L'électrophorèse est une méthode d'analyse (identification et dosage) et de fractionnement basée sur la migration différentielle de particules, chargées électriquement sous l'influence d'un champ électrique.

En électrophorèse, on étudie la séparation des particules chargées par différence de vitesse de transport [22].

II.6.2. Mobilité électrophorétique en milieu liquide :

Sous l'action d'un champ électrique, la macromolécule se déplace avec une vitesse proportionnelle au champ.

La mobilité d'une particule migrante en milieu liquide sous l'influence d'un champ électrique uniforme dépend de trois facteurs :

- Elle est **proportionnelle à sa charge**, ce qui implique qu'une électrophorèse doit être pratiquée à PH constant, puisque par ces ampholytes, la charge dépend de PH.
- Elle est inversement proportionnelle à son rayon quand on peut l'assimiler à une sphère, sinon on dit qu'elle dépend de sa taille et de sa forme.
- Elle est inversement proportionnelle au coefficient de viscosité du tampon lequel augmente avec la concentration et diminue quand la température augmente [15].

II.6.3. Mobilité apparente d'une macromolécule en électrophorèse sur support :

En électrophorèse sur support, la macromolécule migre dans une veine liquide contenue dans un canalicule, un pore du support.

L'influence du support modifie la mobilité de la macromolécule de façon très importante, on parle alors de **mobilité apparente**.

La mobilité apparente d'une macromolécule comme en électrophorèse sur support dépend :

- de sa charge : elle ne lui est plus proportionnelle comme en électrophorèse libre.
- De sa taille et sa forme.
- De la viscosité du tampon : il est plus inversement proportionnelle.
- Du courant d'électroendosmose : qui résulte la présence de charge négative portée par la matrice du support.
- Le courant d'évaporation ou rhéophorèse.
- Le courant d'électrolyse.

Enfin interviennent :

- Les facteurs liés au support :

Les propriétés absorbantes du support se manifestent à l'égard des macromolécules à séparer et vont plus ou moins en freiner la migration.

La texture et la réticulation du support jouent également un rôle, le support présente des canaux sinueux dans lesquels la migration s'effectue de sorte que la distance de migration mesurée est inférieure au déplacement réel.

La taille des mailles du réseau exerce un effet de tamis moléculaire qui pour certaines techniques électrophorétiques améliorer leur pouvoir de résolution [22].

II.6.4. Facteurs qui régissent la migration :

Le déplacement dépend de plusieurs facteurs :

II.6.4.1. Le temps :

Dans un milieu homogène, la particule soumise à un champ électrique, se déplace à vitesse constante, le déplacement sera donc proportionnel au temps de migration [22].

II.6.4.2. La force ionique du tampon :

La force ionique du tampon μ se définit comme la demi-somme des produits des concentrations molaires des ions C_i par le carré de valence V_i [22].

$$\mu = 1/2 \sum C_i V_i^2$$

II.6.4.3. La température :

La conductivité du tampon croît rapidement avec la température, il faut donc la maintenir constante. Or il se produit dans le bac d'électrophorèse un échauffement dû à la libération de chaleur par effet joule.

La quantité de chaleur dégagée est proportionnelle à la résistance et au carré de l'intensité du courant électrique utilisé [22].

II.6.4.4. Le courant électrique continu :

Le déplacement d'une particule chargée dépend essentiellement de l'intensité du champ électrique, qui est égale au rapport de la différence de potentiel existant entre les électrodes par la distance séparant ces électrodes il s'exprime en volt/cm [22].

II.6.4.5. Le PH du tampon :

Le PH du tampon est particulièrement important à considérer lorsque les substances que l'on veut séparer par électrophorèse sont **amphotères**

En solution dans l'eau, un acide carboxylique par exemple possède une charge négative ($R-COO^-$) et migre donc en électrophorèse vers le pôle positif c'est à dire vers l'anode, une amine ($R-NH_3^+$) est chargée positivement et migre donc vers la cathode.

Pour les substances amphotères c'est à dire pour les substances possèdent à la fois une ou plusieurs fonctions acides et basiques, le PH joue un rôle déterminant dans l'ionisation de la molécule donc dans la définition de sa charge électrique.

Pour toute substance amphotère existe un PH dit **PH isoélectrique** ou **PHi** pour le quel la substance possède une charge nulle et ne migre donc pas à l'électrophorèse. Si le **PHi** du tampon choisi pour électrophorèse est égale au **PHi** de la substance, il n'y aura pas de migration alors que toutes les substances dont le **PHi** est diffère migreront vers l'anode ou vers la cathode.

On peut ainsi prévoir le sens de la migration d'une substance :

- PH du tampon inférieur au PHi → charge positive → migration vers la cathode.
- PH du tampon supérieur au PHi → charge négative → migration vers l'anode.

Ces propriétés sont largement utilisées pour la séparation des acides aminés et surtout pour celles des protéines [15].

II.6.4.6. La force de freinage « courant d'électroendosmose » [22].

II.6.5. Méthodes électrophorétiques :

Les principales techniques électrophorétiques sont les suivantes :

II.6.5.1. Electrophorèse en veine liquide ou électrophorèse de frontière :

Les premiers essais électrophorèse furent effectués en solution dans un tube en U de section cylindrique, le pouvoir résolutif d'un tel système était modeste et il est bien difficile de définir un des constituants. **Tiselius** résolut ce problème par sa cellule à section rectangulaire, immergée dans un bain réfrigérant à + 4 C°, température du maximum de densité de l'eau, la chaleur produite par effet joule se dissipe aisément grâce à la faible épaisseur de la cellule, les courants de convection sont ainsi éliminés [2].

II.6.5.2. Electrophorèse de zone :

1. Electrophorèse sur papier :

1.1. A base tension (100 à 200 volts) : elle est utilisée pour les protéines, la révélation est réalisée grâce à des colorants (noir amide, rouge ponceau) qui se fixent sur les protéines et y restent fixés après lavage de la bande de papier.

Des appareils spéciaux permettent de mesurer l'intensité de la coloration et de déterminer ainsi le pourcentage de chaque zone de migration.

Les révélations peuvent être plus spécifiques : coloration spécifique des fractions lipidiques par le noir soudan, ou des fractions glucidiques des protéines (coloration par réactif de **Schiff**) mais aussi colorations spécifiques d'une protéine ayant une activité enzymatique [2] (Figure 19).

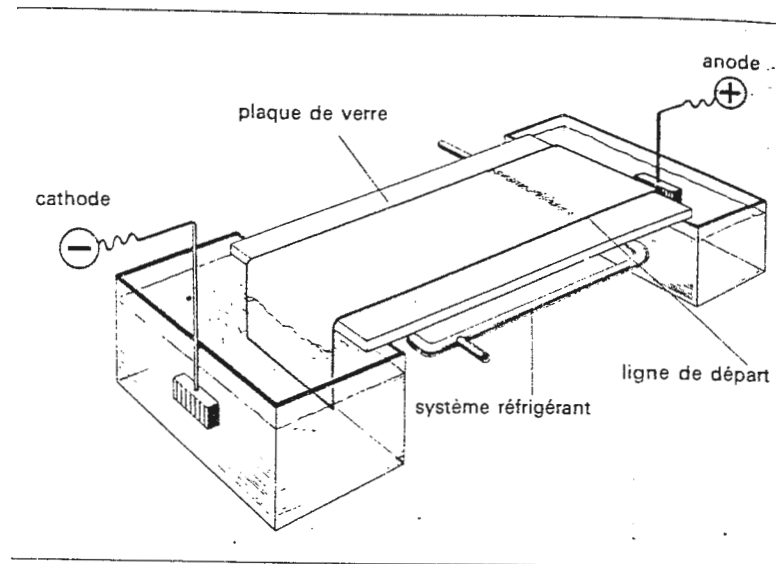


Figure 13 : Electrophorèse sur papier [2].

1.2. A haute tension (1000 à 3000 volts) : elle est utilisée pour les petites molécules (acide aminé, peptides...), elle nécessite un refroidissement suffisamment efficace pour absorber l'énergie calorifique dégagée par effet joule, la révélation varie selon les cas [2].

2. Electrophorèse sur acétate de cellulose :

l'acétate de cellulose c'est le support habituel pour la séparation des protéines sériques, une petite quantité de sérum est disposée à la surface de la feuille d'acétate de cellulose sous forme d'une fine ligne, grâce à un applicateur spécial : le sérum est retenu par sa tension superficielle entre deux fils métalliques, après migration (30 à 230 volt) et coloration des protéines (Figure 13).

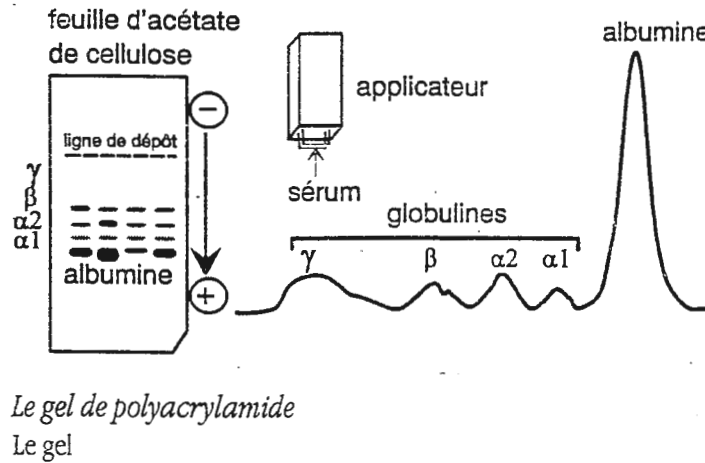


Figure 13 : Electrophorèse sur acétate de cellulose [2].

3. Electrophorèse sur gel d'amidon ou de polyacrylamide :

Les gels sont préparés extemporanément et coulés dans un support, ce type d'électrophorèse est utilisé pour les séparations protéiques où elles associent à la séparation des macromolécules en fonction de leur charge, une séparation en fonction de leur taille. Les gels forment en effet une sorte de filet dont les mailles retardent les molécules dont la taille est élevée

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide peut être réalisée en présence de sodium dodécyl sulfate ou S.D.S [15] (Figure 14).

