

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR
BELKAÏD

FACULTE DE MEDECINE



وزارة التعليم العالي

والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد

كلية الطب

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

EVALUATION EX VIVO DE L'EFFET DE L'ALBUMINE SUR
L'HEMATOTOXICITE DU CISPLATINE

Présenté par :

MECHERNENE Radja et BOUHASSOUN Imene

Soutenu le 04 /07/2018

Le Jury

Président :

Dr. HADDOUCHE.M Maitre de conférences A(MCA)

Membres :

Dr.SIB.Y Maitre assistant en biochimie. Faculté de médecine de Tlemcen

Dr. BAOUCH.A Assistant en biochimie CHU Tlemcen

Dr. TABTLM Assistant en botanique médicale CHU Tlemcen

Encadreur :

Dr. BENAOUA.M Maitre assistant en biophysique médicale CHU Tlemcen

Année universitaire 2017-2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Avant propos

Remerciements

D'abord nous remercions Dieu le tout puissant, de nous avoir donné courage, santé, et patience pour accomplir ce travail.

*La première personne que nous tenons à remercier sincèrement est notre encadreur **Dr BENAOUA.M**, maitre assistante en biophysique Médicale, nous lui sommes reconnaissantes, pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa sympathie sa gentillesse et ses efforts pour la réalisation de ce mémoire.*

*Sans oublier **Dr BRIKCI NIGASSA N**, Chef de service de Biochimie a qui nous sommes reconnaissantes de nous avoir accueillies au sein de son service tout en nous laissant une grande liberté de manœuvre quant au déroulement et à l'organisation de notre démarche scientifique.*

*Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement : **Dr. HADDOUCHE Mustapha**, maitre de conférences, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Dr. SIB Yasser** maitre assistant en biochimie , **Dr BAOUCH Ahmed** médecin assistant en biochimie, et **Dr TABTI Mohammed**, assistant en botanique médicale ,pour avoir lu et approuvé notre mémoire. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.*

*Ainsi nos gratitudes et appréciation à **Mr le Professeur BENYOUCEF** pour son aide, sa sympathie et sa bonne humeur.*

*Nous voulons aussi remercier tous les membres du laboratoire central, service de Biochimie du CHU Tlemcen pour leur aide, en particulier, **Zina, Yassine, Wissem et Zohra.***

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon père

*Pour ton amour qui m'a permis d'être
ce que je suis aujourd'hui, et pour
m'avoir soutenu dans mes choix
personnels.*

Ma mère,

*Qui a œuvré pour ma réussite, de par
son amour, son soutien, tous les
sacrifices consentis et ses précieux
conseils, pour toute son assistance et sa
présence dans ma vie.*


A toute ma famille

*Pour leur soutien tout au long de mon
parcours universitaire. Je ne pourrai
jamais assez vous remercier, Ce travail
est le fruit de votre grande patience, me
voilà aujourd'hui Docteur en
pharmacie.*

*A tous mes amis de promotions de 6ème
année pharmacie.*

*A tous ceux qui ont contribué de près
ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Imene



Je dédie ce travail à :

A mes parents

Pour votre amour qui m'a permis d'être ce que je suis aujourd'hui, et pour m'avoir soutenu dans mes choix personnels. Je ne pourrai jamais assez vous remercier. Ce travail est le fruit de votre grande patience, me voilà aujourd'hui Docteur en pharmacie.

A mes sœurs Hadjer et Amina, mes frères Hichem, Yacine et Abdelkader

Merci pour votre encouragement et pour votre aide.

A mon mari Abdelkader

Pour ta gentillesse, ta tendresse, ton soutien que dieu le tout puissant pour nous accorde Une longue vie de bonheur.

A mon ange Anes et à toute la famille de DJADOUDI.

A mes neveux Ryad, Mohammed, Serine et Maram.

A mes amies Khawla ; Selma ; Houda et Zineb.

A tous les membres de ma promotion de 6ème année pharmacie.

MECHERNENE Radja

Sommaire

| | |
|------------------------------|-----|
| Avant propos | i |
| Sommaire | iv |
| Liste des abréviations | vi |
| Liste des figures | vii |
| Liste des tableaux | ix |
| | |
| Introduction | 1 |

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE I : LE CISPLATINE

| | |
|--|----------|
| I. Généralités | 4 |
| I.1.Le cancer | 4 |
| I.2.Les causes du cancer | 5 |
| I.3.Le traitement..... | 5 |
| I.3.1.Chirurgie | 5 |
| I.3.2. Radiothérapie | 5 |
| I.3.3.L'immunothérapie | 6 |
| I.3.4. Thérapies ciblées | 6 |
| I.3.5.Traitements médicamenteux..... | 6 |
| | |
| II. Le cisplatine..... | 8 |
| II.1.La découverte de cisplatine | 8 |
| II.2.Composition | 8 |
| II.3.La cible du cisplatine | 9 |
| II.4.Mécanisme d'action..... | 10 |
| II.5.Pharmacocinétique | 11 |
| II.6.Les problèmes liés à le cisplatine | 12 |
| II.7.Amélioration de l'activité de cisplatine..... | 13 |

CHAPITRE II : LE GOBULE ROUGE

| | |
|---|-----------|
| I. Généralités | 17 |
| II. Structure du globule rouge | 17 |
| III. La membrane érythrocytaire..... | 17 |
| IV. Métabolisme du globule rouge | 22 |
| V.L'influence de l'osmolarité sur la forme des globules rouges | 22 |
| VI.L'hémolyse | 22 |
| VI.1.Définition | 22 |

| | |
|--|----|
| VI.2. Les signes de la sénescence érythrocytaire | 23 |
| VI.3 Hémolyse d'origine iatrogène | 23 |
| VI.4. Diagnostique de l'hémolyse | 23 |

CHAPITRE III : L'ALBUMINE

| | |
|--|-----------|
| I. Généralités | 25 |
| II. L'origine du stress oxydant | 25 |
| III. Les antioxydants | 26 |
| III.1. L'albumine..... | 29 |
| III.1.1. Définition de l'albumine | 29 |
| III.1.2. Structure | 30 |
| III.1.3. Pharmacocinétique..... | 31 |
| III.1.4. Pharmacologie..... | 31 |
| III.1.5. Fonctions..... | 32 |

PARTIE PRATIQUE

| | |
|---|-----------|
| I. Problématique | 36 |
| II. Objectif..... | 36 |
| III. Matériels et réactifs..... | 39 |
| III.1. Matériels | 39 |
| III.1.1. Appareils | 39 |
| III.1.2. Réactifs..... | 42 |
| III.1.3. Autres matériels | 43 |
| III.2. Méthodes | 44 |
| III.2.1. Préparation des solutions de lavage | 44 |
| III.2.2. Dosage des paramètres indiquant l'hémolyse..... | 49 |
| III.3. Mode opératoire | 49 |
| III.3.1. Préparation de l'échantillon..... | 49 |
| III.3.2. Préparation de la suspension du travail | 50 |
| IV. Résultats et interprétations | 64 |
| IV.1. Test 1 : L'Effet de cisplatine (5mg) sur l'Hb en fonction du temps | 64 |
| IV.2. Test 2 : L'effet des différentes concentrations du cisplatine en fonction du temps : | 66 |
| IV.3. Test 3 : L'effet de l'albumine en présence et en absence de cisplatine en fonction du temps : | 68 |
| IV.4. Test 4 : L'effet de l'albumine à différentes concentrations : 10g, 5g, 2.5g, 1.25g sur la toxicité de cisplatine au cours du temps | 71 |
| IV.5. Test 5 : les préincubations..... | 73 |
| Discussion..... | 81 |
| Conclusion | 84 |
| Bibliographie | 86 |

Liste des abréviations

| | |
|----------------|---|
| °C | : degré Celsius. |
| 2-3 DPG | : 2-3Diphosphoglycérate. |
| Å | : Angstrom |
| µl | : microlitre |
| ADN | : acide désoxyribonucléique |
| ADP | : Adénosine diphosphate |
| ARN | : acide ribonucléique |
| ATP | : Adénosine triphosphate |
| Ca 2+ | : calcium |
| CL | : chlore |
| DCI | : Dénomination commun international |
| Eau ppi | : Eau pour préparation injectable |
| EDTA | : acide éthylène-diamine-tétraacétique acide édétique |
| ERO | : espece reactif d'oxygene |
| 5FU | : 5 fluoro uracile |
| g/l | : gramme par litre |
| G | : gramme. |
| GPx | : glutathion peroxydase |
| GR | : Globule Rouge |
| G6PD | : glucose-6-phosphate déshydrogénase |
| H | : Hydrogène |
| Hb | : Hémoglobine |
| HAS | : Human serum albumin |
| IV | : Intra veineuse |
| K+ | : potassium |
| kDa | : Kilo Dalton |
| LDH | : Lactate deshydrogénase |
| M | : Molaire |
| mg/mL | : milligramme par millilitre. |
| Mg2+ | : magnésium |
| Mg | : milligramme |
| MGG | : May-Grünwald-Giemsa |
| min | : minute |
| Na+ | : sodium |
| Na2HPO4 | : Disodium hydrogen phosphate |
| NADH | : nicotinamide adénine dinucléotide hydrogène |
| NADPH | : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène |
| NFS | : Numération de la Formule sanguine |
| ORL | : oro-rhini-laryngologie |
| PVC | : polychlorure de vinyle |
| RL | : radical libre |
| SDS | : dodécylsulfate de sodium |
| SOD | : speroxyde dismutase |
| TPBS | : tampon phosphate bufferd salin |
| UV | : ultraviolet |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Structure chimique de cisplatine..... | 9 |
| Figure 2 : Hydrolyse du cisplatine | 10 |
| Figure 3 : Les modes de fixation du cisplatine sur l'ADN | 11 |
| Figure 4 : Structure du globule rouge | 17 |
| Figure 5 : Schéma représentative de la structure de la membrane érythrocytaire..... | 18 |
| Figure 6 : Les échanges transmembranaires | 20 |
| Figure 7: Les paires de chaînes polypeptidiques contenant une porphyrine contenant un atome de Fer..... | 21 |
| Figure 8 : La molécule de l'hème | 21 |
| Figure 9 : La balance d'équilibre entre les systèmes oxydants et antioxydants | 25 |
| Figure10 : L'origine des différentes espèces réactives de l'oxygène. | 26 |
| Figure 11: Le mécanisme d'action des antioxydants | 27 |
| Figure 12 : La structure tridimensionnelle de l'albumine | 31 |
| Figure 13 : Principaux sites de l'albumine impliqués dans son activité antioxydante..... | 33 |
| Figure 14 : Le spectrophotomètre | 39 |
| Figure 15 : La centrifugeuse | 39 |
| Figure 16 : L'agitateur magnétique..... | 40 |
| Figure 17 : Le vortex | 40 |
| Figure 18 : La balance de précision | |
| Figure 19 : La balance électronique | 40 |
| Figure 20 : L'automate SIEMENS | 41 |
| Figure 21 : L'ionomètre..... | 41 |
| Figure 22 : L'albumine | 42 |
| Figure 23 : Le cisplatine | 42 |
| Figure 24 : Etapes de préparation de la solution de NaCl | 45 |
| Figure 25 : Etapes de préparation de la solution de chlorure de magnésium..... | 46 |
| Figure 26 : Préparation de la solution tampon phosphate (100mmole, ph=7.4)..... | 47 |
| Figure 27 : Préparation de la solution de SDS 10% | 48 |
| Figure 28 : Les étapes de prélèvement sanguin..... | 49 |
| Figure 29 : Préparation de l'échantillon de travail | 50 |
| Figure 30 : Préparation des deux pots (avec et sans cisplatine) | 51 |
| Figure 31 : Préparation des tubes de premier test : Effet de cisplatine sur l'Hb en fonction du temps..... | 53 |
| Figure 32: Etape de préparation des tubes de cisplatine à différentes concentrations | 54 |
| Figure 33: Étape de préparation des tubes d'albumine en présence et en absence de cisplatine | 56 |
| Figure 34: Schéma représentatif de Test 4 :L'effet de l'albumine à différentes concentrations en fonction du temps..... | 60 |
| Figure 35: Etape de la préincubation de HSA avec le cisplatine | 61 |
| Figure 36: Les étapes de la préincubation d'HSA avec la suspension cellulaire. | 62 |
| Figure 37: Effet du cisplatine sur l'Hb en fonction du temps..... | 64 |
| Figure 38: Histogramme de l'effet du cisplatine sur l'Hb en fonction du temps..... | 64 |
| Figure 39: Effet du cisplatine sur LDH au cours du temps | 65 |
| Figure 40: Histogramme de l'effet du cisplatine sur LDH au cours du temps | 65 |
| Figure 41: Effet du cisplatine sur la [k+] au cours du temps..... | 66 |
| Figure 42: Effet des différentes concentrations du cisplatine sur [Hb] au cours du temps | 66 |

| | |
|--|----|
| Figure 43: Histogramme de l'effet des différentes concentrations du cisplatine sur Hb au cours du temps..... | 67 |
| Figure 44: Effet des différentes concentrations du cisplatine sur le taux de LDH au cours du temps..... | 67 |
| Figure 45: Histogramme de l'effet des différentes concentrations du cisplatine sur le taux de LDH au cours du temps. | 68 |
| Figure 46 : Effet du cisplatine sur [Hb] en présence et en absence de HSA..... | 68 |
| Figure 47: Histogramme de l'effet du cisplatine sur [Hb] en présence et en absence de HSA au cours du temps | 69 |
| Figure 48: Effet du cisplatine sur le taux de LDH en présence et en absence de HSA au cours de temps | 69 |
| Figure 49: Histogramme de : l'effet du cisplatine sur le taux de LDH en présence et en absence de HSA au cours du temps..... | 70 |
| Figure 50 : Effet du cisplatine sur la [k+] en présence et en absence de HSA | 70 |
| Figure 51 : Effet des concentrations de HSA sur l'Hb en présence de cisplatine au cours du temps | 71 |
| Figure 52:Histogramme de l'effet des concentrations de HSA sur l'Hb en présence de cisplatine au cours du temps..... | 71 |
| Figure 53: Effet du cisplatine sur le taux LDH en présence de différentes concentrations de HSA .. | 72 |
| Figure 54:Histogramme de : l'effet du cisplatine sur le taux LDH en présence de différentes concentrations de HSA..... | 72 |
| Figure 55: Effet du cisplatine sur la [K+] en présence de différentes doses de HSA | 73 |
| Figure 56:Comparaison de taux d'Hb entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0..... | 73 |
| Figure 57:Histogramme de comparaison du taux d'Hb entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0. | 74 |
| Figure 58:Comparaison de taux d'HB entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 60 min | 74 |
| Figure 59: Histogramme de la comparaison de taux d'HB entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 60 min..... | 75 |
| Figure 60: Comparaison de taux d'HB entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 120 min..... | 75 |
| Figure 61:Histogramme de la comparaison du taux d'Hb entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 120 min..... | 76 |
| Figure 62:Comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0. | 76 |
| Figure 63:Histogramme de la comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0. | 77 |
| Figure 64 :Comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 60min. | 77 |
| Figure 65 :Histogramme de de la comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0. | 78 |
| Figure 66 :Comparaison de taux LDH entre les deux pré incubations à différentes concentrations à T = 120 min..... | 78 |
| Figure 67 :Histogramme de la comparaison de taux LDH entre les deux pré incubations à différentes concentrations à T = 120 min. | 79 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 :Les agents utilisés en chimiothérapie et leurs mécanismes d'action..... | 7 |
| Tableau 2: Les antioxydants et leurs principales propriétés..... | 27 |
| Tableau 3: Les différentes fonctions de l'albumine | 34 |

Introduction

Introduction

Le cancer est une maladie redoutée, souvent perçue comme la pire des maladies.

Une étude récente de l'Organisation Mondiale de la Santé a montré que le nombre de nouveaux cas de cancers et de décès dus à ce fléau va doubler dans les vingt prochaines années dans le monde.

L'Algérie connaît ces dernières années le même rythme de prolifération de cancer que les pays occidentaux 50000 nouveaux cas sont enregistrés en 2017, il est la 2^{ème} cause de mortalité avec un pourcentage de 21% derrière les maladies cardiovasculaires. Les cancers de colon, poumons, l'utérus, ainsi que les cancers du sein reste les types les plus répandus en Algérie.

Le cisplatine demeure la meilleure arme thérapeutique contre le cancer de l'ovaire, de la vessie, du col de l'utérus ainsi que du testicule en raison de son importante efficacité, mais ce choix thérapeutique expose aux risques d'effets indésirables graves.