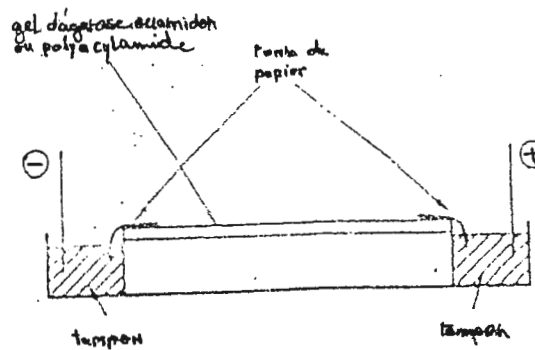


Figure 14 : Coupe d'un bac pour électrophorèse sur amidon ou polyacrylamide [15].

4. Électrophorèse sur gel d'agarose :

Des gels de très grande porosité peuvent être constitués en utilisant des faibles concentrations d'agarose. Cette grande porosité permet la migration de molécules de poids moléculaire élevé et même de complexes supra-moléculaires (virus, complexes enzymatiques, lipoprotéines, acide nucléiques), ces gels se prêtent aux expériences d'immunoélectrophorèse et de focalisation électrique [2] (Figure 15).

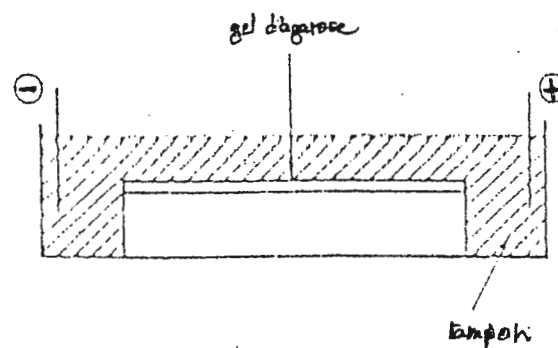


Figure 15 : coupe d'un bac pour électrophorèse en agarose :
migration soumarine [2].

II.6.6. Immunoélectrophorèse :

L'immunoélectrophorèse est réalisée en gel d'agarose sur une lame de microscope (figure 16) coulé au laboratoire ou sur gel commercial coulé sur film plastique et prêt à l'emploi permettant l'analyse simultanée de plusieurs échantillons. L'immunoélectrophorèse associe à deux étapes successives :

II.6.6.1. l'électrophorèse dans un premier temps : les points sont séparés par électrophorèse à partir d'un petit puit de dépôt creusé dans un gel tel que l'agarose. Ainsi chaque protéine est répartie sur une ellipse plus ou moins allongée.

II.6.6.2. Immunodiffusion dans un deuxième temps : dans une gouttière creusée parallèlement à la direction de la première étape, un antisérum est déposé, qui diffuse également à partir de la tache obtenue après l'électrophorèse.

Au point d'équivalence, il apparaît ainsi un arc de précipitation, la visualisation est facilitée par la coloration des protéines [2].

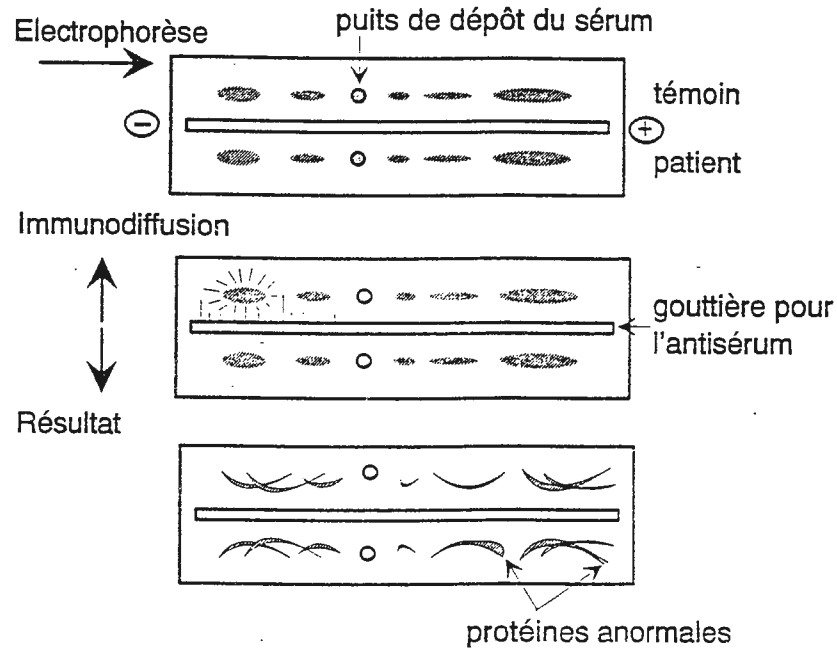


Figure 16 : Principe de l'immunoélectrophorèse [2].

II.6.7. Électrofocalisation :

Il s'agit d'une électrophorèse réalisée dans un gradient de PH, les composés migrent en fonction de leur point isoélectrique et s'arrêtent dans la zone de PH correspondant au P_{Hi} . Le gradient de PH est réalisé au cours de l'électrophorèse même par un mélange d'un grand nombre d'acides aminés [15].

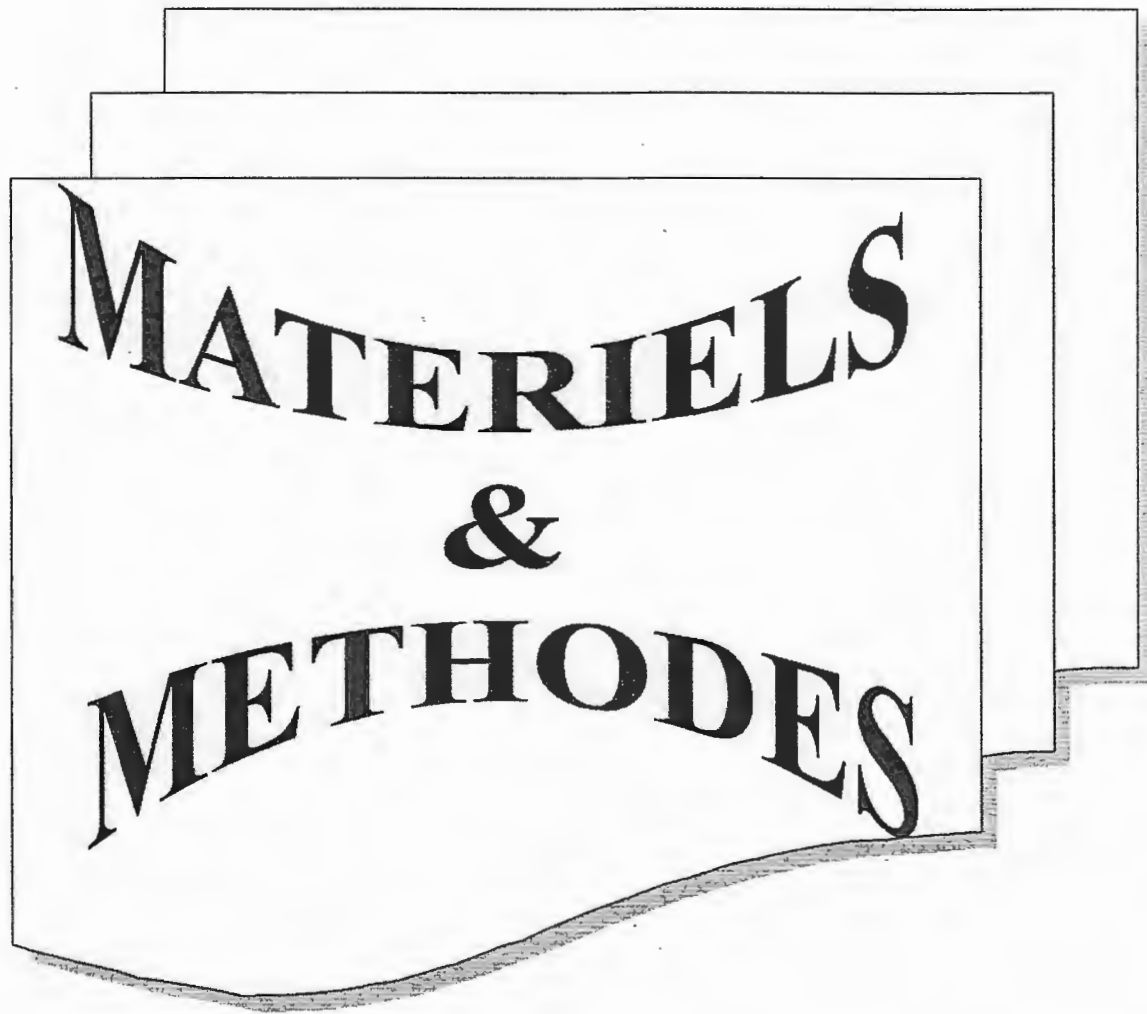
II.6.8. Électrophorèse des protéines :

La séparation des protéines selon leurs charges électriques dépend de leurs propriétés acido-basiques qui reflètent la composition en chaînes latérales ionisables de leurs chaînes polypeptidiques [22].

Chaque protéine possède un PH isoélectrique caractéristique pour lequel elle ne migre pas dans un champ électrique.

Il existe une méthode appelée « l'électrophorèse de zone » qui permet la séparation des protéines selon leurs charges électriques.

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 convenable [16].



MATERIELS
&
METHODES

III.1. Matériels :**III.1.1. Entretien des animaux :**

Nos expériences ont été réalisées sur les rats (femelles) de souches **Wistar Albinos** (de l'institut Pasteur – Alger) pesant environ 200g. les animaux sont élevés dans des cages en plastique. La nourriture se compose de croquettes et de l'eau ; l'animalerie est soumise a une photopériode de 12/24 heures, et maintenue à une température ambiante de 25 C°.