L'incidence des effets toxiques des produits chimiothérapeutiques augmente malgré les progrès considérables réalisés ces dernières années. L'effet antioxydant représente toujours un défi.

C'est dans ce sens qu'on a abouti à choisir notre travail qui s'adapte à un effet antioxydant afin de diminuer l'effet toxique de cisplatine, favoriser la bonne réponse à ces cellules tumorales.

L'objectif de notre travail c'est étudier et évaluer l'effet antioxydant de l'albumine sur le cisplatine afin de diminuer ces effets indésirables.

Revue de la bibliographie

Chapitre I : Le Cisplatine

I. Généralités

I.1. Le cancer

A l'échelle planétaire Le cancer représente un problème majeur de santé publique. C'est une maladie difficile à combattre^[1], Il constitue la deuxième cause de mortalité dans le monde[2]. Cette maladie reste un vrai problème de santé publique mondial, une pandémie pour laquelle il faut trouver des solutions^[3]. La cancérogenèse, qui englobe l'ensemble des processus conduisant à la formation d'une tumeur^[4, 5].

Le terme médical utilisé pour décrire le cancer est néoplasia qui provient du grec et qui signifie nouvelle formation, c'est une multiplication anormale de cellules (provenant en général d'une cellule anormale, ces cellules ont perdu leurs mécanisme de contrôle et sont donc en mesure de se multiplier en continue ; envahir les tissus voisins ; migrer dans les parties distantes dans l'organisme et favoriser la croissance de nouveaux vaisseaux sanguines d'où les cellules tirent les nutriments . le cancer est composée de trois étapes, à savoir une initiation, une promotion et une progression. Chaque étape implique des altérations géniques qui affectent les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeurs^[2].

La chimiothérapie est la méthode la plus courante en association avec la chirurgie pour lutter contre le cancer. Il s'agit d'un traitement le plus souvent administré par voie intraveineuse^[6].

I.2. Les causes du cancer

Le cancer est caractérisé par une multiplication et une propagation incontrôlée de cellules anormales et une insensibilité à l'apoptose. ces anomalies favorisés par de nombreux facteurs ^[7]:

- **Des facteurs professionnels :**
 - Exposition à certaines substances (amiante, benzène, goudron....)
 - Exposition aux radiations ionisantes , UV^[8] ..
 - Utilisation des antimitotiques.
- **Des facteurs sociaux:**
 - Tabac, alcool, alimentation déséquilibrée, stress^[9, 10].
- **Des facteurs viraux :** Hépatite (foie), papillomavirus (col utérus)
- **Des facteurs génétiques :** Maladies génétiques.
- **Les autres facteurs :** Certains médicaments, Pollution atmosphérique ...^[11]

I.3. Le traitement

La prise en charge thérapeutique du patient atteint d'un cancer est multidisciplinaire. Elle fait appel à différentes spécialités dont les plus connus sont :

I.3.1. Chirurgie

Cette technique consiste à intervenir directement au niveau de la tumeur par son ablation soit de façon partielle soit totalement. Généralement, c'est un traitement principal et efficace lorsque la tumeur est localisée. La chirurgie reste le traitement le plus fréquent des cancers en clinique. Néanmoins, elle est toujours utilisée en association avec d'autres thérapies notamment la chimiothérapie et la radiothérapie pour donner de meilleurs résultats ^[12, 13].

I.3.2. Radiothérapie

C'est une méthode de traitement fondée sur l'action biologique des doses élevées des rayonnements ionisants X à haute énergie pour la thérapie du cancer, elle vise l'altération du patrimoine génétique des cellules ciblées empêchant ainsi leur développement^[12, 14].

I.3.5. Traitements médicamenteux

I.3.3. L'immunothérapie

L'immunothérapie c'est toute thérapie qui utilise des protéines produites par les cellules du système immunitaire, par exemple : les immunoglobulines dans le but de stimuler les défenses immunitaires de l'organisme afin de lutter contre différentes maladies, en particulier certains cancers hématologiques ^[15] .

I.3.4. Thérapies ciblées

Il s'agit des médicaments dont l'action est ciblée à un niveau précis du fonctionnement ou du développement des cellules tumorales. On distingue deux types :

- ✓ des médicaments à action extra cellulaire : sont dirigés contre un récepteur membranaire qui est présent sur la cellule tumorale.
- ✓ et des médicaments à action intra cellulaire : inhibent la transmission du signal de prolifération cellulaire par l'inhibition enzymatiques ^[2] .

La chimiothérapie anticancéreuse est la méthode la plus courante. Elle vise à détruire les cellules en division. C'est un traitement qui repose sur la prise d'une substance chimique ayant pour cible d'agir sur la cellule tumorale en ralentissant sa multiplication. ^[6] .

Les agents utilisés en chimiothérapie cytotoxique diffèrent par leurs modes d'action et leurs appartenances à des familles chimiques. On distingue ainsi plusieurs grandes familles: les agents alkylants, les inhibiteurs de la topoisomérase I et II, les poisons du microtubule, Agents intercalants, les antimétabolites et les agents scindants. ^[16] .

Tableau 1 :Les agents utilisés en chimiothérapie et leurs mécanismes d'action^[17-19]

| Classe des anticancéreux | | Mécanisme d'action |
|--|--|--|
| Les agents alkylants | | <p>Sont des composés possédant un ou plusieurs groupements alkyles très nucléophiles pouvant entrer en interaction avec l'ADN pour créer des liaisons covalentes qui vont avoir pour conséquence l'inhibition de sa transcription et sa réplication. Par ailleurs, ils sont responsables de la libération de radicaux libres entraînant des cassures de la chaîne d'ADN.</p> <p>Exemples :Cyclophosphamide, Ifosfamide, Sels de platine (cisplatine, carboplatine et oxaliplatine)</p> |
| Les poisons du microtubule | | <p>Sont des molécules caractérisées par plusieurs noyaux aromatiques condensés. Elles provoquent une détorsion de la molécule d'ADN, ce qui empêche la progression des ARN et ADN polymérase et inhibe donc la réplication et la transcription. Elles induisent également la génération de radicaux libres.</p> <p>Exemples : Alcaloïdes de la pervenche : (vincristine, vinblastine, vinorelbine), Taxanes (paclitaxel, docétaxel)</p> |
| Les antimétabolites | | <p>Sont des analogues structuraux des bases puriques, pyrimidiques et des coenzymes foliniques. Ils inhibent la synthèse des acides nucléiques en provoquant une carence en nucléotides.</p> <p>Exemples : Antipyrimidiques (5 fluorouracile, gemcitabine, cytarabine) Antifoliques (méthotrexate).</p> |
| Les agents scindants | | <p>Ils possèdent une structure moléculaire qui leur permet de s'insérer entre les composants de l'ADN réalisant ainsi de multiples cassures de cette molécule.</p> <p>Exemples : Bléomycine</p> |
| Les inhibiteurs de la topoisomérase I | Les inhibiteurs de la topoisomérase II (Anthracyclines (adriamycine,) | <p>Les topoisomérases sont des enzymes intervenant dans la réplication, la transcription et la réparation de l'ADN en réalisant des coupures mono ou double brin. Par l'inhibition de ces enzymes on prive la cellule d'utiliser ses informations génétiques et donc on provoque sa mort.</p> |

II. Le cisplatine

II.1. La découverte de cisplatine

Le cisplatine est un agent antinéoplasique cytostatique, il a été synthétisé pour la première fois en 1844 par un chimiste italien Michele Peyrone et sa structure chimique identifiée par le suisse Alfred Werner. Ce n'est que dans les années 1960 que son action anti tumorale a été découverte accidentellement par Rosenberg^[20]. En voulant étudier l'influence des champs électriques sur le processus de croissance de la bactérie Escherichia Coli, il constate un comportement inhabituel : la division cellulaire est stoppée, mais la croissance des cellules continue.

Rosenberg montra que l'effet inhibiteur est dû à la formation d'un complexe entre le platine libéré par les électrodes et le chlorure d'ammonium contenu dans le milieu^[20].

Le cisplatine entre en développement clinique en 1971 aux Etats-Unis.

Il obtient finalement son autorisation de mise sur le marché en 1978 aux Etats-Unis et en 1983 en France.

II.2. Composition

Les sels de platines sont une classe pharmacologique majeure en oncologie dont le chef de file est le cisplatine^[21], Représente le seul complexe inorganique.

Le cisplatine est le premier complexe de platine à avoir été utilisé en chimiothérapie. Son domaine d'activité est vaste, mais son importante toxicité pour l'organisme limite son utilisation^[22, 23].

- CLASSIFICATION THÉRAPEUTIQUE : Agent antinéoplasique^[24, 25]
- Principe actif : cisplatine (DCI)
- Excipients: Acide chlorhydrique, Eau ppi, chlorure de sodium, hydroxyde de sodium.
- Dénomination chimique : (1) platinum, diamminedichloro-(SP-4-2)(2) cis-diamminedichloroplatinum .
- Formule moléculaire : Cl₂H₆N₂Pt. (figure 1)

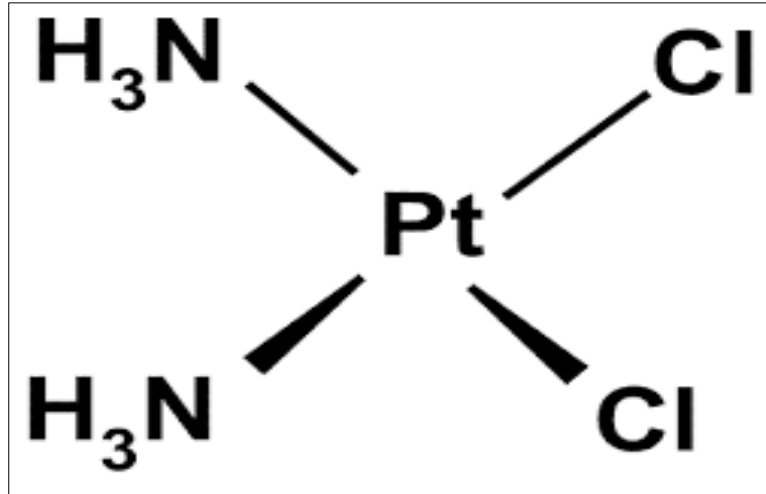


Figure 1 : Structure chimique de cisplatine^[26]

II.3.La cible du cisplatine

Le cisplatine est utilisée comme un traitement palliatif ou adjuvant en association avec d'autres modalités thérapeutiques dans la prise en charge de^[27] :

- ✓ Des cancers de l'endomètre.
- ✓ Des cancers de l'ovaire.
- ✓ Des cancers de l'œsophage.
- ✓ Des cancers de la vessie.
- ✓ Des cancers du col de l'utérus.
- ✓ Des cancers du testicule^[28-30] .

Le cisplatine est un produit toxique, cumulatif, tératogène. Son emploi est contre-indiqué chez les patients présentant :

- ✓ Une insuffisance rénale peut être fatale.
- ✓ Dépression médullaire
- ✓ Des antécédents d'hypersensibilité au cisplatine ou à d'autres composés renfermant du platine^[31].
- ✓ Une grossesse
- ✓ L'allaitement^[32].

II.4.Mécanisme d'action

Le cisplatine appartient à la famille des agents alkylants. C'est une pro drogue dont la transformation nécessite une hydrolyse. Les deux atomes de chlore seront substitués par une ou deux molécules d'eau^[33]. (figure 2)

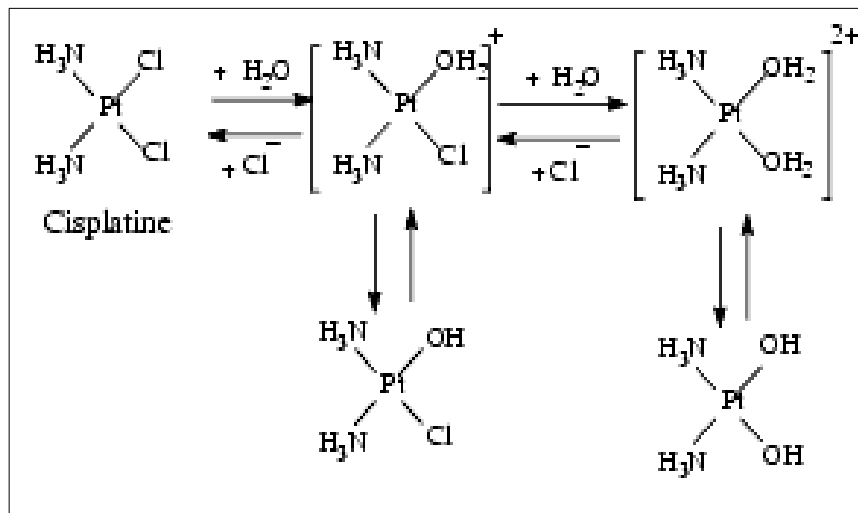


Figure 2 : Hydrolyse du cisplatine^[34]

Les métabolites actifs diaquo-platinum ainsi formés réagissent avec les groupements amines des protéines, des ARN et ADN.

Le cisplatine est un complexe qui se fixe d'une manière forte et irréversible sur l'azote n°7 des bases puriques de l'ADN (A ou G) induit la formation des adduits ADN-cisplatine donne lieu à différents adduits (figure 3) :

bi fonctionnels intra brin et inter brin, ainsi que monofonctionnels, ces derniers entraînent une modification de la structure de la double hélice, ce qui perturbe la réplication et la transcription de l'ADN^[33, 35-41].

:

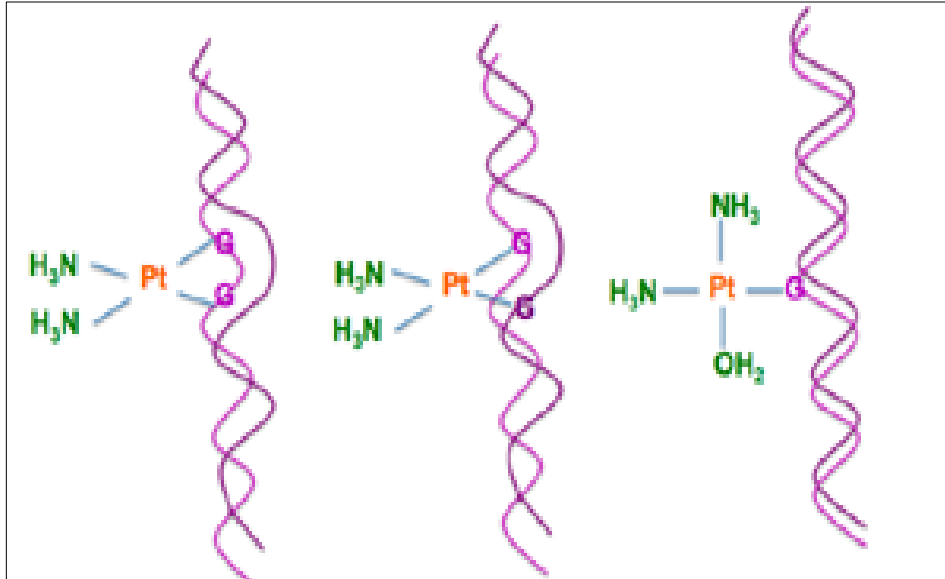


Figure 3 : Les modes de fixation du cisplatine sur l'ADN^[42]

II.5.Pharmacocinétique

La dose recommandée de Cisplatine Injectable, chez les adultes et les enfants, en monothérapie, est de 50 à 75 mg/m², administrée en une seule dose par voie intraveineuse, toutes les 3 à 4 semaines, ou de 15 à 20 mg/m²/jour par voie intraveineuse, durant 5 jours, toutes les 3 à 4 semaines^[43].

Le cisplatine doit être dilué dans une solution contenant une concentration en ions chlorure au moins égale à 0,04 mol/l, soit l'équivalent d'une solution de NaCl à 0,2% (en effet, la stabilité du cisplatine en solution dépend de la concentration en ions chlorure).

Après l'administration d'un bolus ou d'une perfusion IV sur une période de 2 à 7 heures à des doses allant de 50 à 100 mg/m², la demi-vie plasmatique du cisplatine est d'environ 30minutes^[44].

✓ **Distribution** : Le cisplatine possède une forte fixation aux protéines plasmatique (90%)^[45, 46].

Les concentrations de platine sont les plus élevées dans le foie, la prostate et les reins, elles sont moins faibles dans la vessie, les muscles, et les testicules.

✓ **Métabolisme** :Le cisplatine n'est pas métabolisé par le foie^[47].

✓ **Élimination** : surtout urinaire plus de 30 % de la dose par 24 h

✓ **Condition et conservation :**

Le cisplatine est une fine poudre jaune qui se décompose à 270°C. Sa très faible solubilité dans l'eau (voisine de 1 mg/ml) constitue un problème pour la préparation des solutés injectables^[48].

Il faut conserver les flacons de Cisplatine Injectable, à l'abri de la lumière et à une température ambiante entre 15°C et 25°C.

Éviter de réfrigérer et congeler les solutions de cisplatine car y'a un risque de cristallisation^[49].

Les aiguilles, les seringues et les dispositifs IV ayant des composants en aluminium ne devraient pas être utilisés dans la préparation ou l'administration des solutions de cisplatine. Il se produirait alors une interaction entre l'aluminium et le platine contenu dans le cisplatine, occasionnant la formation d'un précipité noir visible^[50].

II.6. Les problèmes liés à le cisplatine

La toxicité du cisplatine est directement liée à son accumulation intracellulaire. Les deux modes de transport, la diffusion passive ou le transport actif participent à l'entrée du cisplatine dans les cellules^[51].

Le cisplatine entraîne une néphrotoxicité cumulative, L'insuffisance rénale est le principal facteur de toxicité limitant la dose de cisplatine car il a un index thérapeutique faible. L'altération de la fonction rénale a été associée à une atteinte des tubules rénaux, Le cisplatine est responsable, dans 25 à 75% des cas, de lésions tubulaires se traduisant d'abord par une polyurie, puis par une réduction du débit de filtration glomérulaire. Une atteinte chronique conduit à l'insuffisance rénale, généralement réversible. d'où une nécessité de surveillance très stricte de la fonction rénale^[46, 52-56].

Afin de réduire le risque d'insuffisance rénale qui peut être définitive, il est essentiel de maintenir une diurèse au moins égale à 3 litres par 24 heures. Une hyperhydratation salée de 2 à 3 litres (100 ml/h) doit être instituée 8 à 12 heures avant la première injection de cisplatine, poursuivie tant que dure l'administration du produit et au moins pendant les 24 heures suivantes voire plus si les nausées et les vomissements persistent^[57, 58].

- **Ototoxicité** : qui est plus marquée chez les enfants, se manifeste par de l'acouphène et/ou par une perte de l'acuité auditive.
- **Neuropathies**^[59] : pouvant être irréversibles, se présentent sous forme de paresthésie. Des molécules comme la vitamine E, l'acétylcystéine, le calcium et le magnésium ont été testées dans la prévention des neuropathies induites par le cisplatine mais n'ont à ce jour pas prouvé leur efficacité^[60].
- **Mutagène**.
- **Hématotoxicité** : La dépression médullaire survient chez 25 à 30% des patients traités avec le cisplatine. hypertension et une hypomagnésémie sont souvent associées^[61, 62].
- **Toxicité digestive** : Le cisplatine est classé dans les agents à très fort risque émétisant^[60, 63].
- **Hépatotoxicité** : Une élévation des enzymes hépatiques et de la bilirubine peut survenir lors de l'administration de cisplatine aux doses recommandées.
- **Toxicité oculaire**^[64].

II.7. Amélioration de l'activité de cisplatine

Différentes stratégies ont été développées et aujourd'hui utilisées pour améliorer l'activité des agents anticancéreux en général. Les plus courantes sont :

- L'association des drogues entre elles (la poly-chimiothérapie).
- La synthèse de nouveaux dérivés (les analogues).
- La vectorisation.

- **La poly-chimiothérapie :**

La présence d'un seul agent anticancéreux permet de bloquer une voie de biosynthèse pour inhiber la progression du cancer.

Le problème est que lorsqu'une voie est bloquée, le message de dérégulation peut avoir une déviation. Vu la complexité moléculaire des maladies notamment le cancer, l'association de plusieurs drogues entre elle est requise^[65]. Cette association modifie différentes voies de signalisation des cellules malades, augmentant ainsi les chances de guérison et l'inhibition des résistances.

Le cisplatine est souvent associé à la radiothérapie mais aussi à d'autres agents anticancéreux parce que les cancers sont traités par une bi ou tri-chimiothérapie. Les agents anticancéreux peuvent avoir la même cible (le carboplatine, l'oxaliplatine, etc.) ou une cible différente (la gemcitabine, les taxanes, le 5-FU, etc). [66] En clinique, le cisplatine, agent majeur de la chimiothérapie des tumeurs solides est utilisé souvent en association contre les cancers des testicules, de l'ovaire et du col de l'utérus, de la vessie et de l'uretère, des cancers ORL, des adénocarcinomes métastatiques et dans les ostéosarcomes avec métastases pulmonaires [67].

Mais ces combinaisons ne donne pas toujours des bonnes résultats, il peut avoir des effets secondaires néfastes a cause de ces drogues.

- **La synthèse des différents analogues :**

Les toxicités périphériques de cisplatine ainsi que les résistances développées par cet agent ont poussé les chercheurs à chercher d'autres solutions visant à :

Augmenter sa solubilité [68].

Faciliter son utilisation avec une administration orale, augmenter sa bio distribution en diminuant son interaction avec le sang, augmenter son efficacité en ciblant l'ADN et réduire les effets secondaires.

Les grandes avancées concernant la compréhension du mode d'action du cisplatine et des résistances développées par les cellules tumorales participent activement à la conception de ces analogues.

Certain analogues ont été synthétisés dans le but de faciliter leur encapsulation dans des liposomes [69, 70].

- **La vectorisation :**

A cause des effets secondaires ainsi que les résistances développées vis-à-vis de ces drogues ; les chercheurs sont passés à la vectorisation qui présente actuellement un champ de recherche très important.

Un vecteur doit répondre à quatre critères : le réservoir, le transport, le ciblage et la libération de la drogue.

Différents vecteurs, principalement nano-objets, ont été développés. On trouve des liposomes, des micelles, des polymérosomes, des nano capsules, des nanoparticules, des dendrimères...

Trois découvertes majeures ont stimulé l'immense activité dans ce domaine : la PEGylation, l'effet EPR (Enhanced Permeation and Retention) et le ciblage actif.

Chapitre II : Les Globules Rouges

I. Généralités

Le terme de globule rouge est décrit pour la première fois par le hollandais Leeuwenhoek en 1674, l'érythrocyte est une cellule mature formé lors de processus de l'érythropoïèse au niveau de la moelle osseuse^[71].

Les globules rouges ou hématies ou les érythrocytes (*erythros* = rouge), sont des cellules anucléées qui assure le transport de l'oxygène dont le constituant primordial est une hémoprotéine de liaison de l'oxygène, La durée de vie des hématies de circulation est limitée près de 100-120 jours^[72].

Les globules rouges représentent un modèle universel plus accessible que les autres modèles.

II. Structure du globule rouge

Un globule rouge est une petite cellule discoïde biconcave (7-8 micromètres) (figure 4) : dépourvue de noyau, de mitochondries et de ribosomes, elle prend une coloration rose vive au MGG. Les globules rouges fixent l'oxygène dans les tissus grâce au fer contenu dans l'hémoglobine, leur pigment rouge^[72].

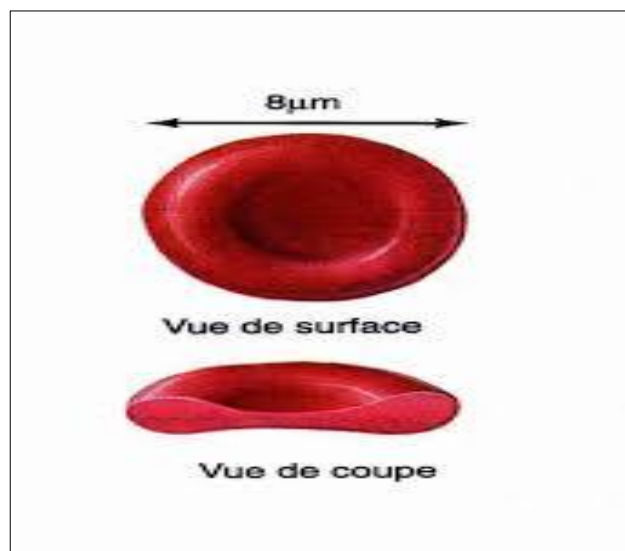


Figure 4: Structure du globule rouge^[73]

III. La membrane érythrocytaire

La membrane est formée d'une bicouche lipidique de 40Å d'épaisseur sous laquelle est ancré un réseau organisé de protéines. Elle est constitué de :

✓ **40 % de lipides :**

Les phospholipides sont les constituants principaux des membranes biologiques, et leur classe principale est les glycerophospholipids. En 1972, SINGER et NICOLSON ont proposé le modèle de « la mosaïque fluide » pour la structure de membrane. Ils sont formés essentiellement de : (65% de phospholipides (les constituants principaux des membranes biologiques), 25% de cholestérol non estérifié, 10% de glycolipides), les lipides membranaires sont pour l'essentiel amphiphiles ^[74].

✓ **52% de protéines :**

• **Le cytosquelette :**

Le cytosquelette reçoit, intègre et transmet des sélections de signalisation intracellulaire et extracellulaire.

Il existe 3 protéines principales : la spectrine, l'Actine ou protéine 5 et la protéine 4.1.

La spectrine est formée de deux chaînes polypeptidiques différentes nommées alpha et bêta polymérisées qui forme des liaisons avec les protéines 3 (via l'Ankyrine) et avec les glycophorines (via la protéine 4/1 et l'Actine). Ces trois protéines, la spectrine, l'actine et la protéine 4.1 forment l'essentiel du squelette membranaire ^[75].

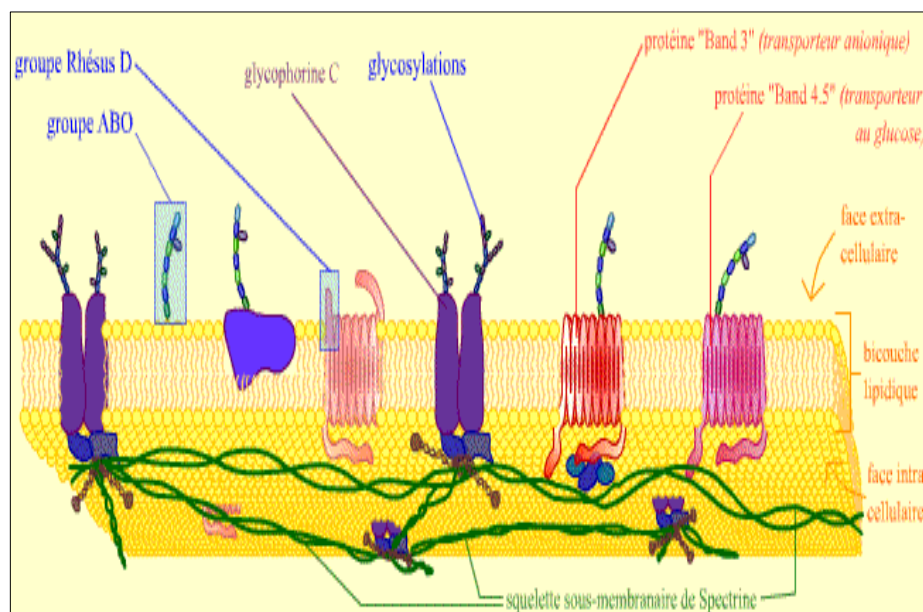


Figure 5: Schéma représentative de la structure de la membrane érythrocytaire ^[76]

- **Protéines transmembranaire** : permet les échanges du globule rouge avec le milieu extérieur.
- ATP ases Na⁺/K⁺ dépendantes qui permettent le transport actif des cations Na⁺ et K⁺.
- ATP ases Ca⁺⁺ dépendantes et aussi elles permettent le transport des anions, de l'eau et du glucose^[77-79].
- **8% de glucides**^[80].

a. Propriétés de la membrane:

Asymétrie :

Toutes les membranes biologiques sont constituées de deux feuillets interne et externe. L'asymétrie des lipides entraîne ainsi une asymétrie de la charge globale de chaque feuillet.

La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides, en effet tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique.

« L'arbre glucidique » présent au niveau du feuillet externe de la membrane plasmique forme ce que l'on appelle le glycocalix »^[72].

Fluidité :

La mobilité des lipides est nécessaire pour l'activité cellulaire. Ils peuvent circuler de différentes manières au sein de la membrane : rotation, diffusion latéral.

La fluidité est influencée par différents facteurs, des facteurs externes comme la température et des facteurs internes :

- La composition en acides gras.
- Le nombre de protéines^[72].
- La proportion en cholestérol.

b. Echange transmembranaire (la pompe Na⁺/K⁺) :

Les échanges à travers la membrane peuvent se faire : par diffusion simple, et par un processus actif agissant contre un gradient de concentration.

- La diffusion simple : intéresse l'eau et les anions inorganiques et se fait à travers les pores de la membrane^[81].

- Transport actifs : La pompe Na^+/K^+ permet le maintien d'une forte concentration intracellulaire en potassium et d'une faible concentration en sodium.

Les concentrations en Na^+ et K^+ intracellulaires sont maintenues par un système complexe de « pompes à sodium- rejetant vers l'extérieur le sodium ayant pénétré passivement dans l'érythrocyte et maintenant le K^+ à l'intérieur de celui-ci. Ce processus actif nécessite un apport d' énergie fourni essentiellement par l'ATP, Un deuxième système d'échange constitue le co-transport $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ^[82] (figure 6) .

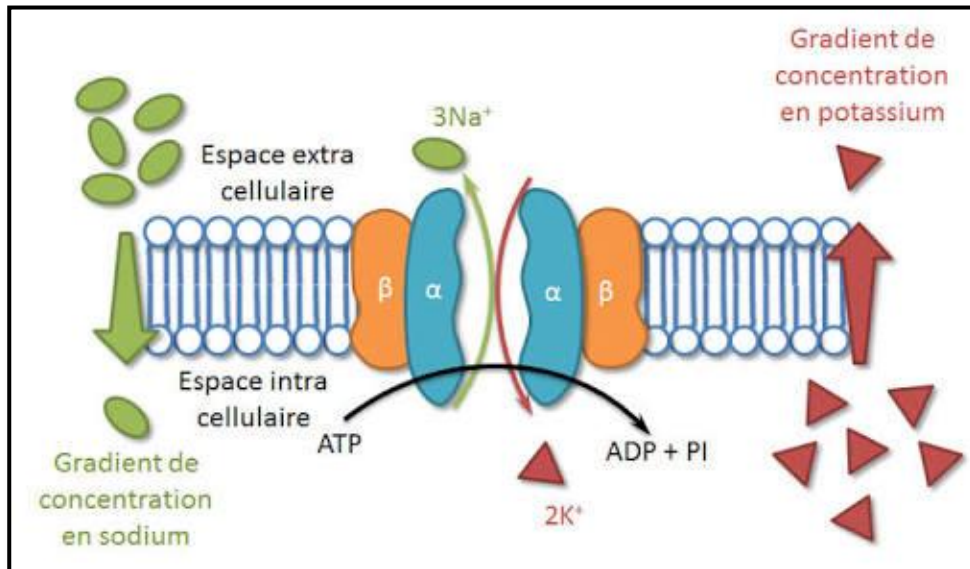


Figure 6: Les échanges transmembranaires

c. L'hémoglobine :

L'hémoglobine (Hb) est une protéine responsable de livrer l'oxygène aux tissus et enlever par la suite le dioxyde de carbone. Sa masse moléculaire est de 64458 daltons. Elle est constituée de 4 protomères presque identiques. Ces Les protomères sont formés d'une seule sous-unité chacun, mais ces sous unités sont exprimées à partir de neuf gènes différents, aboutissant à des formes différentes du tétramère^[83, 84] .

L'hémoglobine est constituée de quatre sous-unités polypeptidiques associées chacune à un cofacteur lié : l'hème. L'hème est lui-même formé d'une structure aromatique et d'un atome de fer.

Cette structure aromatique ou porphyrine est constituée de quatre noyaux pyrrol, comprenant chacun un atome d'azote et 4 de carbone. Les carbones périphériques de ces

noyaux sont substitués par des chaînes latérales courtes qui lient la porphyrine aux radicaux des acides aminés de la protéine.

Au centre de la porphyrine, l'atome de fer est lié par six valences (on dit hexacoordiné). 4 de ces directions fixent le fer sur les 4 atomes d'azote de la porphyrine. Une valence du fer est liée à un des azotes d'une histidine de l'hélice F (His proximale), et la dernière à une histidine de l'hélice E (His distale).