III.1.2. Traitement des animaux :

Trois lots d'animaux qui ont été utilisés pour l'étude comportant :

1^{er} lot : 2 Rats témoins, reçoivent de l'eau distillée.

2^{ème} Lot : 5 Rats reçoivent seulement le cyclophosphamide (80 mg/kg pour la première cure et 106 mg/kg pour la 2^{ème} cure, 15 jours après la 1^{ère}).

3^{ème} Lot : les 5 Rats reçoivent :

- 1- Flavonoides (Daflon) 100mg/Kg pendant 7 Jours et 200 mg/Kg pendant la deuxième cure.
- 2- Le cyclophosphamide (Endoxan) 80mg/kg pendant la première cure et 106 mg/kg pendant la 2^{ème} cure.

L'Endoxan est administré au 7^{ème} jour et au 21^{ème} jour.

Les 03 Lots sont réservés pour les expériences des études de :

- Toxicité aiguë.
- Toxicité chronique.

III.1.3. Voies d'administration des médicaments :

Le Daflon (500mg comprimé) est dissous dans l'eau distillée puis administré par gavage gastrique, en utilisant un cathéter en plastique.

Le cyclophosphamide (Endoxan 500mg injectable) est administré par voie intraveineuse, juste dans la veine latérale de la queue du rat, sans anesthésie en évitant toute extravasation.

III.1.4. Prélèvements sanguins : nous avons réalisé des prélèvements sanguins dans un intervalle régulier (J3, J7, J14, J21, J28). Le sang est prélevé sur tubes secs

à l'aide d'un cathéter hémotube (tube pour hématocrite) au niveau du sinus carvéneux rétro-orbital riche en sang.

Le sang est recueilli puis centrifugé à 3500 tours/min pendant 10 minute.

Les sérums obtenus sont congelés à -18 C° pour effectuer la technique d'électrophorèse.

III.1.5. Matériels et réactifs utilisés :

*** Accessoires nécessaire :**

- Pour l'électrophorèse :

- Alimentation- chambre de migration Kit applicateur.
- Micro pipette 0 à 10 μ l.
- Bacs de coloration et portoir.
- Etuve « IOD »
- Densitomètre sophistiqué à 546 nm .

- Pour dosage des protéines Totaux :

- Réactif Biuret
- Spectrophotomètre

*** Réactifs et consommables :**

- Pour électrophorèse

- Bandes d'acétates
- Tampon HR buffer (1 sachet. dilué dans 750 ml d'eau distillée).
- Rouge ponceau (1 boîte diluée dans 1000 ml d'eau distillée).
- Solution clarifiante « clear aid »
- Contrôle Kemtrol normal et anormal.
- Feuilles de résultats
- Papier buvards
- Ponts papiers.
- Méthanol pur
- Acide Acétique pur.

III.2. Méthodes :

III.2.1. Etude de la toxicité : la toxicité s'intéresse à la toxicité hématologique certe la toxicité causée par les anticancéreux sur les taux des protéines sériques.

Notre travail est divisé en deux parties :

La 1^{ère} partie : correspond à l'étude de l'effet d'une dose de 80 mg/kg d'Endoxan et de 100 mg/kg de Daflon.

La 2^{ème} partie : correspond à la 2^{ème} cure, les animaux reçoivent une dose de 106 mg/kg d'Endoxan et 200 mg/kg de Daflon.

III.2.1.1. Préparation des médicaments :*** 1^{ère} cure :**

- **préparation du Daflon :** nous avons étudié la posologie de 100 mg/kg.

$$\begin{array}{l} 100 \text{ mg} \longrightarrow 1 \text{ kg} \\ x \text{ mg} \longrightarrow 0,2 \text{ Kg} \end{array}$$

donc : $x = 20 \text{ mg/kg}$

un rat de 0,2 kg reçoit 20 mg de Daflon.

Le volume à administrer est :

$$\begin{array}{l} 500 \text{ mg} \longrightarrow 25 \text{ mL} \\ 20 \text{ mg} \longrightarrow x' \text{ mL} \end{array}$$

$x' = 1 \text{ mL / rat}$

• Préparation du cyclophosphamide :

Le volume administré est de 0,2 mL/Rat ; donc la préparation du médicament est :

$$\begin{array}{l} 16 \text{ mg} \longrightarrow 0,2 \text{ mL} \\ 500 \text{ mg} \longrightarrow y \text{ mL} \end{array}$$

$$y = 6,25 \text{ mL.}$$

500 mg du médicament (poudre) dissous dans 6,25 mL d'eau distillée.

• Posologies :

- Les Rats du 2^{ème} Lot reçoivent l'Endoxan juste au 7^{ème} jour à un volume de 0,2 mL dosé à 16 mg/kg (80 mg/kg).
- Les Rats du 3^{ème} Lot reçoivent le Daflon quotidiennement pendant 7 jours à un volume de 1 mL dosé à 20 mg/kg (100 mg/kg), au 7^{ème} jours les animaux reçoivent les mêmes volumes et même posologies de cyclophosphamide que ceux du 2^{ème} Lot.

*** 2^{ème} Cure :**

Nous avons augmenté les posologies aussi bien du Daflon que du cyclophosphamide, alors nous avons étudié la dose de 106 mg/kg d'Endoxan et de 200mg/kg du Daflon.

III.2.1.2. Etude de la toxicité :

- **Toxicité aigue :** cette toxicité en générale réversible s'observe de quelques heures à quelques jours et dure de quelques heures à 4 – 8 semaines après l'administration d'un médicament anticancéreux chez l'homme. Après 3 jours de l'administration d'Endoxan, nous avons effectué un prélèvement sanguin qui correspond à l'étude de la toxicité aigue chez l'animal.
- **Toxicité chronique :** cette toxicité ne se manifeste qu'après plusieurs administrations d'un ou de plusieurs médicaments anticancéreux.

Notre étude de la toxicité chronique s'effectue après le 7^{ème} jours d'administration de l'Endoxan.

7^{ème} et 14^{ème} jours après l'administration du cyclophosphamide de 80 mg/kg, nous avons effectué des prélèvements sanguins qui correspondent à la toxicité chronique de la 1^{ère} cure.

Dans la 2^{ème} cure, les prélèvements sont effectués après : 7, 14 et 21 jour de l'administration du cyclophosphamide de 106 mg/kg.

III.2.2. Dosage des protéines totaux :

III.2.2.1. Principe : les protéines forment avec les ions cuivrique en milieu alcalin un complexe coloré.

*** Echantillon :**

- 1- Sérum.
- 2- Conservation six jours entre 4 et 25 C°.

*** Concentration des solutions à l'emploi :**

- **Solution (1) :** réactif du biuret (soude : 0,1/ tartrate de sodium et de potassium : 15 m mol/l ; sulfate de cuivre : 6 m mol/l).
- **Solution (2) :** réactif témoin/soude : 0,1 mol ; tartrate de sodium 6m mol/l.
- **Solution (3) :** (standard) : solution de protéines : 6g/dl.

*** Mode opératoire :** longueur d'onde : Hg.546 nm(530-570nm).

Cuve : 1cm de trajet optique – température d'incubation : 20-25 C°.

*** Mesure contre solution :****• Introduction dans un tube a essai :**

Sérum	0,1 ml
Solution	5,0 ml

Le mélange est incubé 30 minute :à 20-25 C°. Lire l'extinction l'essai (E_{essai}), contre la solution 1 (témoin- réactifs).

Si la mesure ne peut pas être effectuée à 546 nm ; déterminer une fois pour chaque coffret l'extinction du standard (double mesure) en remplaçant dans le schéma de pipetage le sérum par standard (solution3) et utiliser cette valeur pour les calculs.

La limite de dilution est atteinte pour $E_{\text{essai}} = 0,700$. dans le cas d'extinction plus élevées ; diluer l'échantillon dans le rapport 1 + 1 à l'aide de solution physiologique de chlorure de sodium et refaire le dosage : résultat x 2.

Calcul :

Concentration (C) en protéines totales dans l'échantillon :

1 : Si la mesure est effectuée à 546 nm ; obtenir la valeur de la concentration en protéines totales à partir des formules suivantes :

$$C = 190 \times E_{\text{essai}} \text{ (g/l)}.$$

$$C = 19 \times E_{\text{essai}} \text{ (g/dl)}.$$

En utilisant le standard :

$$C = 60 \times \frac{E_{\text{essai}}}{E_{\text{standard}}} \text{ (g / l)}$$

$$C = 6 \times \frac{E_{\text{essai}}}{E_{\text{standard}}} \text{ (g / dl)}$$

**III.2.3. Electrophorèse des protéines :**

III.2.3.1. Principe général : les protéines sont séparées en fonction de leur charge déterminée par leur point isoélectrique (PHi) dans un champ électrique.

Dans notre étude, nous avons appliqué des électrophorèses sur les sérums des Rats des trois Lots.

Elles ont été réalisées au laboratoire centrale de l'hôpital Mohamed Seddik ben Yahia à Jijel.

III.2.3.2. Mode opératoire :

Les principale étapes d'une électrophorèse sur bande d'acétate du cellulose sont les suivantes :

- Préparation du support.
- Dépôt du l'échantillon.
- Migration électrophorétique.
- Fixation et coloration des protéines séparées.
- Caractérisation et quantification des protéines séparées.

1. Préparation et mise en place des bandes :

Les bandes sont marquées sur l'une de leurs extrémités, soit le côté cathodique et sont ensuite imprégnées de solution tampon (PH=8,6).

Les deux électrodes sont placées dans chacun des compartiments composant la cuve d'électrophorèse remplis du tampon trempées dans le compartiment correspondant, ferment ainsi le circuit.

2. Dépôt de l'échantillon :

3 μ L du sérum sont déposés sur le côté cathodique de la bande, le dépôt est réalisé à l'aide d'un applicateur.

3. Migration électrophorétique :

La tension est réglée à 230 Volt ; ensuite la cuve est connectée à l'alimentation. La migration dure environ 30 minutes.