Cette structure peut recevoir une molécule d'oxygène (O₂). Lors de la fixation de l'oxygène, l'atome de fer se rapproche de l'histidine proximale. L'oxygène transporté s'interpose entre l'atome de fer et l'His distale.^[85] (figures 7 et 8) :

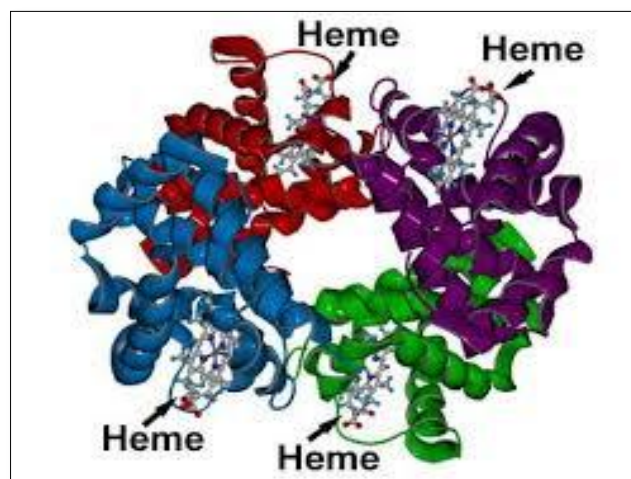


Figure 7 :Les paires de chaînes polypeptidiques contenant une porphyrine contenant un atome de Fer^[85] .

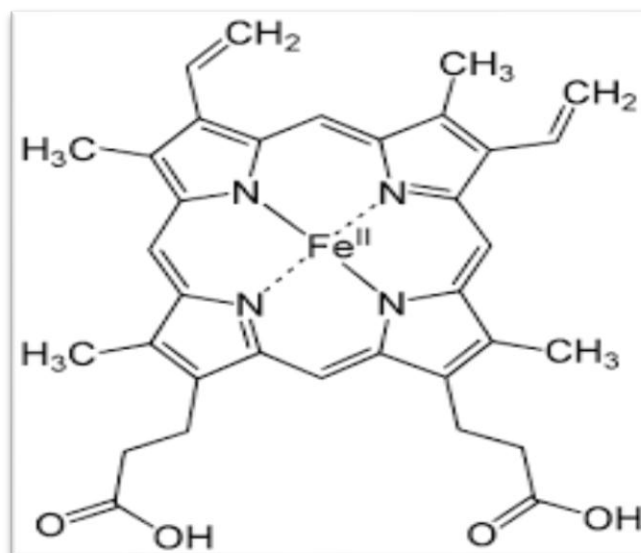


Figure 8 :La molécule de l'hème^[71]

IV. Métabolisme de globule rouge

- ✓ **Production de l'ATP** : L'ATP est fournie par la glycolyse essentiellement assurée par la voie principale. il est nécessaire au bon fonctionnement de la pompe Na^+/K^+ et par conséquent à l'équilibre osmotique du GR (lutte contre l'hyperhydratation).
- ✓ **Le NADH-NADPH** : En effet ce système est nécessaire pour que l'Hb soit protégé contre l'oxydation de ses constituants (fer et globine). Dans ce système, le NADH est fourni par la voie principale de la glycolyse et le NADPH est fourni exclusivement par la voie accessoire (la voie des pentoses)^[86].

V.L'influence de l'osmolarité sur la forme des globules rouges

L'osmolarité correspond au nombre de particules osmotiquement actives par litre de solution et permet de mesurer la pression osmotique ; sa valeur physiologique est située entre 280 et 300 mOsmol /L dans l plasma sanguin.

Donc, à 300mOsmol/kg le globule rouge est discoïde. Lorsque l'osmolarité baisse, il gonfle par entrée d'eau. Il est parfaitement sphérique à 150mOsmol/kg, avec une membrane sous tension en dessous de 150moSMOL/kg, la membrane se déchire et l'hémoglobine s'échappe lorsque l'équilibre osmotique est atteint entre l'intérieur et l'extérieur, la membrane se referme. Seul le contour de la membrane est alors visible. Lorsque l'osmolarité est supérieur à 300mOsmol/kg, le globule rouge se vide de son eau pour former un echinocyte.

VI.L'hémolyse

VI.1.Définition

L' hémolyse correspondant à une diminution de la durée de vie des GR circulants par une destruction prématurée^[87].

C'est un raccourcissement de la durée de vie des globules rouges (< 120 jours)^[88].

L'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges sont détruits et libèrent leur contenu hémoglobinique. Il s'agit d'un phénomène qui touche les hématies à la fin de leur vie dont la durée moyenne est de 120 jours. Une anémie va apparaître si la moelle ne réussit pas à compenser , il résulte une libération d'hémoglobine et du contenu intracellulaire dans le plasma^[89].

VI.2. Les signes de la sénescence érythrocytaire

✓ La modification du métabolisme énergétique :

Les GR sont dépourvus d'appareil de synthèse, donc une diminution de l'ATP et également du 2-3 DPG tout comme celle du NADH et NADPH est secondaire à une diminution progressive de l'activité des enzymes érythrocytaires.

✓ Modification et altération de la membrane et du contenu :

Trouble des échanges ioniques (du à la diminution de ATP) entraîne une augmentation du Ca (et du sodium) et diminution du potassium intracellulaire, induisant une déshydratation et la déformabilité (diminution de l'activité des canaux calciques)

✓ Catabolisme de l'hémoglobine :

La présence d'espèces réactives d'oxygène est due à l'auto oxydation d'hémoglobine Le stress oxydant engendre un désordre de cytosquelette et la perte d'asymétrie lipidique ^[90].

VI.3 Hémolyse d'origine iatrogène

- Divers médicaments sont responsables d'hémolyse, nous citons en premier lieux.
- Le cisplatine qui a fait l'objet de notre étude notamment pour son effet toxique sur le globule rouge.

VI.4. Diagnostique de l'hémolyse

Lorsqu'il y a hémolyse, on trouve les résultats suivants :

- ✓ Une augmentation de taux d'Hb plasmatique .
- ✓ Taux sérique élevé de lactate déshydrogénase (LDH), enzyme présente en grande quantité dans les globules rouges et qui est libérée lors de leur destruction ;
- ✓ Taux réduit d'haptoglobine, protéine qui lie l'hémoglobine relâchée dans le plasma lors de l'hémolyse ;
- ✓ Taux de bilirubine indirecte augmenté (surtout lorsque l'hémolyse est grave ou chronique)^[95].

Chapitre III : Les antioxydants

I. Généralités

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance des oxydants et antioxydants en faveur des oxydants^{[96] [97]}. Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme, ces radicaux contiennent un ou plusieurs électrons non appariés dits « célibataires » et dérivent de l'oxygène ou de l'azote, d'autres espèces dérivées de l'oxygène ne sont pas des radicaux libres mais peuvent être des précurseurs de radicaux et induire des réactions radicalaires.

Ce phénomène a des conséquences métaboliques importantes qui portent atteinte aux structures cellulaires. L'excès de radicaux libres endommage les macromolécules essentielles des cellules (lipides, protéines, glucides, acides nucléiques)^[98]. Le stress oxydant est impliqué dans plusieurs pathologies : maladies neurodégénératives, cancers, les maladies cardiovasculaires, diabète.^[99-105] (figure 9)



Figure 9: La balance d'équilibre entre les systèmes oxydants et antioxydants^[106].

II. L'origine du stress oxydant

Le stress oxydant est le résultat de nombreux facteurs physiologiques, environnementales ou nutritionnelles^[98, 105], ce phénomène se déroule au niveau d'une cellule bien précise^[107].

Il s'agit essentiellement d'une production excessive des ERO au niveau de la mitochondrie^[108-110], d'un dysfonctionnement mitochondriale, d'un système antioxydant altéré (ischémie-reperfusion-vieillessement), d'une activation des systèmes enzymatiques

et d'une oxydation de certaines molécules^[111], ainsi qu'une alimentation pauvre en antioxydant peut induire un stress oxydatif^[112, 113] (figure 10).

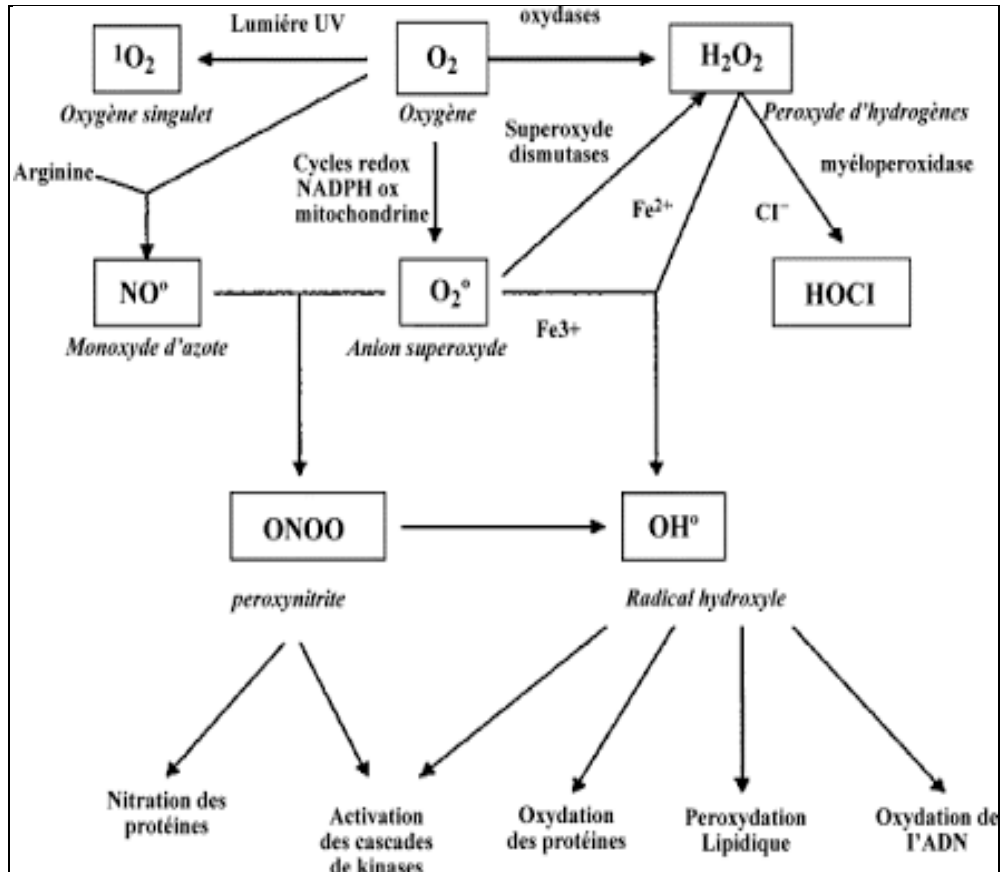


Figure 10: L'origine des différentes espèces réactives de l'oxygène.

III. Les antioxydants

Selon Halliwell et Gutteridge (1989) un antioxydant est défini comme étant « toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat ». Les fonctions antioxydante impliquent une diminution: du stress oxydatif, des mutations de l'ADN, des transformations malignes, ainsi que d'autres paramètres de lésions cellulaires (tableau 2)^[114, 115].

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes. (figure 11)

Ces 2 systèmes assurent :

- ✓ L'élimination des R.L.

- ✓ Empêche la formation des R.L.
- ✓ Réparation cellulaires et tissulaires.

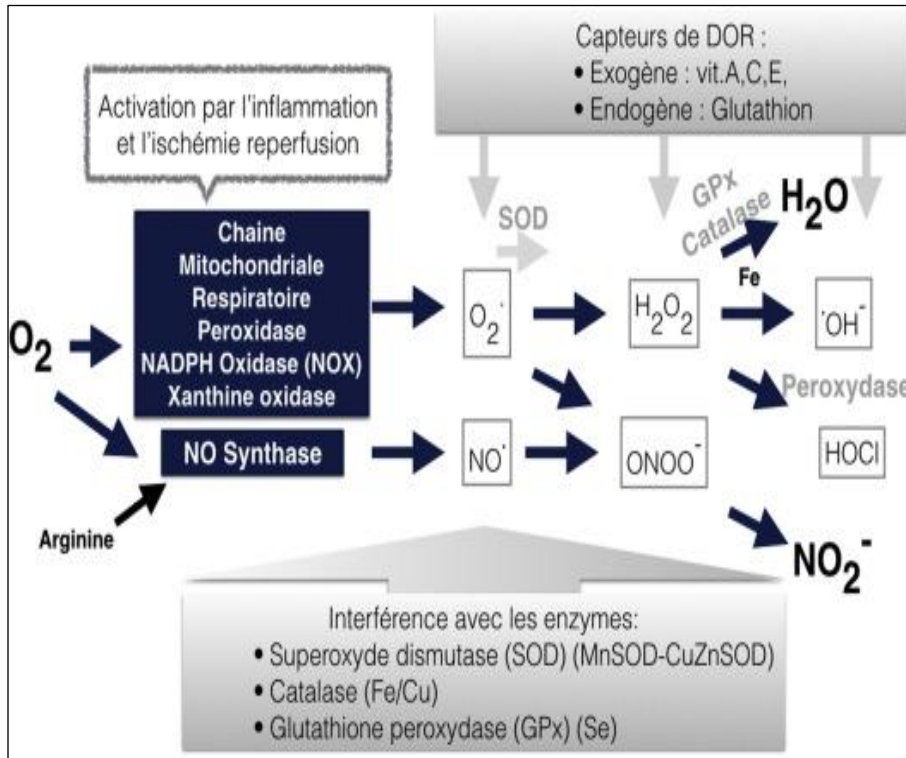


Figure 11: Le mécanisme d'action des antioxydants

Tableau 2: Les antioxydants et leurs principales propriétés

| Antioxydants | Propriétés |
|------------------------------------|--|
| Enzymatiques | |
| Superoxyde dismutase (SOD) | Une des enzymes intracellulaires les plus efficaces qui catalyse la dismutation des anions superoxydes en dioxygène et peroxyde d'hydrogène. $O_2^{\cdot -} + O_2 + 2H \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$ |
| Catalase (CAT) | Favorise la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. $2H_2O_2 \xrightarrow{catalase} 2H_2O + O_2$ |
| Glutathion peroxydase (GPx) | Les propriétés antioxydants de ces sélénoenzymes leur permettent d'éliminer les peroxydes comme substrats potentiels pour la réaction de Fenton. GPx agit conjointement avec le tripeptide glutathion (GSH). Le substrat pour la réaction catalytique de GPx est H_2O_2 , ou un peroxyde organique ROOH. GPx décompose les peroxydes en eau (ou alcool) tout en oxydant simultanément GSH. |

| Non enzymatique | |
|--------------------------------------|---|
| Vitamine C (acide ascorbique) | Très important et puissant antioxydant, agit comme un piègeur de radicaux libres et recycle la vitamine E . |
| Vitamine E | La vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe sous huit formes différentes. L'α- tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E chez l'homme et est un puissant antioxydant biologique. Sa principale fonction antioxydante est la protection contre la peroxydation lipidique . |
| Glutathion (GSH) | Il est considéré comme le principal tampon d'oxydoréduction de la cellule. |
| Flavonoïdes | Ils constituent le groupe le plus important de polyphénols. Les composés phénoliques qui agissent comme des antioxydants peuvent couper les chaînes de radicaux libres et fonctionner en tant que chélateurs d'ions métalliques à activité redox qui sont capables de catalyser la peroxydation lipidique. Les antioxydants phénoliques (PhOH) interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par le don rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux : $ROO \cdot + PhOH \rightarrow ROOH + PhO \cdot$ |
| Sélénium (Se) | Agit en tant que co-facteur de la glutathion peroxydase. |
| Cuivre (Cu) et zinc (Zn) | A concentration physiologique, le cuivre et le zinc agissent comme "antioxydants" en étant les deux co-facteurs responsables de la bonne activité de la SOD. |
| Acide urique | antioxydant possédant la plus forte réactivité avec les radicaux libres. |

III.1.L'albumine

III.1.1.Définition de l'albumine

L'albumine est sans doute l'une des premières protéines découvertes, puisque ses propriétés physiologiques ont été reconnues à l'époque d'Hippocrate .

C'est probablement la protéine la plus étudiée, dans la mesure où ses multiples fonctions ont intéressé des générations de biologistes, biochimistes, chimistes, physiciens et pharmacologistes depuis plus de 150 ans, à commencer par C. Denis qui fut le premier à isoler cette protéine par dialyse en 1840^[116, 117].

L'albumine sérique est l'un des constituants majeur et le plus abondant du plasma sanguin. Il s'agit d'une protéine synthétisée à raison de 10-15 g/j par le foie^[80, 118], il possède un pouvoir oncotique.