4. Fixation et coloration des protéines séparées :

Les bandes sont immergées dans une solution de rouge ponceau (colorant) pendant 5 min, puis décolorées à l'acide acétique 5%, trois bains successifs pendant 5 min pour chacun, et la transparisation des bandes dans une solution composée de 67% méthanol pur, 29% acide acétique pur et 4% solution clarifiante) pendant 5-10 min.

Après cette étape les bandes sont bien égouttées (placées verticalement sur un coin pendant 1 min, puis mises dans un autoclave de température 50C° à 60C° pendant 10 min pour séchage.

5. Caractérisation et quantification des protéines séparées :

Sur l'électrophorogramme obtenu après fixation et coloration du bandes d'acétate du cellulose, nous avons distingué, cinq bandes d'épaisseur et d'intensité différentes, correspondant aux fractions protéiques : albumine, α_1 , α_2 , β et γ globulines (figure 13).

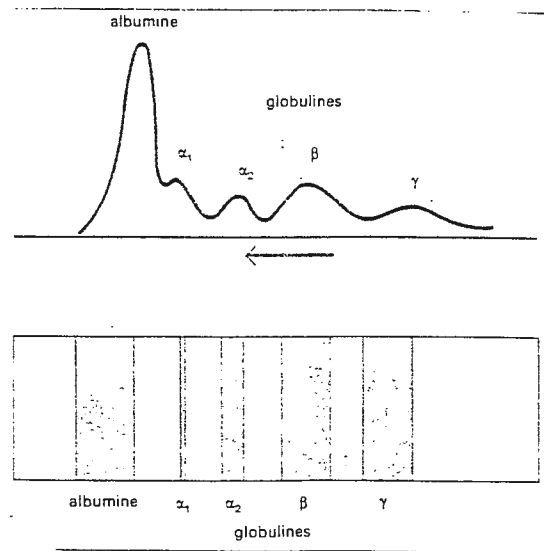


Figure 13 : Electrophorèse des protéines du sérum [16].

Nous avons fait la lecture des bandes grâce au densitomètre à 525 nm pour la détermination quantitative de chaque fraction protéique, le densitomètre trace les courbes des densités optiques obtenues pour chaque position de la bande.

III.2.4. Evaluation statistique :

Les résultats numériques et graphiques sont présentés sous forme de moyenne $\bar{x} \pm$ écart type (s).

Pour la comparaison des moyennes nous avons utilisé le teste du **Student**.

On doit calculer le volume de t qui est donné par la formule suivante :

$$t = \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{\sqrt{\frac{S^2}{N_A} + \frac{S^2}{N_B}}}$$

$X_A - X_B$: signifie les valeurs absolue de la différence.

$\bar{X}_A - \bar{X}_B$: (X_A : moyenne pour un paramètre A, X_B pour un autre B).

$$S^2 = \frac{S^2.A.(N_A-1) + S^2.B.(N_B-1)}{(N_A-1) + (N_B-1)}$$

N : le nombre de mesure.

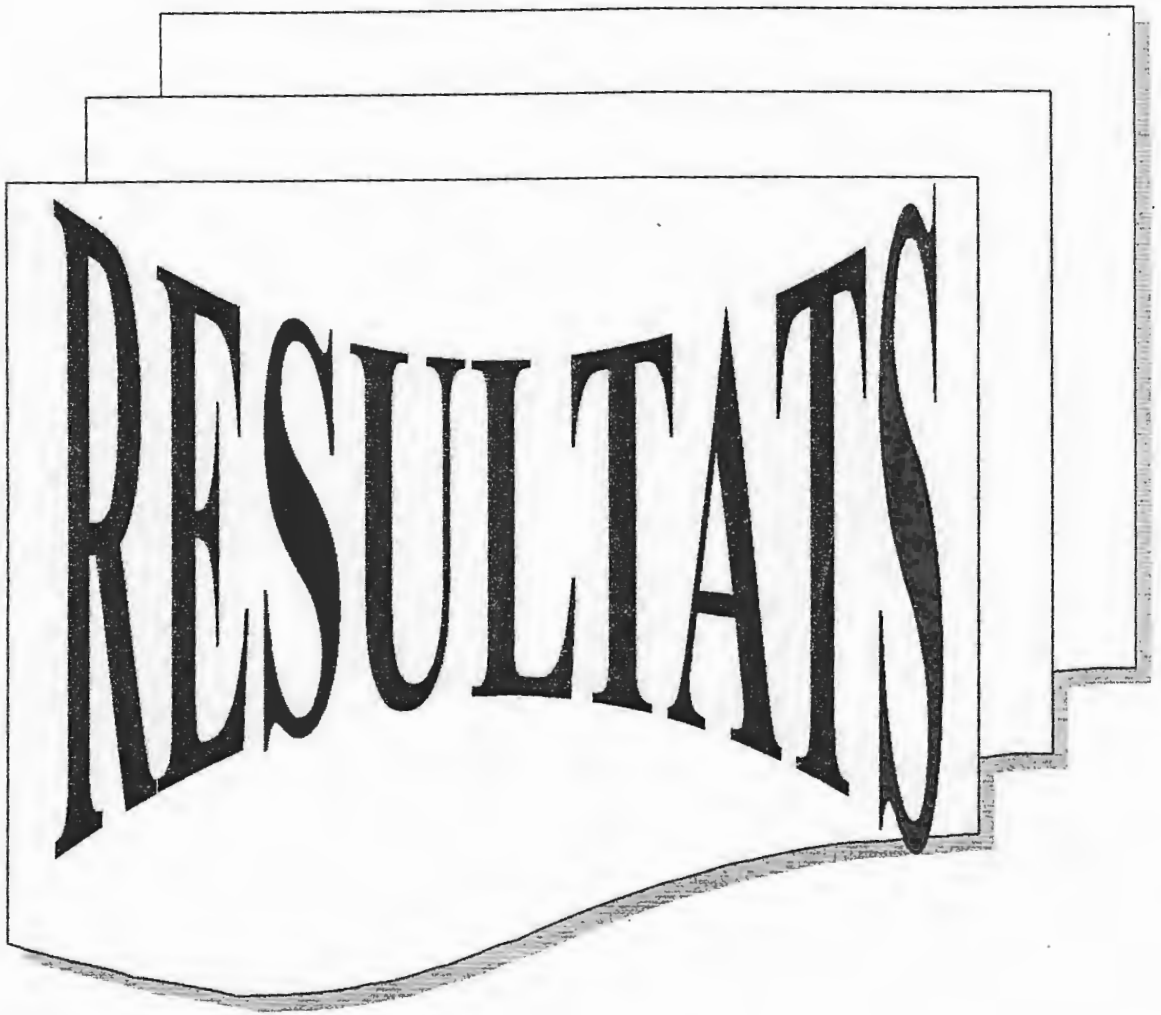
Après le calcul de t , on cherche dans la table de t la valeur correspondante au degrés de liberté qui est égale à : $N_A + N_B - 2$. la valeur trouvée par le calcul de t peut affirmer que les populations diffèrent avec un risque d'erreur Q tel que :

$Q < 0,05$ = la différence n'est pas significatif.

$0,05 > Q > 0,01$ = la différence est significatif.

$0,01 > Q > 0,001$ = la différence est hautement significatif.

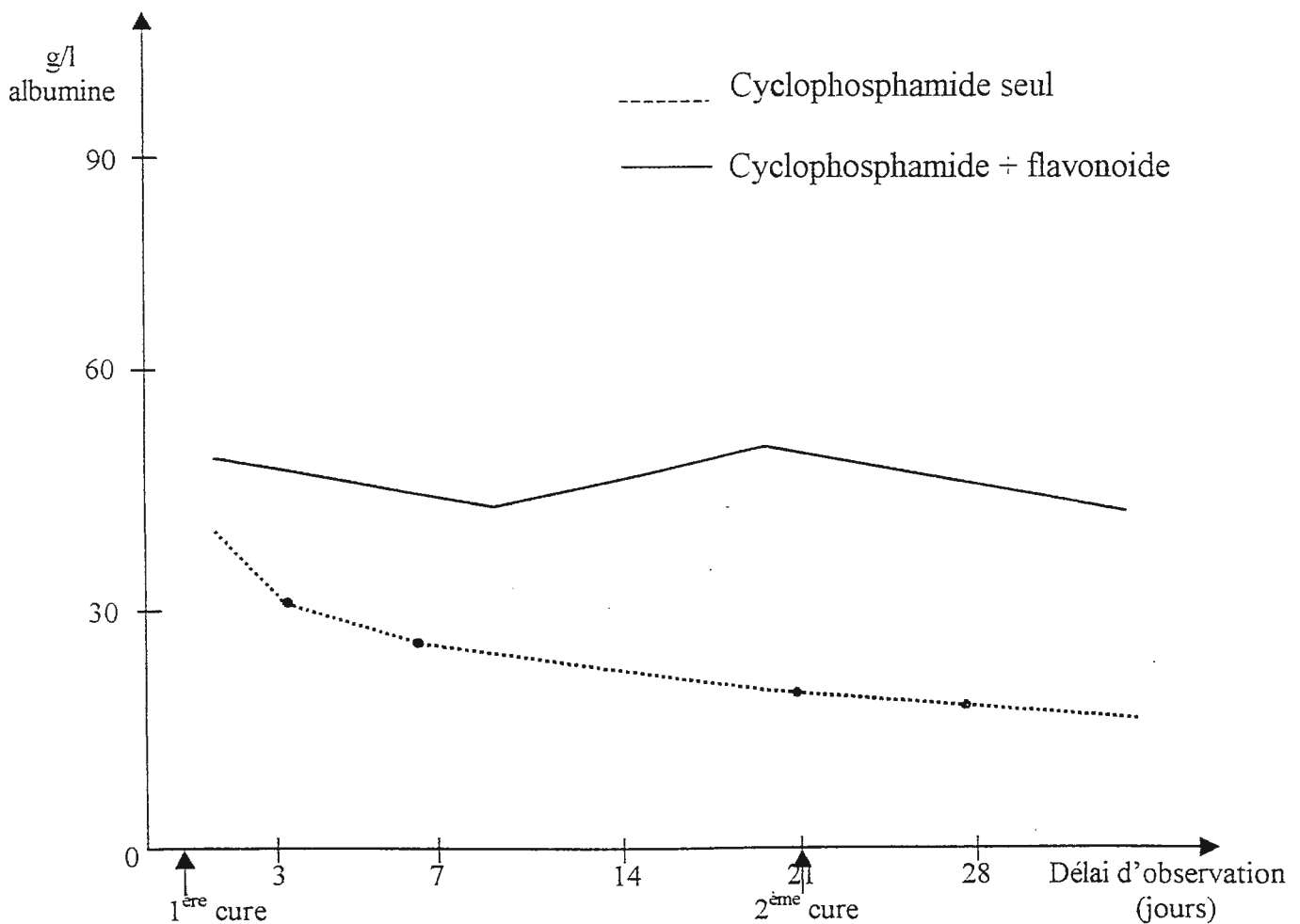
$Q = 0,001$ = la différence est très hautement significatif.