Un taux d'albumine sérique faible provoque des œdèmes. Un taux trop élevé est un signe de déshydratation. Il est établi lors d'un prélèvement sanguin. La nutrition joue un rôle primordial dans la production de l'albumine sérique^[119-121].

L'albumine représente 50% de l'ensemble des protéines plasmatiques. La demi-vie est de l'ordre de deux à trois semaines^[122]. La molécule est ainsi dégradée par le système réticulo-endothélial. Son catabolisme est important notamment par rapport aux autres protéines plasmatiques.

Une hypo albuminémie se définit par un taux inférieur à 35 g/L, la pression oncotique est ainsi que abaissée et l'eau quitte alors les vaisseaux pour gagner les tissus provoquant les œdèmes^[123].

III.1.2.Structure

L'albumine a un poids moléculaire faible de 69 kDa , constituée d'une chaîne d'acides aminés organisée (585) en plusieurs hélices alpha, avec 35 résidus cystéine formant des ponts disulfures à l'origine de sa structure tertiaire^[124], la protéine a une charge négative. Le centre de la molécule est composé de radicaux hydrophobes alors que les extrémités contiennent des éléments hydrophiles : sites de liaison pour de nombreux ligands^[124].

La majeure partie de l'albumine totale se trouve au niveau du secteur intra vasculaire et le reste dans le compartiment extravasculaire^[125].

La structure de l'albumine est constituée par 3 domaines identiques partagés en 9 boucles (sous domaine) dont la stabilité et la flexibilité sont assurée par les 17 ponts disulfures et un groupement thiol au niveau de la cystéine 34 qui est responsable de 80% de l'activité antioxydante du plasma. La forme hélicoïdale (hélice α) représente 67% de la structure secondaire, alors que la forme en feuillet β est totalement absente à l'état natif^[126, 127]. (figure 12)

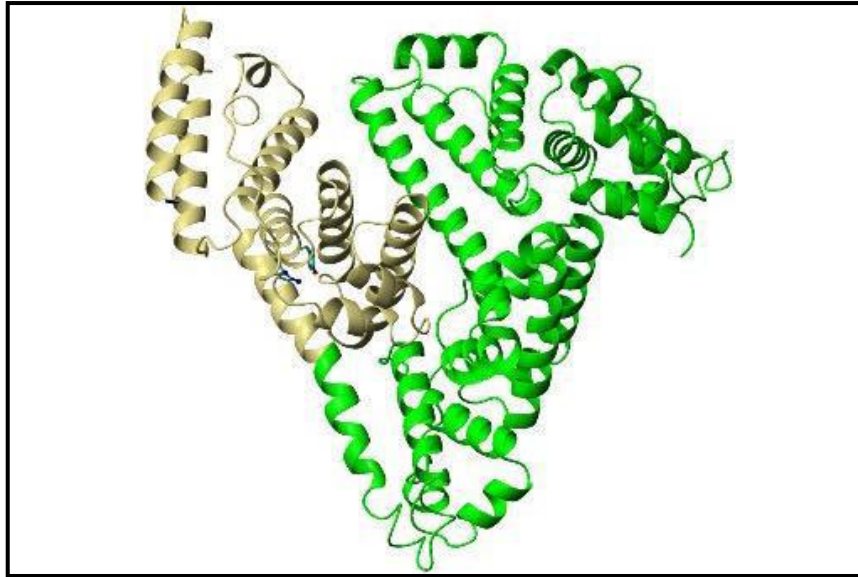


Figure 12 : La structure tridimensionnelle de l'albumine

III.1.3.Pharmacocinétique

Administration et Biodisponibilité :

L'albumine est immédiatement et complètement disponible après son administration par voie intraveineuse: l'augmentation de la masse sanguine est immédiate et dure de 6 à 8heures.

- **Distribution :**

L'albumine se distribue dans 2 secteurs:

- ✓ le 1^{er} secteur plasmatique = 40 à 45%
- ✓ le 2^{ème} secteur extravasculaire = 55 à 60%

- **Métabolisme :**

Il y a métabolisation de 4% au niveau du pool échangeable par jour.

- **Élimination :**

Les protéases lysosomiales assurent l'élimination intracellulaire de l'albumine.

III.1.4.Pharmacologie

- L'albumine à 4% : est une solution isotonique de pouvoir oncotique proche de celui d'un même volume de plasma.

- L'albumine à 20%: est une solution hypertonique de pouvoir oncotique 4 fois supérieur à celui d'un même volume de plasma^[32].

- **Aspect :**

Les solutions d'albumine sont limpides, de couleur jaune pâle à vert clair^[32]

- **Précautions particulières de Conservation :**

- A conserver à une température ne dépassant pas 25°C.
- Ne pas congeler.
- Après ouverture, l'Albumine humaine doit être utilisée immédiatement.
- Conserver dans l'emballage extérieur d'origine, à l'abri de la lumière

III.1.5.Fonctions

Les principales fonctions de l'albumine sont : l'établissement et le maintien de la pression oncotique ainsi que sa liaison avec d'autres molécules (médicaments, ions, hormones ..) assure leur transport^[128, 129]. L'albumine fait partie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation^[124, 130].

L'albumine, qui représente 60% en masse de toutes les protéines plasmatiques, est responsable à 80% du maintien de la pression oncotique (25-33 mm Hg). Cette pression empêche l'eau de sortir des vaisseaux sanguins^[131].

L'albumine est indispensable pour la bonne répartition des liquides entre les vaisseaux sanguins et les tissus ou le milieu interstitiel. En effet une diminution du taux d'albumine dans le sang (hypoalbuminémie) est problématique: la pression oncotique est abaissée, l'eau quitte alors les vaisseaux pour gagner les tissus provoquant ainsi des œdèmes^[131].

La deuxième grande fonction de l'albumine est liée à ses capacités de transport et de fixation de petites molécules de tout type. Cette forte aptitude qui permet de comparer cette protéine à une « éponge », s'explique essentiellement par la flexibilité de sa structure qui s'adapte volontiers aux différents ligands. L'albumine interagit avec un large spectre de composés. La protéine transporte notamment des molécules endogènes telles que les acides gras (AG), des ions métalliques (Ca²⁺, Cu²⁺...), des hormones thyroïdiennes (Thyroxine ou T₄) et stéroïdes, mais également des acides aminés tels que le tryptophane et la cystéine^[131].

Elle assure également le retour des sels biliaires particulièrement hydrophobes entre l'intestin grêle et le foie. C'est ainsi le cas de la bilirubine formée dans la rate et acheminée vers le foie par le biais de l'albumine.

Les principales routes de transport des différents métabolites par l'albumine sont également décrites. Cette protéine véhicule également des substances exogènes, en particulier des médicaments par l'intermédiaire de 4 sites de fixation sur lesquels les différents ligands peuvent se concurrencer en modifiant l'accessibilité de ces sites par changement conformationnel de la structure tertiaire de la protéine ^[131].

Par ses capacités de fixation et de transport, l'albumine se présente comme un « neutralisateur » de substances toxiques. De nombreuses toxines exogènes sont séquestrées par la protéine et rendues inoffensives pour l'organisme. C'est le cas du benzène ^[131].

L'albumine représente l'antioxydant majoritaire du plasma ^[126, 132].

Les propriétés anti-oxydantes de l'albumine sont liées à trois sites de sa structure (figure 13):

- ✓ La cystéine en position 34 dont l'action antioxydant et lié à la captation des radicaux libres.
- ✓ Le site I : site de liaison à l'hème et à la bilirubine.
- ✓ La portion N terminale composée de quatre acides aminés DAHK qui représente un site de liaison pour les métaux pro-oxydants (Cu, Fe, Co, Ni) ^[133]

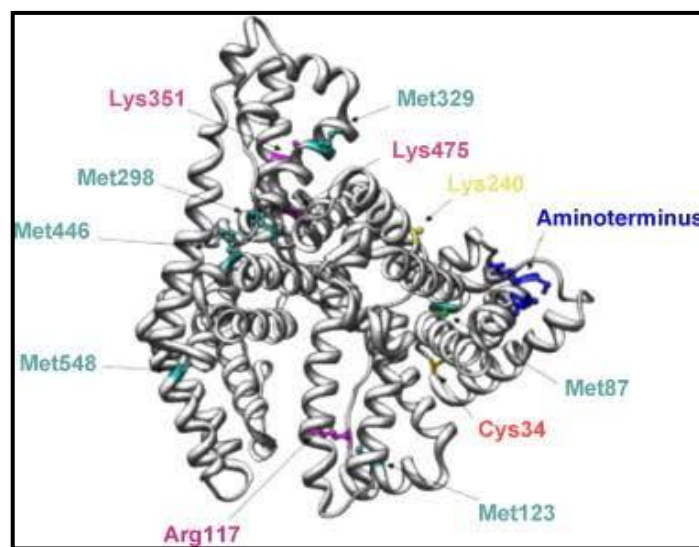


Figure 13 : Principaux sites de l'albumine impliqués dans son activité antioxydante

D'autres aspects de l'activité antioxydante de l'albumine proviennent de la capacité de la protéine à fixer de nombreuses molécules dont des antioxydants. Cela concerne notamment la bilirubine, connue pour ses propriétés toxiques, et qui n'en est pas moins un puissant antioxydant qui combat les radicaux libres susceptibles d'infliger des dommages majeurs aux cellules.

Tableau 3: Les différentes fonctions de l'albumine

| Fo Fonction de l'albumine | | |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Vasculaire | Transport | Métabolique |
| | -Hormones (stéroïde, | |
| | - Acides gras | -Equilibre |
| Pression oncotique. | - Bilirubine | - Acido-basique |
| Intégrité vasculaire | - Acides biliaires. | - Antioxydant. |
| | - Métaux (Zinc, Ca, Mg). | - Anti-inflammatoire. |
| | - Médicament (diazépam). | |

Etude expérimentale

I. Problématique

Le cisplatine reste le meilleur traitement anticancéreux en chimiothérapie qui lutte contre le cancer de la vessie, les ovaires et les testicules. Toutefois, ce choix thérapeutique expose aux risques d'effets toxiques parfois graves en raison de sa toxicité cellulaire.

Est-ce que l'albumine diminue la toxicité hématologique du cisplatine ?

II. Objectif

Etudier et évaluer in vitro l'effet de la sérum-albumine humaine sur la toxicité du cisplatine par l'utilisation d'un modèle universel qui est le globule rouge humain d'un donneur sain unique.

- **BUT**

Le but principale de notre étude est de diminuer la toxicité du cisplatine .

- **Type et lieu de l'étude**

Notre étude est de type « expérimentale prospective », elle s'est déroulée au niveau du service de biochimie du laboratoire central du Centre Hospitalo-universitaire Dr. TIDJANI DAMERDJI de Tlemcen du mois de janvier jusqu'au Mai de l'année 2018.

Matériels et Méthodes

III. Matériels et réactifs

III.1. Matériels

III.1.1. Appareils

Spectrophotomètre : Appareil qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution en fonction de la longueur d'onde afin de déterminer sa concentration selon la loi de Beer Lambert, l'absorbance est proportionnelle à la concentration des solutions diluées. (figure14)



Figure 14 : Le spectrophotomètre

➤ **Centrifugeuse** : Appareil pour la séparation des éléments figurés dans le sang (figure 15).



Figure 15 : La centrifugeuse

➤ **Agitateur magnétique** : L'agitateur magnétique permet l'homogénéisation de la solution de travail (figure 16)



Figure 16 : L'agitateur magnétique

➤ **Vortex** : pour homogénéiser les solutions. (Figure 17)



Figure 17 : Le vortex

➤ **Les balances :**

Pour faire la pesée de NaCl , MgCl_2 . (figures 18 et 19) :



Figure 18: La balance de précision



Figure 19: La balance électronique

➤ **Automate SIEMENS : Dimension Rxl Max® :**

Pour le dosage de LDH : (figure 20) :



Figure 20 :L'automate SIEMENS

➤ **Ionomètre :** L'ionomètre sert au dosage des ions K^+ . (figure : 21)



Figure 21: L'ionomètre

III.1.2.Réactifs

- **L'albumine humaine**

L'albumine est une solution stérile contenant 20% d'albumine dans un diluant aqueux commercialisée sous forme de solution à 20% (figure : 22). Flacon de 100ml (200g).

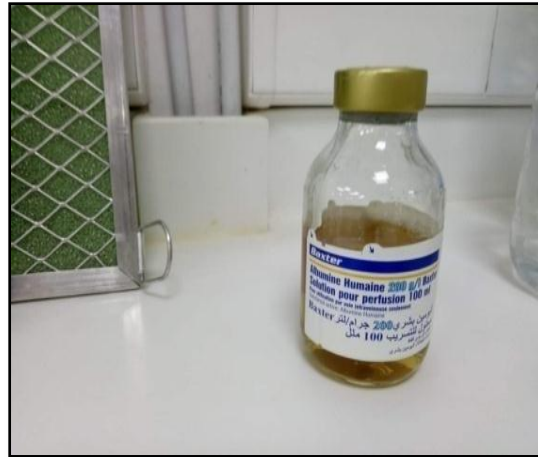


Figure 22 :L'albumine

- **Le cisplatine**

figure 23 : (Flacon de 50ml) 1ml / 1mg



Figure 23: Le cisplatine

- Le cisplatine est un médicament toxique qui ne doit être manipulé que par un professionnel de santé expérimenté dans la chimiothérapie.
 - Les solutions de Cisplatine Injectable, BP doivent être préparées sous une hotte à flux laminaire vertical (enceinte de sécurité biologique de classe II).
 - Le personnel qui prépare les solutions de Cisplatine Injectable, BP doit porter des gants de PVC, des lunettes de protection, ainsi qu'une blouse et un masque jetables.
 - Les aiguilles, seringues, flacons et tout autre matériel ayant pu être en contact avec le Cisplatine Injectable, BP doivent être mis à part et incinérés à 1000°C ou plus. Les contenants hermétiquement fermés risquent d'exploser. Les flacons intacts doivent être retournés au fabricant qui se chargera de les détruire. Il faut prendre les précautions qui s'imposent au moment où l'on emballe le matériel pour le transport.
 - Le personnel qui prépare et manipule régulièrement du Cisplatine Injectable, BP doit se soumettre à des analyses de sang tous les six mois (FNS , surveillance de la fonction rénale).
- **Solution de lavage glacée isotonique aux globules rouges :**

Pour préparer la solution de lavage on a mélangé: 150 m.mole/L de NaCl avec 2 m.mole/L de MgCl₂. Elle doit être conservée au frigo à 2-5°C, elle est instable à température ambiante.

- **Solution tampon (TPBS)**
- **Solution de lyse SDS**

III.1.3. Autres matériels

- Eprouvette
- Fiole jaugée
- Bécher
- Entonnoir
- Tubes secs et hépariné
- Micropipette
- Poire
- Pipette graduée

- Des embouts (bleus et jaunes)
- Des étiquettes pour marquer les tubes
- Des cuves
- Un chronomètre
- Des pots stériles
- Des seringues : 10 ml, 5 ml
- Coton
- Sparadrap;
- Bavettes
- Les lunettes

III.2.Méthodes

III.2.1.Préparation des solutions de lavage

La Solution mère de chlorure de sodium NaCl à 1M :

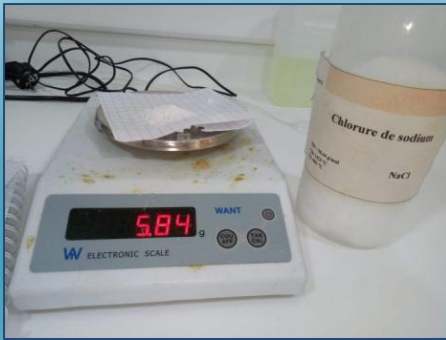
Poids moléculaire de NaCl : 58.44g/L

1mole → 58.44g

58.44g → 1000mL

5.844g → 100ml

- Prélever à l'aide d'une spatule 5.844 g de chlorure de sodium.
- Peser en utilisant une balance électronique.
- Noter sa masse $m_1 = 5.844g$
- Rincer le récipient utilisé avec une pissette d'eau distillée.
- Introduire le solide dans une fiole jaugée de volume $V = 100ml$.
- Remplir la fiole jaugée environ aux $\frac{3}{4}$ avec de l'eau distillée.
- Agiter pour accélérer la dissolution et homogénéiser la solution.
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
- Boucher et agiter pour homogénéiser.



1. peser 5.844g de NaCl.