RESULTS

Notre étude est menée sur l'intérêt des flavonoïdes (Daflan 500mg) sur les variations des protéines sériques chez le rat au cours d'un traitement anticancéreux (cyclophosphamide 500 mg) consiste une étude de la toxicité causée par le cyclophosphamide à différentes doses (2 cures de 80 mg/kg et 106 mg/kg séparées de 21 jours), comporte une analyse du taux des protéines sériques. Le délai de 3 jours réalisé pour étudier la toxicité aiguë ; les doses ont été effectuées pendant 6 semaines aux délais de 7, 14, 21, 28 et 35 jours, afin d'évaluer les Toxicités du cyclophosphamide ou l'effet préventif des flavonoïdes à long terme (Toxicité chronique).

IV.1. Variation du taux de l'albumine :



Le résultat du taux de l'albumine chez un rat témoin est : $48,3 \pm 1,7$ (g/L)

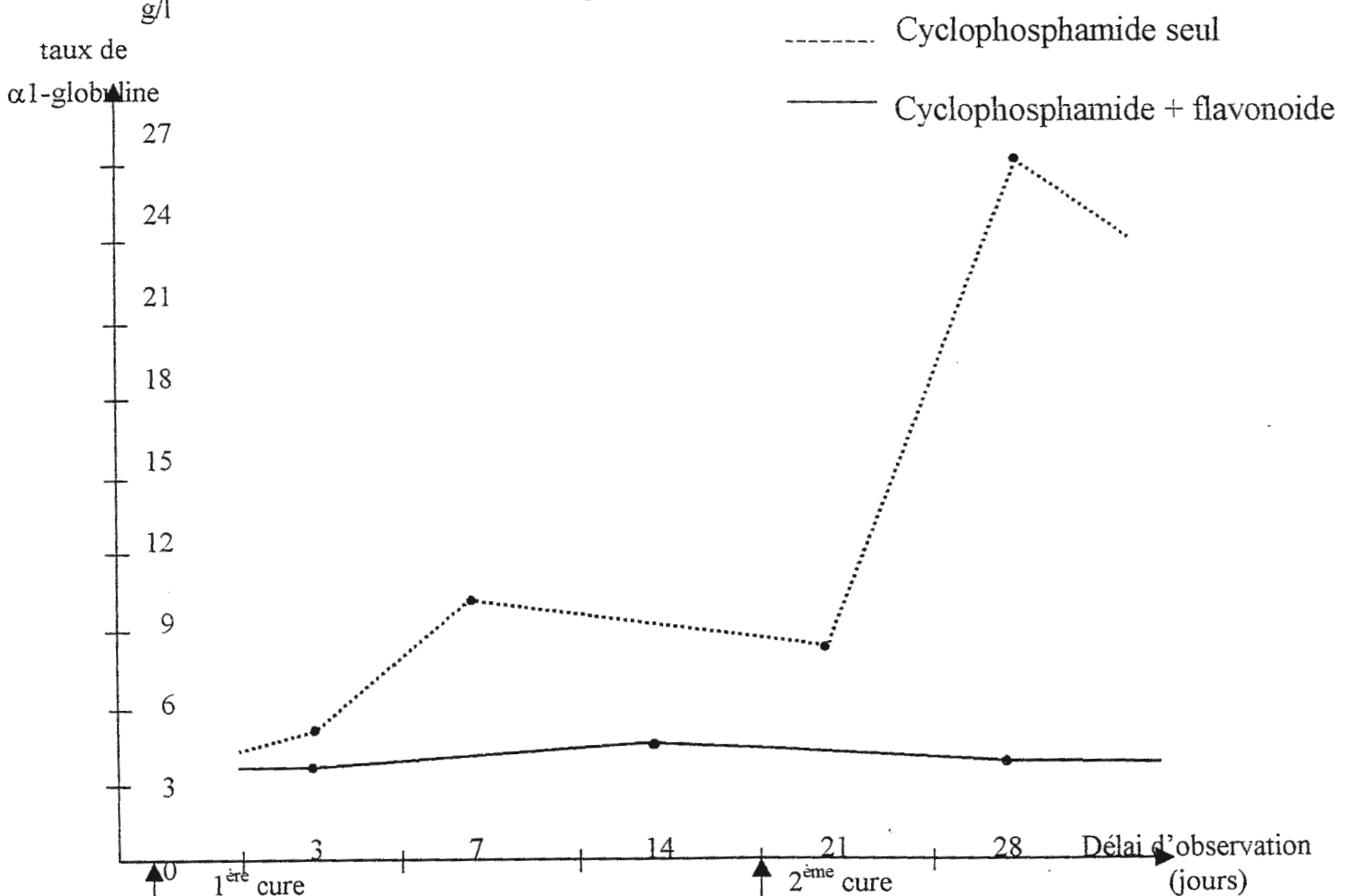
Figure 19 : schéma représente la variation du l'albumine.

Nous avons constaté une diminution significative du taux de l'albumine sérique dans le lot d'animiaux traités par le cyclophosphamide seul, surtout après l'administration de la 2^{ème} dose du cyclophosphamide, alors les résultats du lot traité par le cyclophosphamide plus flavonoïdes sont proches de la normale.

Au 4^{ème} jour d'observation ; nous ne remarquerons aucune modification, le taux d'albumine qui est sensiblement le même que celui du rat témoin. Entre le 8^{ème} et le 30^{ème} jour, nous avons observé une diminution du taux des protéines totaux caractérisée essentiellement par une hypoalbuminémie de 35% par rapport au lot témoin, l'albumine moyenne de 48 g/L chez le témoin chute à 25 g/L chez les sujets traités par le cyclophosphamide seul.

IV.2. Variation des taux des α-globulines :

IV.2.1. Variation des taux des α1-globulines :



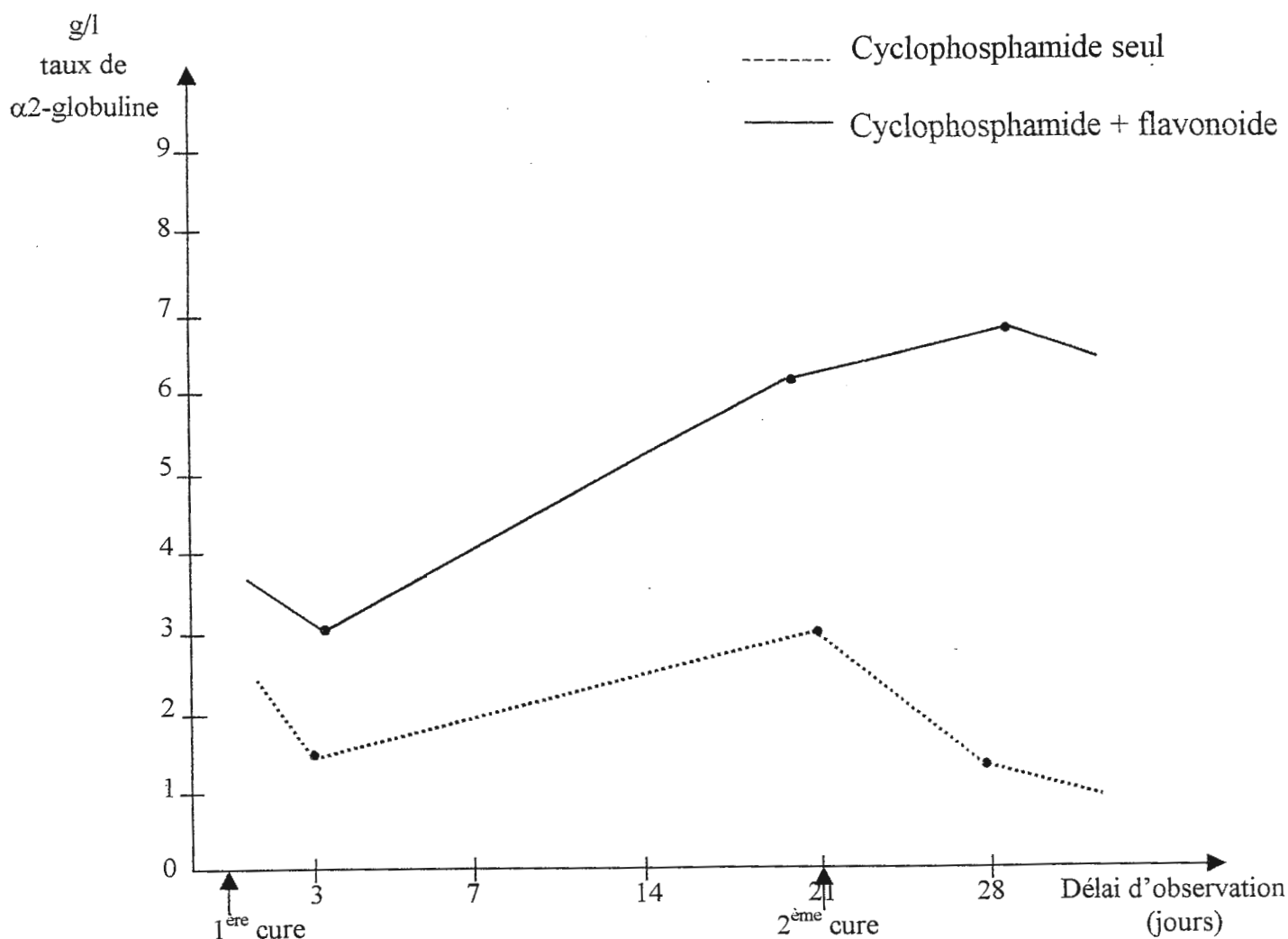
Le résultat du taux de α1 -globuline chez un rat témoin est : $2,8 \pm 1,2$ (g/L)

Figure 20 : schéma représente la variation de α1 -globuline.