2. Dissoudre dans une fiole de 100ml, ajuster volume et homogénéiser

Figure 24 : Etapes de préparation de la solution de NaCl

a. La solution mère de chlorure de magnésium à 2M:

- Prélever à l'aide d'une spatule de $MgCl_2$.
- Peser en utilisant une balance électronique.
- Noter sa masse $m_1 = 40.66g$
- Rincer le récipient utilisé avec une pissette d'eau distillée.
- Introduire le solide dans une fiole jaugée de volume $V = 100ml$.
- Remplir la fiole jaugée environ aux $\frac{3}{4}$ avec de l'eau distillée.
- Agiter pour accélérer la dissolution et homogénéiser la solution.
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.
- Boucher et agiter pour homogénéiser.
- Conserver au réfrigérateur à 4 C.

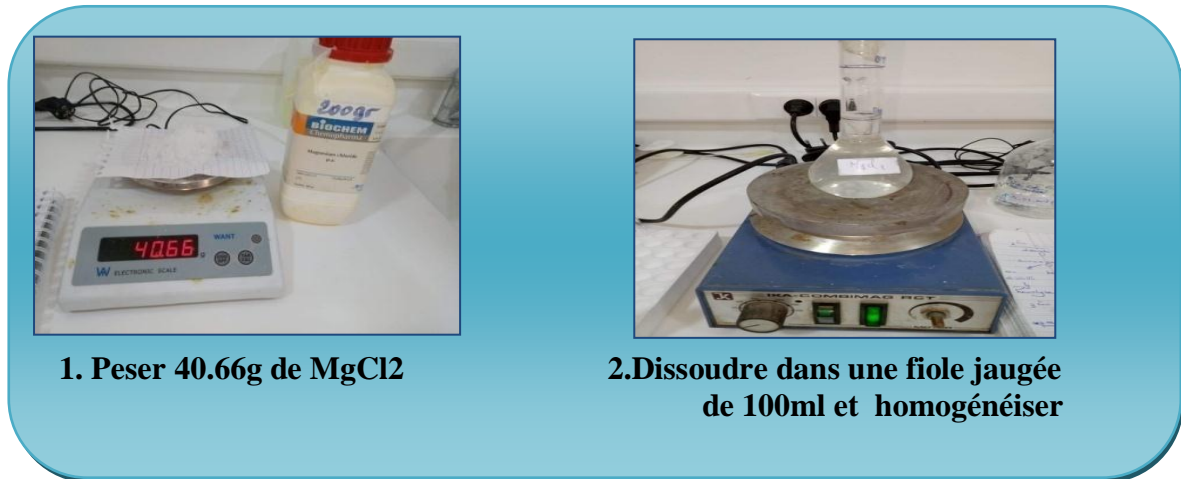


Figure 25 : Etapes de préparation de la solution de chlorure de magnésium

b. Solution tampon (TPBS):

Souvent abrégé PBS, de l'anglais phosphate buffered saline, son pH est de 7,4. Pour la préparation de la solution tampon on a mélangé les sels suivants: le phosphate de sodium (10 mmole) avec du NaCl (140 mmole) et du MgCl₂ (2 mmole).

c. Solution tampon phosphate 100mmol pH est de 7,4 :

On utilise 2 solutions mères à 0.2M

Phosphate di sodique avec 12 H₂O PM : 358.14 g/mol

On pèse 17.907g/mol pour 250ml

358.14g → 1000ml

17.907g → 250ml

Kalium/potassium dihydrogène phosphate 0.2 M :

On pèse 6.845g pour 250 ml

Pour fabriquer la solution tampon 100mmol pH= 7.4 on met dans une fiole de 200ml,

81ml de Na₂HPO₄ +19 ml KHPO₄ et on complète à 200ml par l'eau distillé.

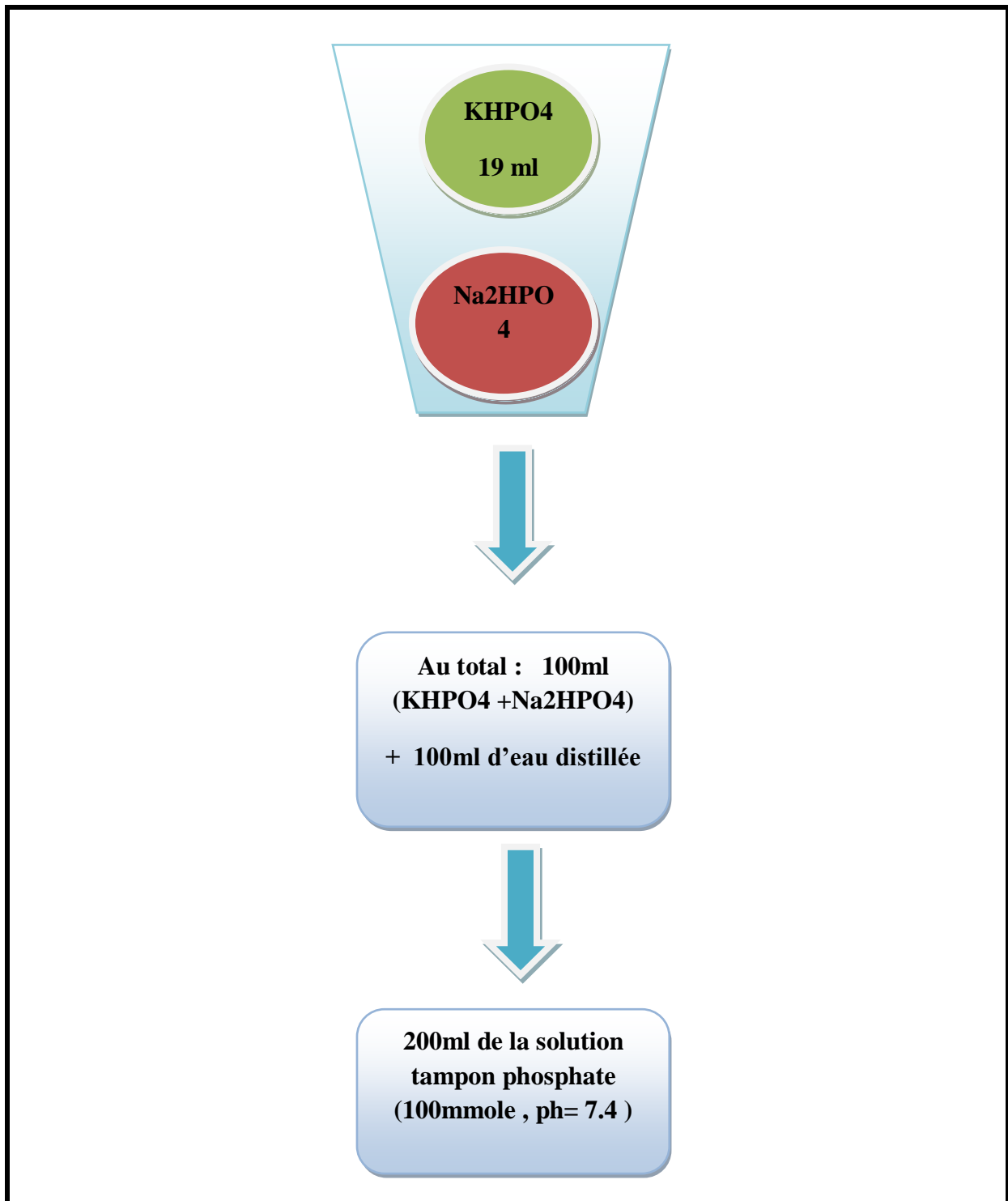


Figure 26: Préparation de la solution tampon phosphate (100mmole, ph=7.4)

d. Préparation de la solution de lyse SDS :

Le SDS est un détergent et tensioactif ionique fort, couramment utilisé en biochimie et biologie moléculaire.

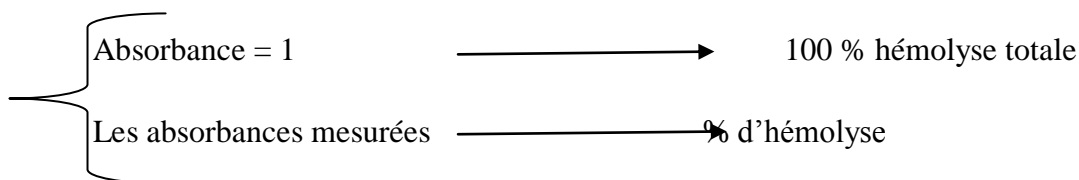
En laboratoire, le SDS utilisé afin de préparer des protéines pour réaliser une électrophorèse en gel de polyacrylamide. Le SDS supprime les liaisons non covalentes de la protéine, et par la suite permettant la dénaturer.

e. Préparation de la solution de SDS 0.5 % :

On prend 0.5ml de la solution mère de SDS à 0.5% et on ajoute 9.5 ml de l'eau distillée (dilution de 1/10 eme de la solution mère).

Dans un tube, on prend 1ml de la solution de SDS 0.5% +1ml de culot : nous donne une hémolyse totale (100 %) et on mesure l'absorbance à 545 nm. L'absorbance = 1

Pour convertir les absorbances en % :



Cette formule nous aide pour tracer les Histogrammes de l'Hb.

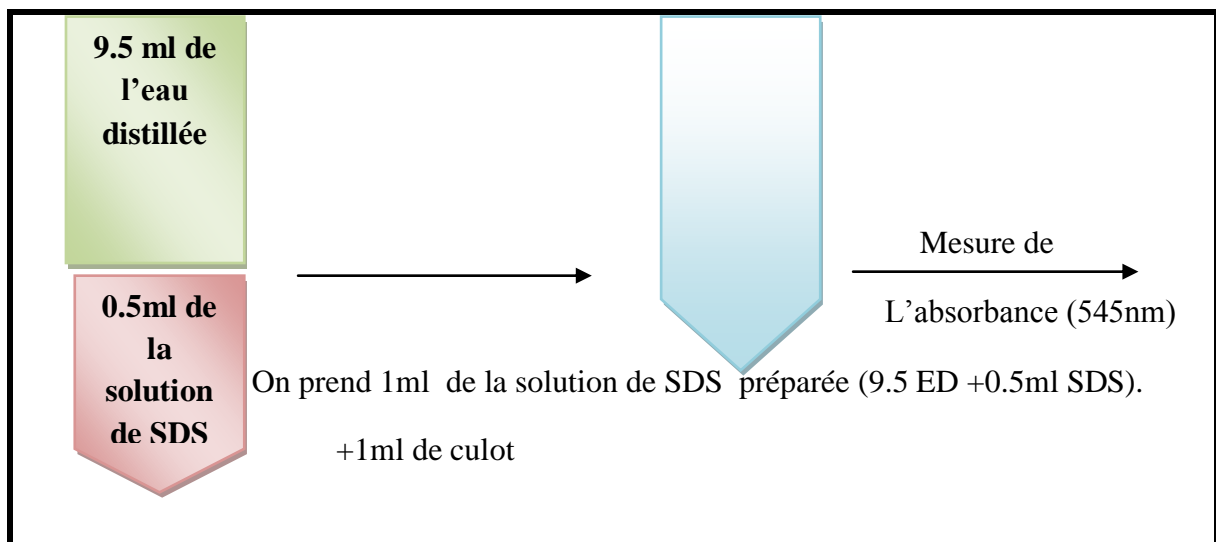


Figure 27: Préparation de la solution de SDS 10%

III.2.2. Dosage des paramètres indiquant l'hémolyse

- ✓ Dosage de la concentration du potassium par l'ionomètre,
- ✓ Dosage de l'hémoglobine par méthode spectrophotométrique,
- ✓ Dosage de la LDH.

III.3.Mode opératoire

III.3.1.Préparation de l'échantillon

- **Prélèvement sanguin :**

Le prélèvement du sang a été réalisé le matin à jeun sur un volontaire sain au niveau de la veine du pli du coude à l'aide d'une seringue de 10ml.

Toute agitation excessive des tubes, aspiration trop rapide du sang au cours du prélèvement, la pose prolongée d'un garrot sont éviter pour ne pas hémolyser le sang et donc fausser les résultats.

Le sang recueilli est partagé dans deux tubes :

- ✓ Le premier tube hépariné pour effectuer nos tests.
- ✓ Et un 2^{ème} tube EDTA pour faire FNS (dans le but de s'assurer que les cellules érythrocytaires ne présentent aucune anomalie et qu'elles soient dans les normes).

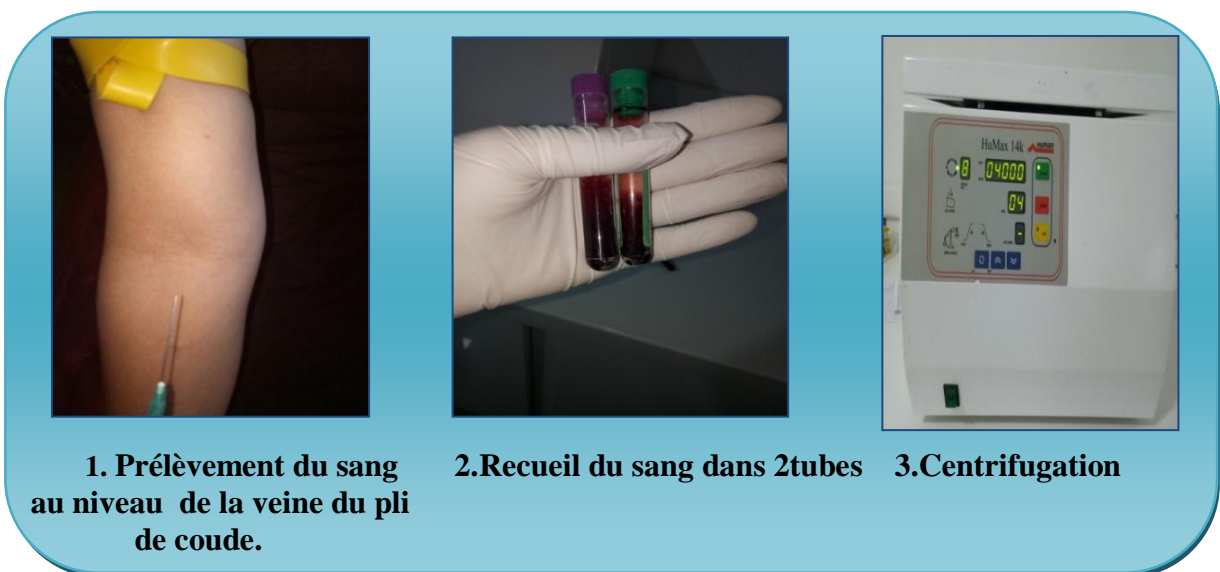


Figure 28 : Les étapes de prélèvement sanguin

III.3.2. Préparation de la suspension de travail

- ✓ Le tube est centrifugé à 4000 tours par minutes pendant 5 minutes.
- ✓ Elimination et remplacement du plasma par la solution de lavage glacée.
- ✓ Mélanger doucement pour éviter l'hémolyse mécanique.
- ✓ Un 2^{ème} lavage est nécessaire pour éliminer toute trace du plasma.
- ✓ Centrifuger et éliminer le surnageant et le remplacer par la TPBS.
- ✓ Mélanger délicatement, c'est notre échantillon qu'on va étudier.

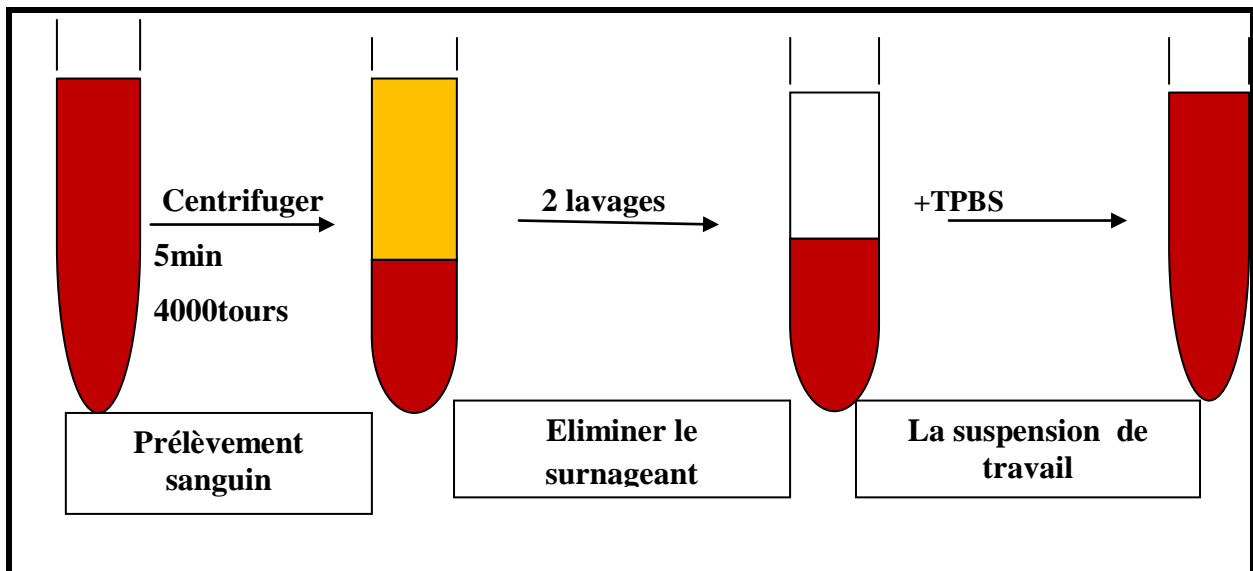


Figure 29 : Préparation de l'échantillon de travail

Nous avons effectué 5 tests :

- Test 1 : l'effet de cisplatine sur la libération de l'Hb en fonction du temps.
- Test 2 : l'effet de cisplatine à différentes concentrations (5mg, 2.5 mg, 1.25 mg) sur la libération de l'Hb en fonction du temps.
- Test 3 : l'effet de l'albumine (antioxydant) à la concentration de 5g /L sur la libération l'Hb en présence et en absence de cisplatine en fonction du temps.
- Test 4 : l'effet de l'albumine à différentes concentrations sur l'Hb en présence et en absence de cisplatine en fonction du temps.
- Test 5 : l'effet de pré incubations :
 - ✓ Le premier cas : le pré incubation de sérum albumine humaine (10 g, 30 g, 50 g) avec le cisplatine avant l'addition de GR.
 - ✓ Le deuxième cas : la pré incubation de sérum albumine humaine (10g, 30g, 50g) avec la suspension cellulaire avant l'addition de cisplatine.

- **Test 1 : Effet de cisplatine sur l'Hb en fonction du temps**

On prend 1 ml de la suspension du travail après agitation et on ajoute 9 ml de tampon phosphate 100mmol ph : 7,4.

Au total on a un volume de 10 ml, on partage la suspension tamponné dans deux pots stériles chacun contient 5ml. pour le 1^{er} pot on ajoute 5ml d'eau physiologique, et pour le 2^{ème} 5ml de cisplatine.

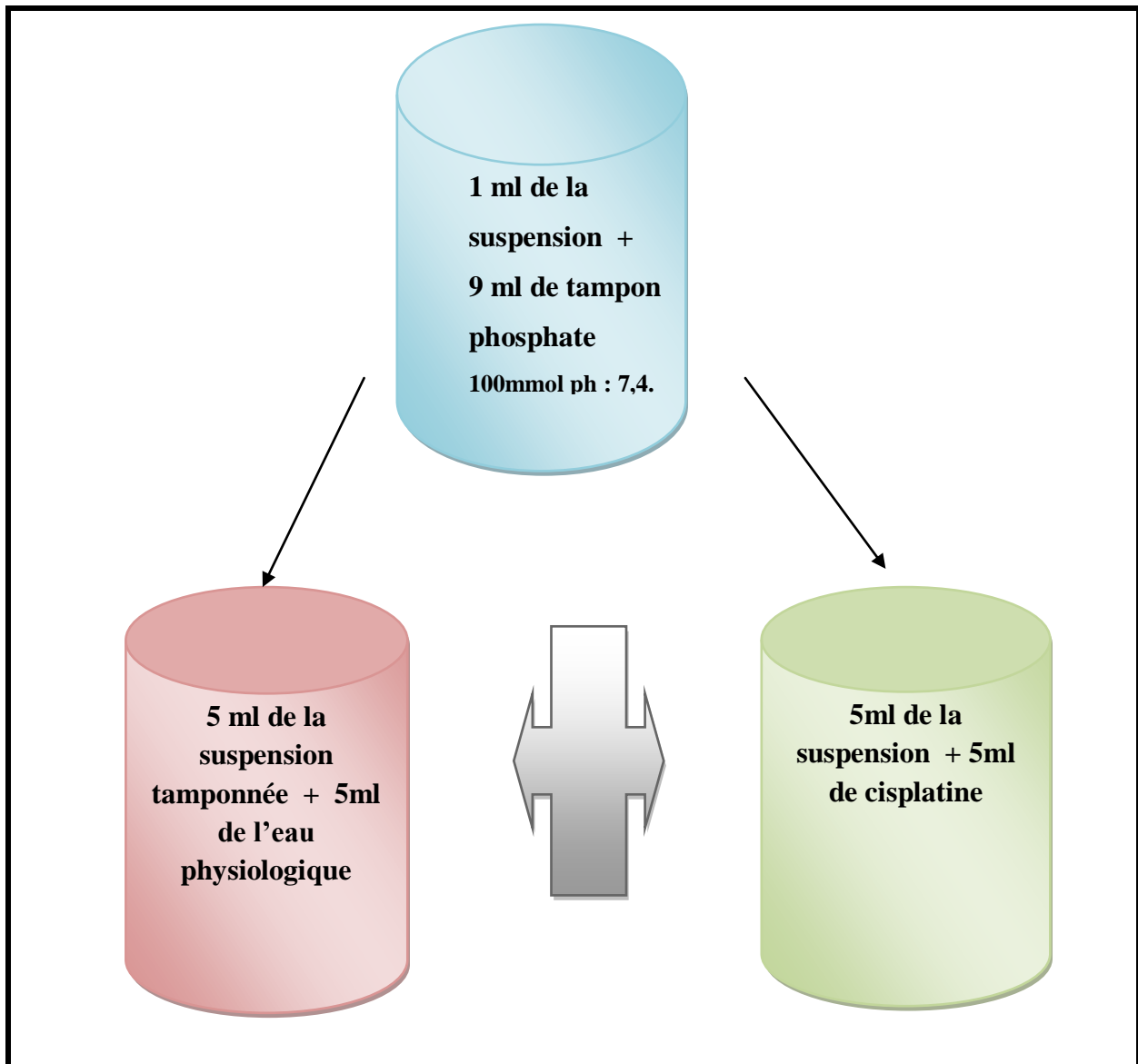
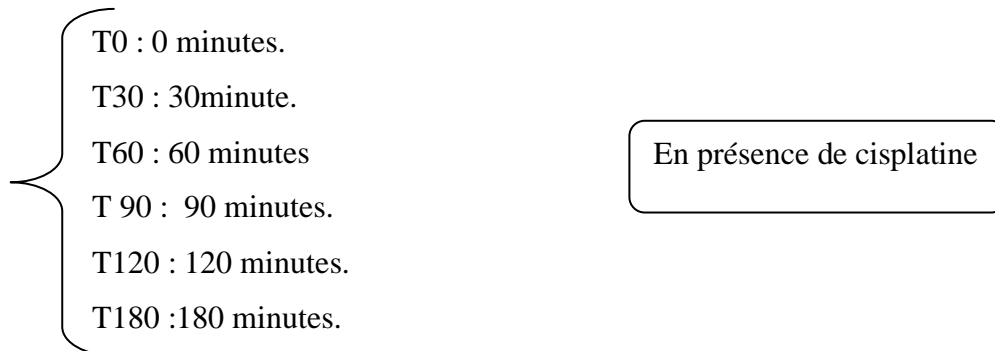
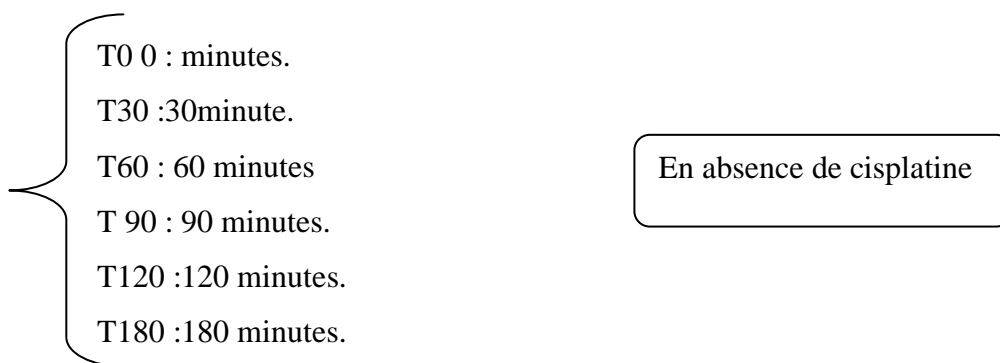


Figure 30 : Préparation des deux pots (avec et sans cisplatine)

On prépare une série de tube correspondant aux temps (T0, T30, T60, T90, T 120, T180).



On prépare une deuxième série des tubes en absence de cisplatine (présence de l'eau physiologique).



- Pour chaque pot, On prend 1 ml et on ajoute 2ml de solution de lavage glacée.
- On centrifuge chaque tube au temps précis (4000 tr/min pendant 5 min) et pour chaque tube préparé on sépare le surnageant du culot :
 - ✓ Le surnageant pour le dosage de l'Hb par méthode spectrophotométrie et LDH.
 - ✓ le culot : On récupère le culot dans 1 ml d'eau distillée puis on agite à l'aide du vortex afin de lyser les cellules pour doser les ions [K+] à l'aide d'un ionomètre.

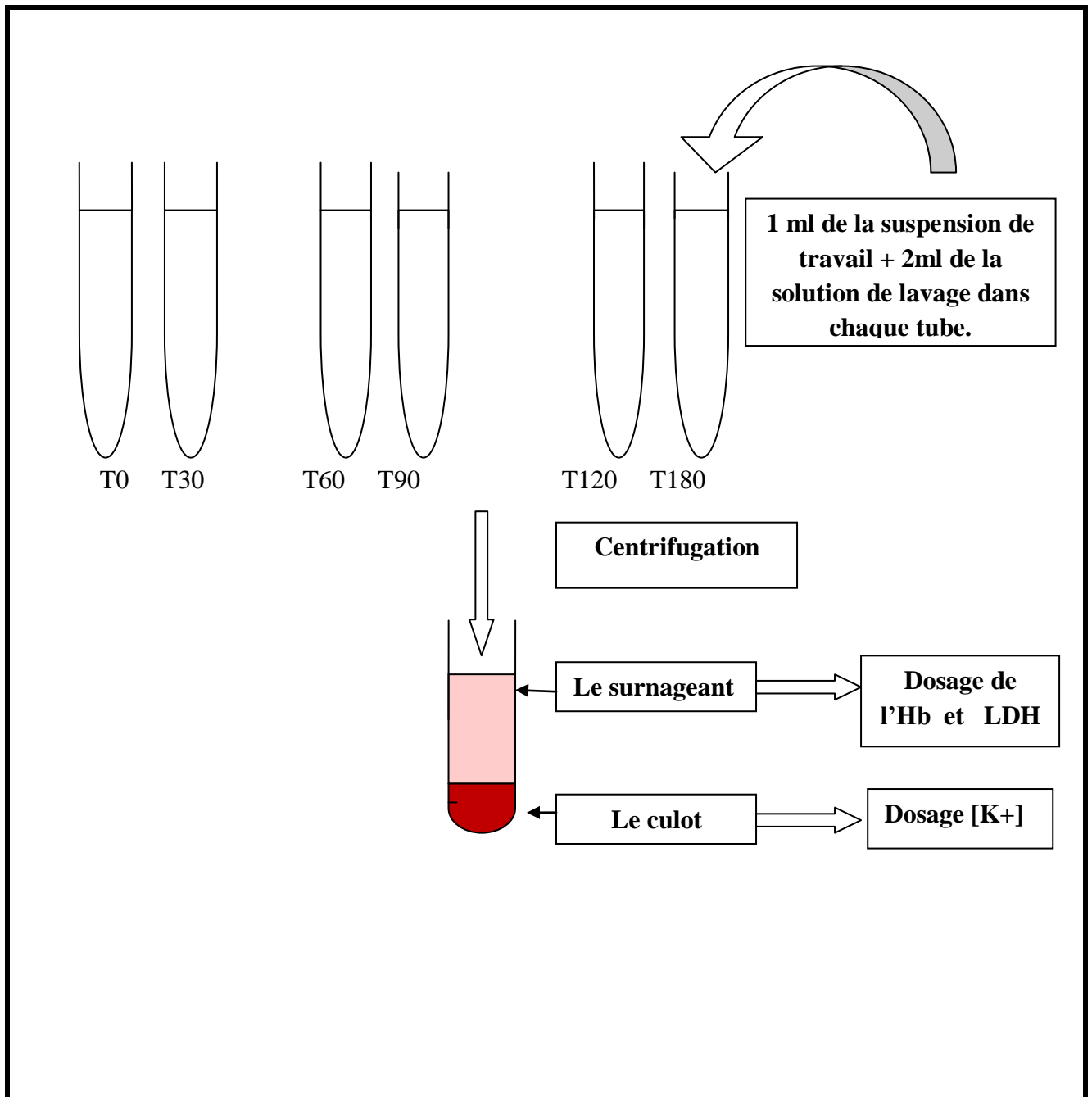


Figure 31 : Préparation des tubes de premier test : Effet de cisplatine sur l'Hb en fonction du temps

- **Test 2 : L'effet du cisplatine à différentes concentrations (5mg, 2,5mg, 1.25mg) sur l'Hb en fonction de temps : 1mg de cisplatine → 1ml de la solution**
 - On prend 1 ml de la suspension cellulaire et on ajoute 4 ml du tampon phosphate et 5ml d'eau physiologique (témoin).
 - On prend 1 ml de la suspension cellulaire et on ajoute 4 ml du tampon phosphate et 5ml du cisplatine (5mg).
 - On prend 1 ml de la suspension cellulaire et on ajoute 2 ml du tampon phosphate et 2.5 ml du cisplatine (25mg)+ 4.5ml d'eau physiologique.
 - On prend 1 ml de la suspension cellulaire et on ajoute 4ml du tampon phosphate et 1.5 ml du cisplatine (1.5mg) + 3.5ml d'eau physiologique.

On prépare une série des tubes à différents temps comme les tests précédents.

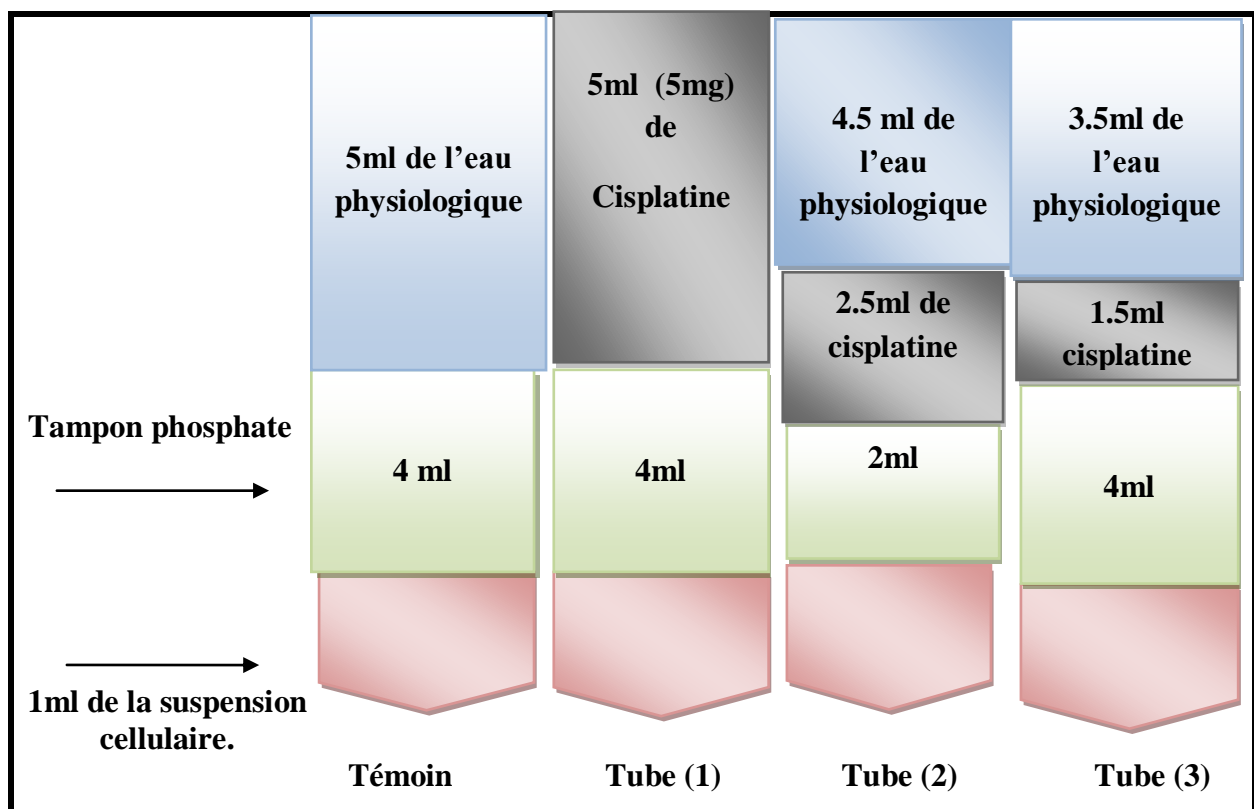


Figure 32 : Etape de préparation des tubes de cisplatine à différentes concentrations

- **Test 3 : L'effet de l'albumine sur l'Hb en présence et en absence du cisplatine en fonction de temps :**
 - On prend 1 ml de la suspension cellulaire et on ajoute 2.5 ml (10g) de HSA et 6.5 ml de tampon phosphate (100mmol ph : 7.4).
 - Au total on obtient un volume de 10 ml, on partageant la suspension tamponné dans deux pots stériles chacun contient 5ml. le 1^{er} pot on ajoute 5ml d'eau physiologique, et le 2^{ème} 5ml de cisplatine.
 - la préparation une séries de tubes à différents temps : T0 , T30 , T60 , T90 , T 120. Dans chaque tube on met 1ml de la suspension de travail et on ajoute 2ml de la solution de lavage glacée.
 - Centrifuger chaque tube (4000 tr/min pendant 5 min).
 - Après centrifugation, on fait le dosage de l'Hb et LDH et K+.