Nous avons constaté une augmentation significative et biphasique du $\alpha 1$ -globulines dans le lot des rats traités par le cyclophosphamide seul, la 1^{ère} phase apparaît au 7^{ème} jour et fait suite à l'administration de la 1^{ère} cure du médicament anticancéreux et la seconde au 21^{ème} jour après l'administration de la 2^{ème} dose du cyclophosphamide.

Par contre les animaux pré-traités par les flavonoïdes montrent des valeurs proches de la normale par rapport au lot témoin.

IV.2.2. Variation du $\alpha 2$ -globuline :



Le résultat du taux de $\alpha 2$ -globuline chez un rat témoin est : $5 \pm 2,8$ (g/L)

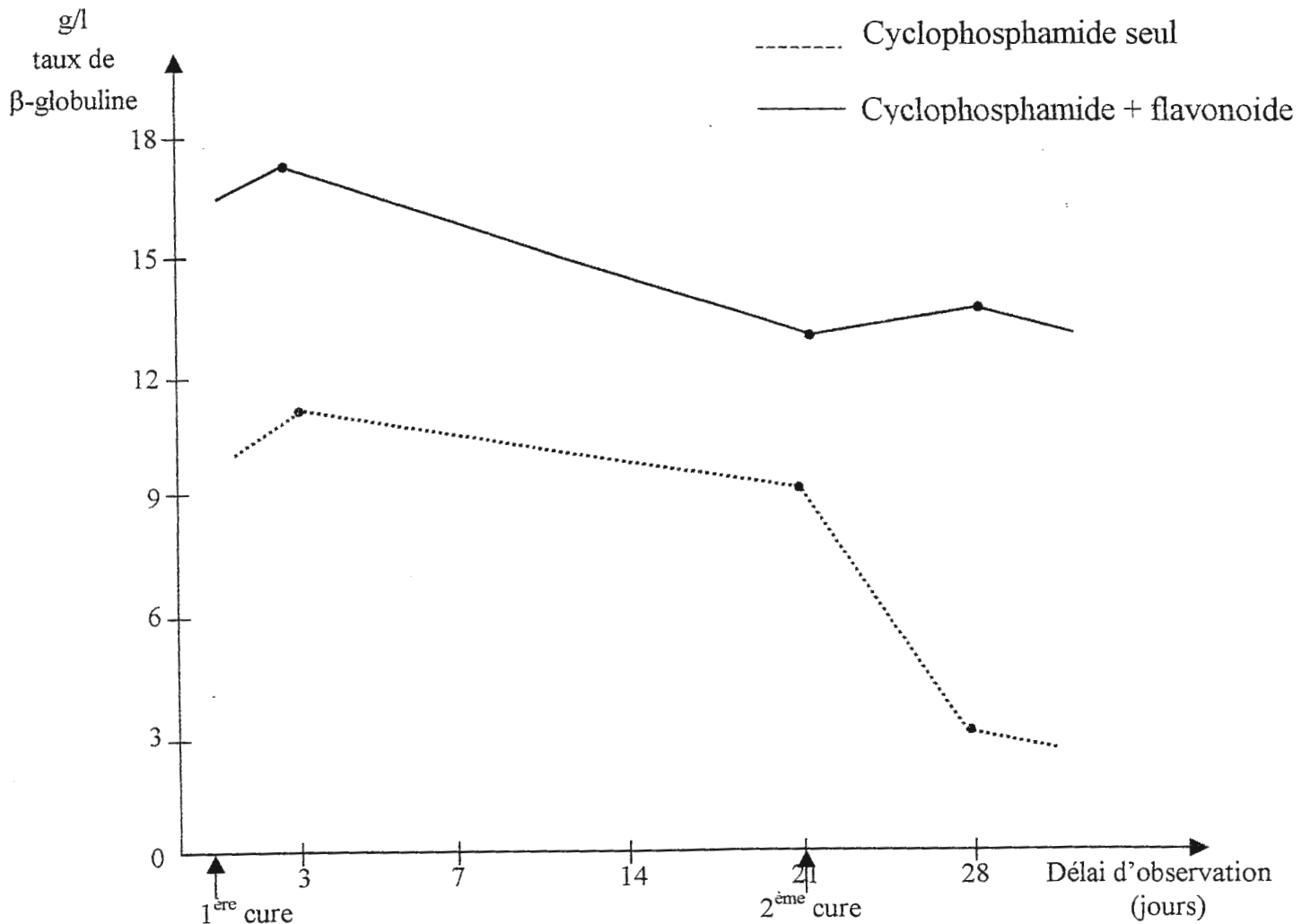
Figure 21 : schéma représente la variation de $\alpha 2$ -globuline.

Après trois jours, nous avons remarqué une diminution de taux de $\alpha 2$ -globulines chez les animaux traités par le cyclophosphamide seul. Cette diminution

est récupérée au bout du 21^{ème} jour mais la diminution est plus significative que la 1^{ère} après l'administration de la 2^{ème} dose (2^{ème} cure) par rapport au lot témoin.

Par contre le lot traité par l'association cyclophosphamide + flavonoïde, il y'aura une amélioration du taux des α_2 -globulines après une diminution au cours de 3^{ème} et 7^{ème} jour.

IV.2.3. Variation du β -globuline : les résultats sont résumés dans le graphe suivant :



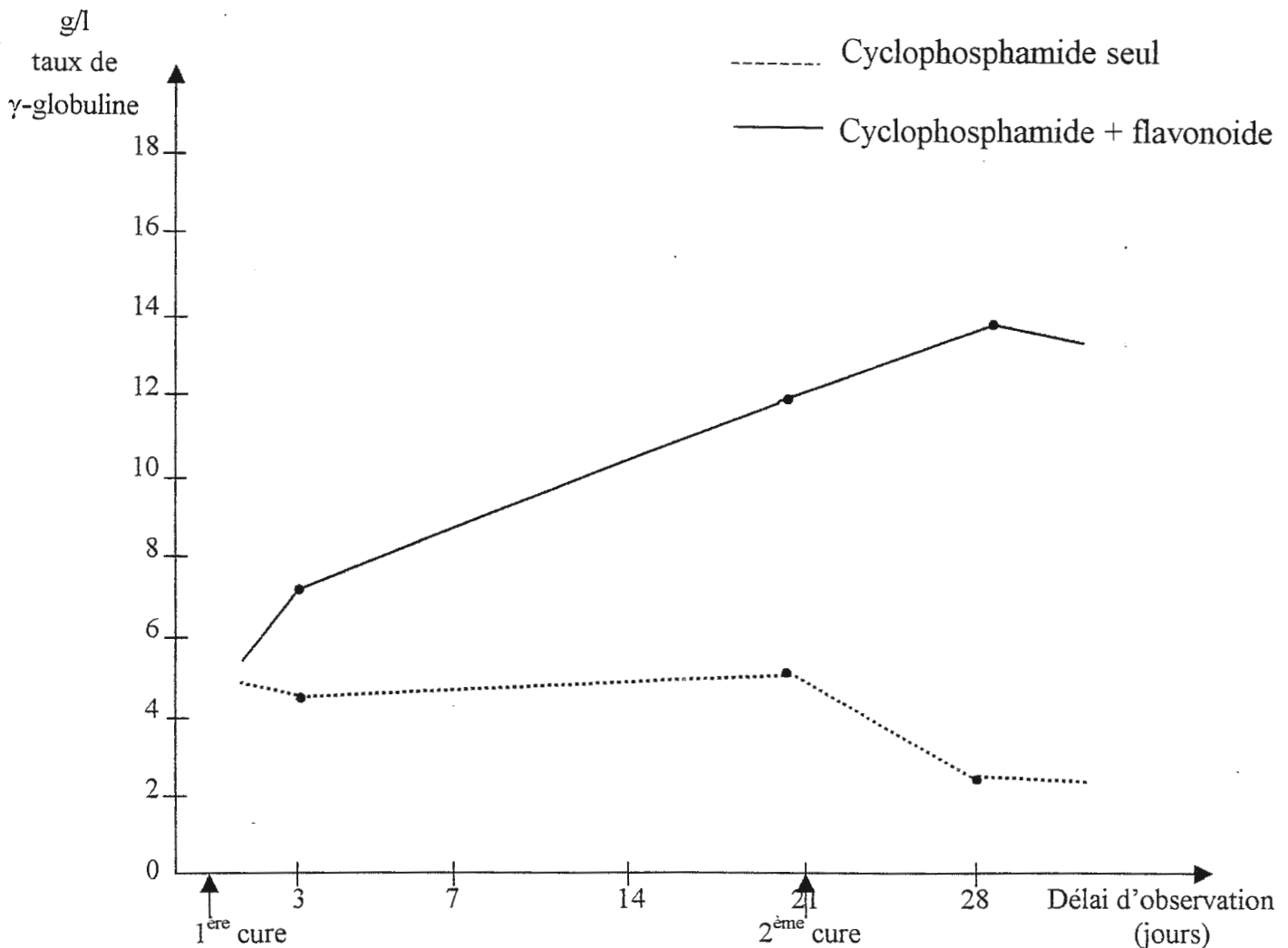
Le résultat du taux de β -globuline chez un rat témoin est : $13,2 \pm 1,7$ (g/L)

Figure 22 : schéma représente la variation de β -globuline.

Le taux du β -globuline jusqu'à 21^{ème} jours est proche de la normale (pendant la 1^{ère} cure), nous avons constaté une diminution du taux du β -globuline au cours du 28^{ème} jour dans le lot traité par le cyclophosphamide seul, tandis que

dans le lot prétraité par les flavonoïdes, nous avons remarqué une amélioration du taux du β -globuline, ils redeviennent au cours du 21^{ème} jour des taux normaux proches de témoin.

IV.2.4. Variation du γ -globuline : les résultats sont résumés dans le graphe suivant :



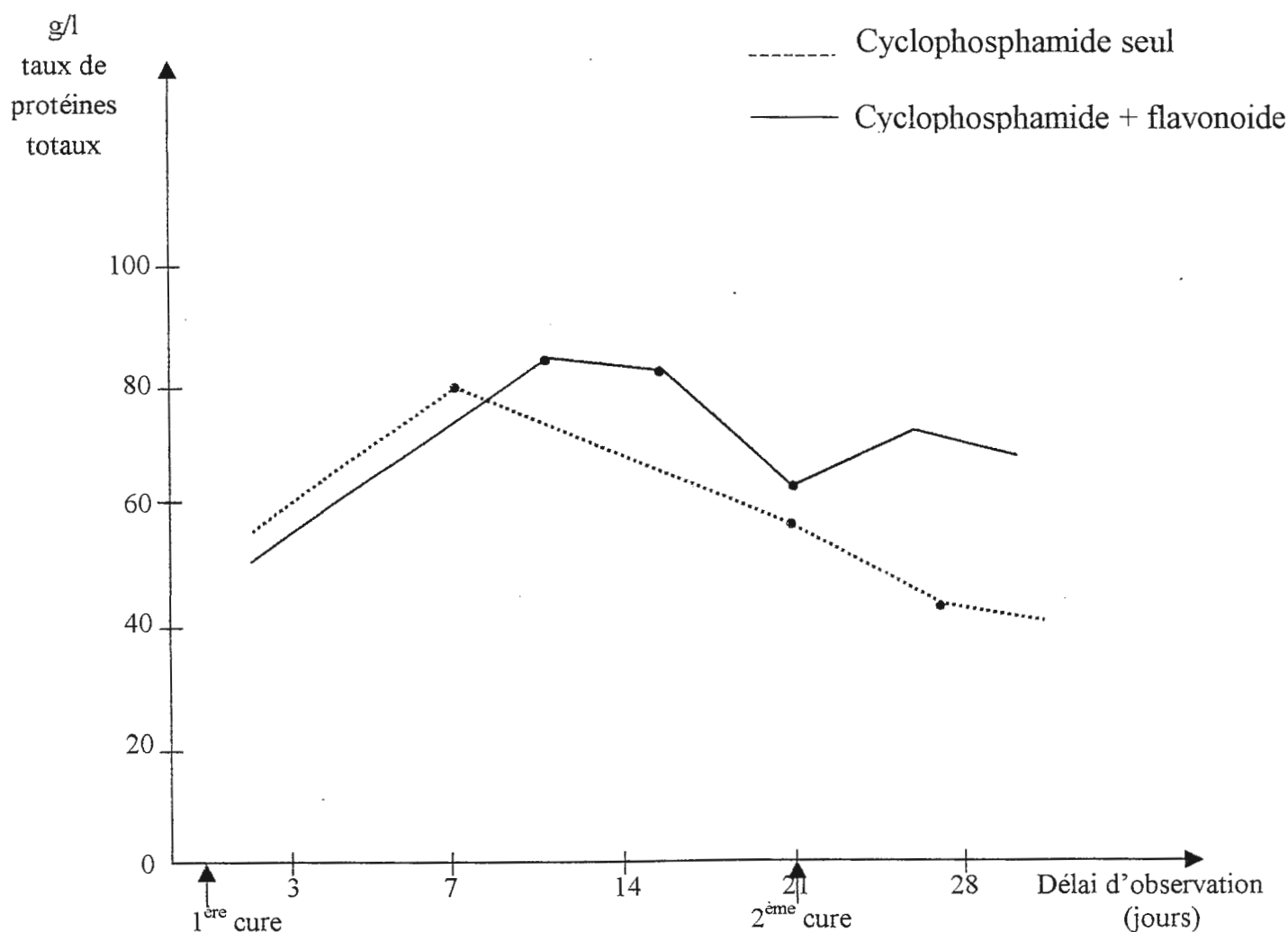
Le résultat du taux de γ -globuline chez un rat témoin est : $8,6 \pm 2,4$ (g/L)

Figure 23 : schéma représente la variation de γ -globuline.

Nous avons remarqué une diminution significative du taux du γ globuline chez les animaux traités par le cyclophosphamide seul. Cette diminution est plus grande après le 21^{ème} jour, par contre dans le lot traité par l'association cyclophosphamide + flavonoïde, nous avons remarqué après une diminution au

cours de 3^{ème} jour, une amélioration du taux de γ - globuline qui redevient proche de la normale par rapport au lot témoin.

IV.2.5. Variation du protéines totaux plasmatiques : elle est représentée dans le graphe suivant :



Le résultat du dosage des protéines totaux chez un rat témoin est: $70,8 \pm 10,7$ (g/L)

Figure 24 : schéma représente la variation des protéines totaux en fonction du temps.

Nous avons noté une augmentation dans les deux lots au cours du 3^{ème} et 7^{ème} jour, puis la chute du taux de protéines totaux qui commence au bout du 14^{ème} jours. Cette diminution est vraiment significative après 21^{ème} jour dans le lot traité par le cyclophosphamide seul, alors que le lot traité par l'association cyclophosphamide + flavonoïde, leur taux redevient normal après la 2^{ème} cure et

l'administration de la dose est de 200mg/kg du Daflon et 106 mg/kg du cyclophosphamide.

IV.3. Interprétation des résultats : notre étude est réalisée pour l'étude analytique des deux paramètres : l'un exprime la toxicité aiguë et l'autre correspond à la toxicité chronique.

IV.3.1. Pour la toxicité aiguë : prennent en compte toutes les modifications constatées généralement après trois jours de l'administration des médicaments : nous avons noté aucun changement dans les taux des cinq protéines sériques par rapport aux valeurs normales.

IV.3.2. En revanche pour la toxicité chronique : c'est à dire à long terme, notre étude montre des modifications dans le lot traité par le cyclophosphamide seul par rapport aux valeurs du lot témoin qui est en générale proche des valeurs normales.

- **pour l'albumine :** au 28^{ème} jours :
 - 27 ± 6 g/L (cyclophosphamide seul)
 - $40 \pm 10,8$ g/L (cyclophosphamide +flavonoïde)
 - et $48,3 \pm 1,7$ g/L pour les témoins
- **pour le $\alpha 1$ -globuline :** au 28^{ème} jours :
 - $14 \pm 10,4$ g/L (cyclophosphamide seul)
 - $2 \pm 0,9$ g/L (cyclophosphamide +flavonoïde)
 - $2,8 \pm 1,2$ g/L pour les témoins
- **pour le $\alpha 2$ -globuline :** au 21^{ème} jours :
 - $1,9 \pm 0,9$ g/L (cyclophosphamide seul)
 - $5,5 \pm 3$ g/L (cyclophosphamide +flavonoïde)
 - $5 \pm 2,8$ g/L pour les témoins.
- **pour le β -globuline :** au 14^{ème} jours :
 - $7,75 \pm 3,25$ g/L (cyclophosphamide seul)
 - $14,5 \pm 2,5$ g/L (cyclophosphamide +flavonoïde)
 - $13,2 \pm 1,7$ g/L pour les témoins

- **pour le γ -globuline** : au 28^{ème} jours :
 - $4,25 \pm 1,05$ g/L (cyclophosphamide seul)
 - $9 \pm 2,3$ g/L (cyclophosphamide +flavonoïde)
 - $8,6 \pm 2,4$ g/L pour les témoins.



DISCUSSION

Actuellement, la chimiothérapie est un grand espoir en cancérologie, elle utilise des substances qui interfèrent avec l'ADN, et avec le métabolisme cellulaire. Cependant ces médicaments doivent viser aussi sélectivement que possible les cellules cancéreuses que les cellules normales, mais malheureusement cette sélectivité n'existe pas, alors les risques de toxicité se trouvent ainsi augmentés ; les sites et les organes touchés par cette toxicité sont fréquents : sang, foie, rein et cœur .

La diminution du taux de protéines sériques dans le plasma sanguin s'explique par une fuite urinaire de ces protéines.

L'apparition de protéines dans les urines témoigne souvent d'une anomalie glomérulaire et rarement d'un défaut de réabsorption tubulaire [19].

L'analyse de protéines plasmatiques a un grand intérêt pour la caractérisation d'atteinte rénale diverse, notamment celles du syndrome néphrotique [19].

Au delà de 15 jours, les animaux traités redeviennent protéiniques, ils éliminent 4 fois plus des protéines qu'un rat témoin.

Les tracés immuno- électrophorétiques présentent l'albumine qui est la protéine la plus représentée avec 56%, les immunoglobulines et les α 1-globulines représentent 25 et 19% respectivement des protéines excrétées dans les urines. Au delà de 28^{ème} jour, la protéinurie contient l'albumine comme composant principal, ceci constitue une élimination de 25 fois plus que celle du témoin ; enfin les β et γ globulines augmentent d'une façon significatif, 140 fois la valeur normale (216 + 37 mg/24 h. contre 1,60+0,2 mg/24h. chez le témoin) [19].

Dans le sérum au delà de 28^{ème} jour s'effectue une diminution du taux d'albumine en parallèle une augmentation du pic des α 1-globulines. Ces pics ont de même hauteurs, dans certains cas, ce dernier est plus large que le pic habituel d'albumine [19] .

Pour mieux étudier la protéine anormale dans la zone des $\alpha 1$ globulines; nous avons réalisé des immuno- électrophorèses en utilisant des anti- sérums du rat, alors le résultat est : l'augmentation de $\alpha 1$ globuline correspondant probablement à **$\alpha 1$ macroglobuline** [19].

- D'autre part une augmentation tout à fait modérée de l'orosomucoïde, augmentation qui pourrait être marquée par une fuite urinaire importante.
- Une augmentation également du l' $\alpha 1$ -AP (acute-phase reactant du rat).
- Une diminution de la transferrine [19].
- Le foie représente le lieu de métabolisme d'un grand nombre des médicaments anti- cancéreux (cyclophosphamide dans notre étude) et représente aussi le lieu de la biosynthèse des protéines plasmatiques et des métabolites toxiques du cyclophosphamide, peut engendrer une dénaturation des protéines après leurs fixation à ces derniers.
- Par ailleurs, la famille des flavonoides porte des substances peuvent diminuer cette toxicité et pourquoi pas l'annuler totalement.
- Notre travail concerne l'étude de l'électrophorèse des protéines sériques chez le rat traité par les flavonoides. Après l'administration des médicaments nous avons enregistré la mort d'un rat après 30 jours de traitement pouvant être la conséquence des prélèvements sanguins répétés.

Il faut noter que la diminution du taux des protéines totaux dans le plasma sanguin est le carrefour de plusieurs toxicités des organes, nous citons : sang, foie, rein et cœur.

La toxicité due au cyclophosphamide est modérée par des radicaux libres porteurs d'un seul électron libre célibataire, puisqu'ils ont attaqué toute substance qui se présente pour lui arracher un électron et vivent bien en couple.

Par contre les flavonoides ont une structure qui leur permet de piéger les radicaux libres, en les neutralisant par fixation de deux atomes d'hydrogènes fournies par deux fonctions phénols.

CONCLUSION

Notre étude se fait sur les anticancéreux et leurs effets secondaires (toxicité), les flavonoides et leurs effets préventifs (avec un pré-traitement); notre observation et l'interprétation des résultats issus de ce travail nous a permis de dégager ces conclusions :

- La diminution du taux de protéines sériques est la conséquence de plusieurs toxicités : hématologique, hépatique et rénale, les résultats indiquent une diminution du taux de l'albumine, α_2 -globulines, β -globulines et γ -globulines par contre une augmentation du α_1 -globulines.
- Les flavonoides ont un effet préventif sur la toxicité des médicaments anticancéreux.
- Nous avons noté une stabilisation du taux des protéines sériques, même encore une amélioration quantitative du taux minimales chez les rats pré-traités par les flavonoides par rapport au groupe témoin.
- La diminution du taux de protéines sériques provoque des perturbations hépatique, hématologique et rénale et se traduit par une augmentation de ce taux dans les urines (parallèlement fuite urinaire). D'autre étude menées en parallèle dans le laboratoire ont confirmé que ces toxicités existent (rénale, hépatique et hématologique).

Enfin; les flavonoides peuvent – si les essais cliniques confirment les résultats expérimentaux- être utilisés en chimiothérapie anticancéreuse pour réduire ou prévenir les effets secondaires gênants [17], et limitent considérablement l'utilisation des médicaments anticancéreux.

Nous laissons la porte ouverte pour une étude plus profonde afin de confirmer nos résultats.

BIBLIOGRAPHIE :

- 1- Aubert F. et Guittard P. - Essentiel Médical - , 1994.
- 2- Ambroise M. -Introduction au laboratoire de Biochimie Médicale - édition Marketing, 1995.
- 3- Andrieu J.M et P. Calonna -Source : Cancers, évaluation, traitement et surveillance - document Medespace, 1999.
- 4- **B**olonovski - Biochimie : les protides – édition OPU, 1987.
- 5- Bertrand J.P. - se soigner seul sans danger – tout sur les 5000 médicaments sans ordonnance -, éditions de Rocher, 1994.
- 6- Brisset C. et J. Stoufflet : - Santé et Medecine l'état de connaissance et de recherche -, Mai 1988.
- 7- Chorrel M. - Sémiologie biochimique -, 1995.
- 8- Delamare J. - Dictionnaire des termes de médecine -, Edition Maloine, 1997.
- 9- Domart. A et Dr. J. Bourneuf - nouveau Larousse Médical -, 1988.
- 10- Doufia .M - les formes pharmaceutiques nouvelles en chimiothérapie -, 1999
- 11- Franck.. C. : -Toxicologie , données générales - édition Masson , 1992
- 12- Jung L. -laboratoire de chimie thérapeutique -,1999.
- 13- Kessous.C. -Biochimie structurale , protéines, glucides, lipides, acides nucléiques,1996
- 14- Khelifi H. et Laouci F. : -Place de l'électrophorèse des protéines sériques et hémoglobines en biochimie médicale -, mémoire du DES en Biologie cellulaire et moléculaire, université Mantouri de Constantine, 1999.
- 15- Kruh. J. - Biochimie : études médicales et biologiques, métabolisme I, 1989 .
- 16- Lahouel. M et coll. - recherche des substances bio-actives à partir des plantes médicinales terrestres et marines -, 1^{er} séminaire national sur les plantes médicinales, Jijel, Mai 2001.

- 17- Lahouel. M : -Importance de la biochimie en tant que science fondamentale dans les domaines de pharmacologie et de la toxicologie -, Jijel 2000
- 18- Lahouel.M -Thèse du doctorat -, 1986
- 19- Louisot P. -Biochimie générale et médicale, structure métabolique sémiologique -, 1983
- 20- Marshall C. - Atlas du corps humain -,1995.
- 21- Maloine .S.A -Electrophorèse et immunoélectrophorèse en pratique courante -, 1981.
- 22- Molin .M -Abrégés de pharmacologie -,édition Masson, janvier 1998.
- 23- Monsallier J.f et F.Dhainaut -Précis du thérapeutique - Vol1, Maloine,1983
- 24- Monsallier J.f et F.Dhainaut -Précis du thérapeutique - Vol2, Maloine,1983
- 25- Partan J. – Antioxydants et anticancereux- 14 biofutur, février 1999.
- 26- Samman.S and N.C.Cook -Flavanoids, Biochemistry, Métabolism, Cardioprotective effects and dietary sources - 7 :66-76 Elsevier Science INC, 1996.
- 27- Stryer L. -Biochimie de lubert stryer -, 1997.
- 28- Schorderel M. -Pharmacologie - Vol 1, édition OPU,1992.
- 29- Schorderel M. -Pharmacologie - Vol 2, édition OPU,1992.
- 30- Werner R. -Essentials of Modern biochemistry -, 1983.
- 31- Yaker A. -Cancérologie générale, anatomie, pathologie -, édition OPU, décembre 1985.
- 32- L'encyclopédie -La santé de A à Z -, Vol 5, édition Fabbri, Juin 1996.
- 33- L'encyclopédie -La santé de A à Z -, Vol 6, édition Fabbri, Juin 1996.
- 34- L'encyclopédie -La santé de A à Z -, Guide de l'utilisateur, 1996.
- 35- Larousse médicale Vol 1, Impression GEP, Germona,1995.
- 36- Asta Medico- Endoxan Cyclophosphamide, standard information for : Hospital pharmacists, 1998.
- 37- Cours de pharmacologie -, édition OPU, 1999.
- 38- P.Blanche Maison -Phlébotoniques de 1930 à nos jours -, N°4-473, vol 54.
- 39- Graine communication -copyright vins et santé -, Webmaster, 2000

Nom & Prénom :

LEBEZE Hanane
BOUCHICHA Amel
BOUMMEZ Mounira

Date de soutenance

Le 07 octobre 2001

Titre

Intérêt des Flavonoïdes (Daflon 500mg) sur les variations des protéines sériques au cours d'un traitement par un anticancéreux (Cyclophosphamide 500mg) chez le rat

Nature du diplôme :

Diplôme d'ét. des supérieurs (D.E.S) en Biochimie

Résumé :

Les effets secondaires de la chimiothérapie anti-cancéreuse résident dans des toxicités qui apparaissent à différents niveaux : hématologique, hépatique et rénale.

Ces toxicités entraînent souvent des variations du taux des protéines plasmatiques. Notre étude est menée sur l'utilisation des flavonoïdes (Daflon 500 mg) en association avec l'anti-cancéreux (Cyclophosphamide 500 mg). Les résultats sont encourageants, nous avons noté une stabilisation du taux des protéines chez le lot des rats pré-traité par les flavonoïdes (Daflon 500 mg).

Summary :

The secondary effects of neoplastic substances reside in toxicities which appear on different levels haematological, hepatic and renal

These toxicities are the cause of the variations that happen to the total plasma proteins

Our study use flavonoids with anti-neoplastic.

The results are encouraging, we note stabilization to the total plasma proteins of groups of rats pretreated by flavonoids.

إن التأثيرات الثانوية للعلاج بالمضادات السرطانية تكمن في سميات تظهر على عدة مستويات منها الدم، الكبد،
الكلى،
وهذه السميات هي المسببة في التغيرات التي تطرأ على كمية البروتينات في البلازما.
في الدراسة التي نحن بصدد إجرائها، تم اعتماد على استعمال الفلافونويدات (Daflon 500 mg) مع الدواء المضاد للسرطان
(Cyclophosphamide 500 mg).
النتائج كانت مشجعة، فقد لاحظنا ثبات نسب بروتينات البلازما عند مجموعة الجرذان التي سبق علاجها
بـ (Daflon 500 mg).

Mots clés :

-Protéines sériques- Chimiothérapie anticancéreuse – Flavonoïdes- Electrophorèse – Rats.

Laboratoire de recherche/ Institut :

- Institut des sciences de la nature, Centre universitaire de Jijel & laboratoire centrale de biologie médicale de l'hôpital M^ol SEDDIK BEN YAHIA – JIJEL.

Responsable de recherche :

M^o LAHOUEL Mesbah