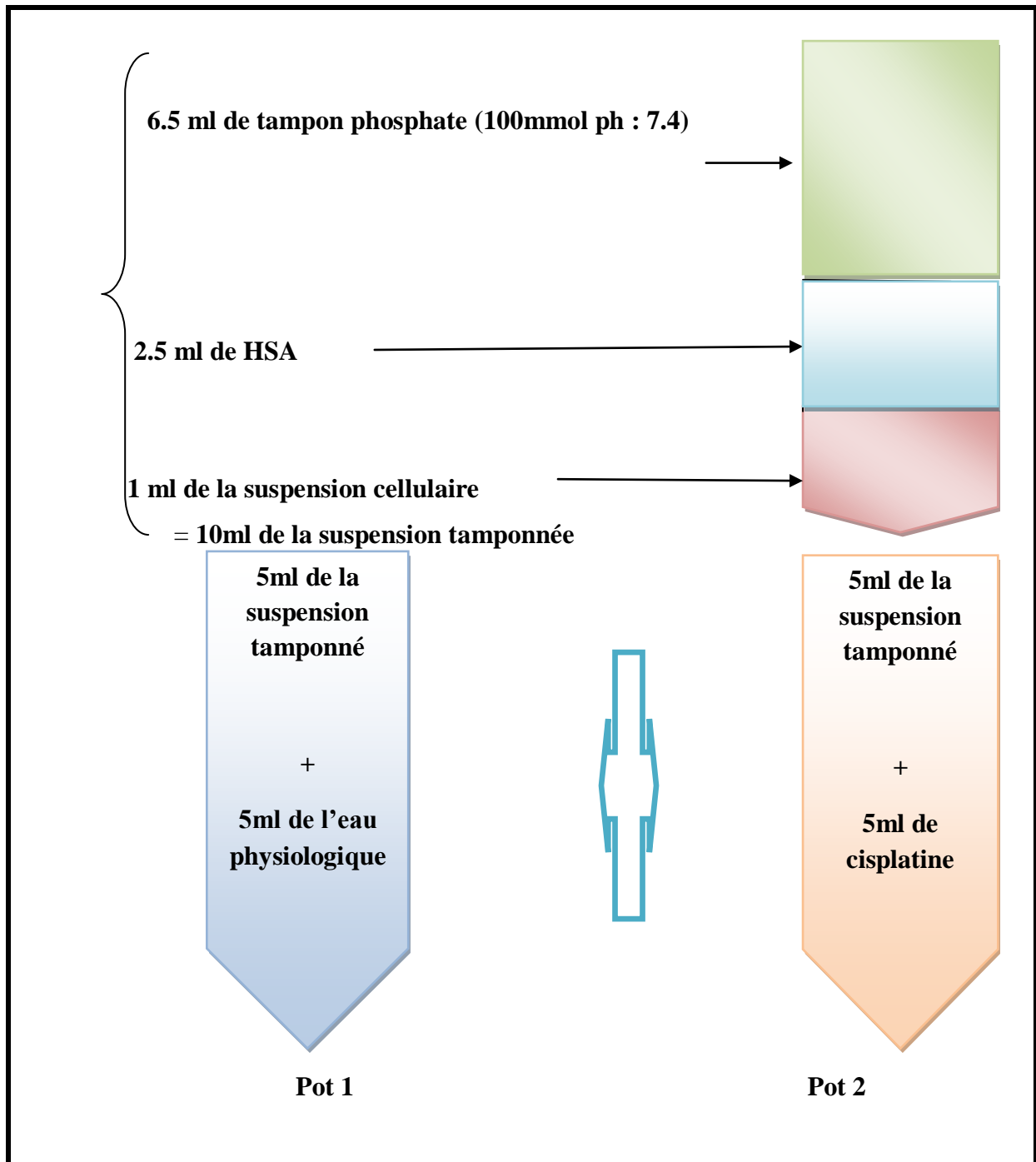


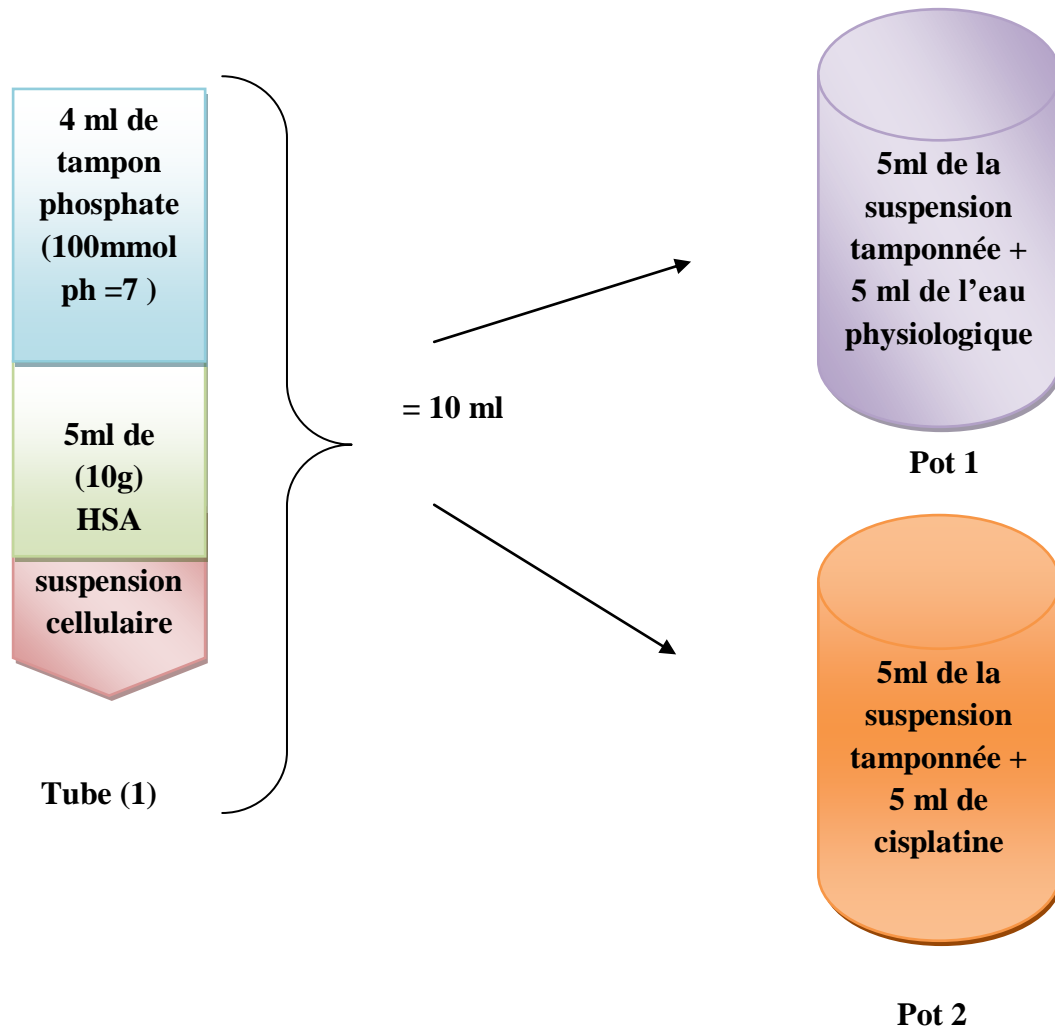
Figure 33 : Étape de préparation des tubes d'albumine en présence et en absence de cisplatine

- **Test 4 : L'effet de l'albumine à différentes concentrations sur l'Hb en présence et en absence de cisplatine en fonction du temps :**

On travail avec différentes concentrations : 10g, 5g, 2.5g, 1.25g

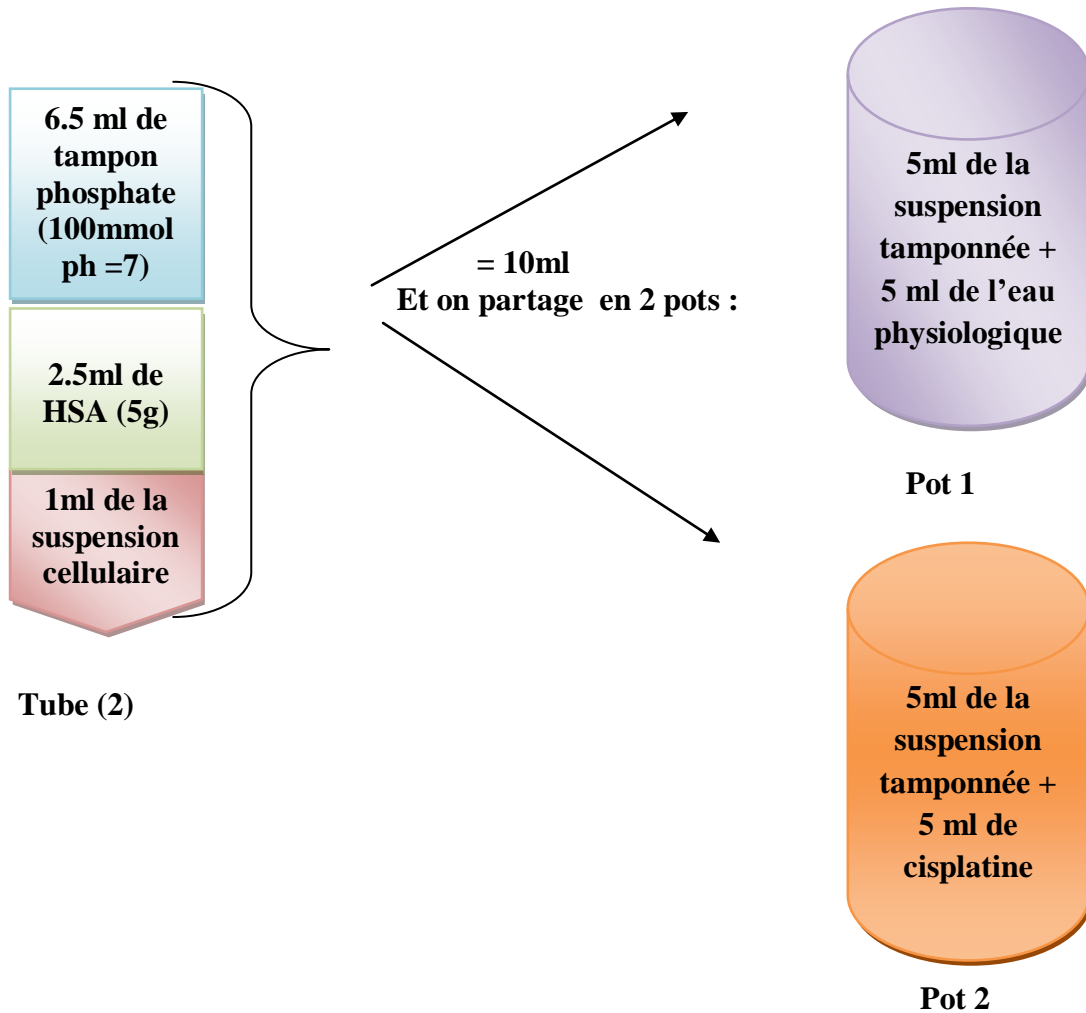
- **La concentration 10g :**

1 ml de la suspension cellulaire + 5 ml de HSA (10g) et 4 ml de tampon phosphate (100mmol ph : 7.4) (tube 1) :



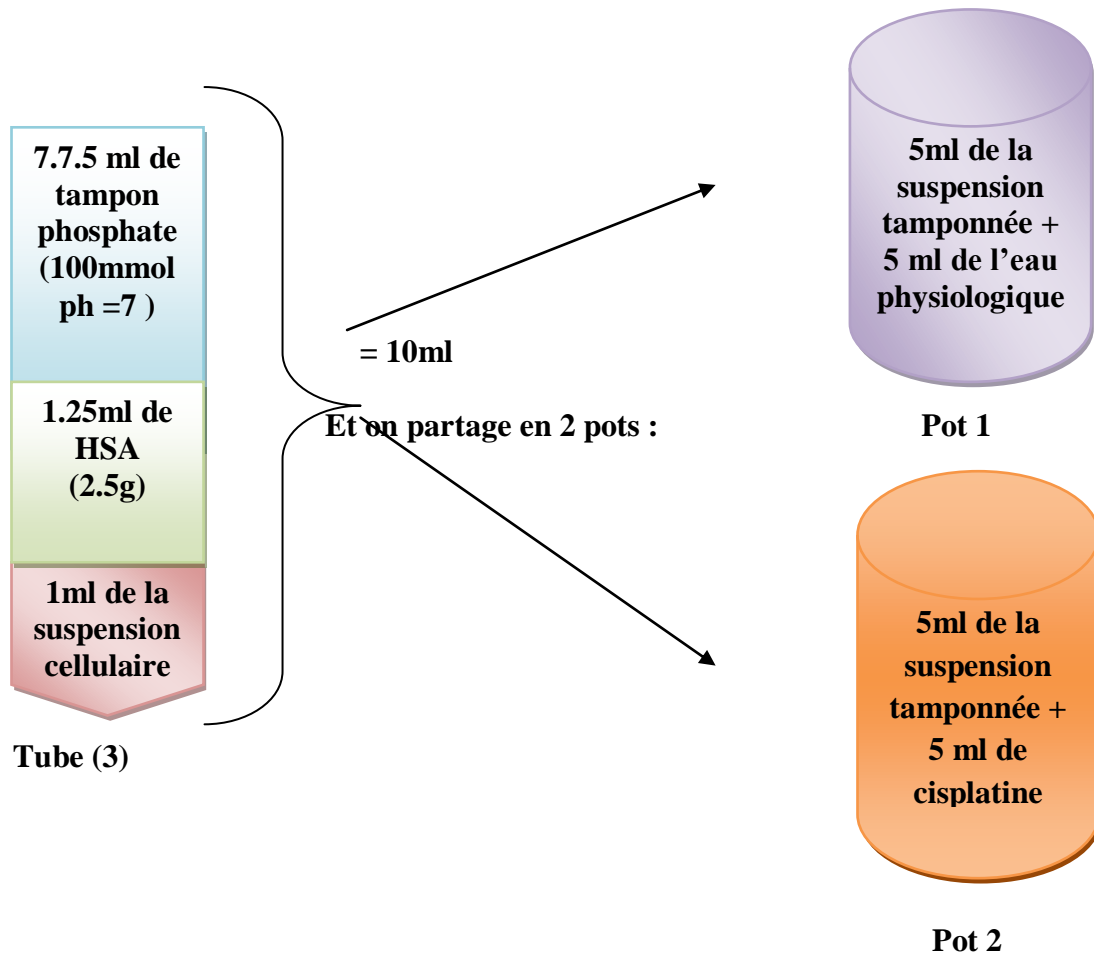
- **La concentration 5g :**

1 ml de la suspension cellulaire + 2.5 ml de HSA (5g) et 6.5 ml de tampon phosphate (100mmol ph : 7.4). tube (2) :



- La concentration 2.5g :

1 ml de la suspension cellulaire + 1.25 ml de HSA (2.5g) et 7.75 ml de tampon phosphate (100mmol ph : 7.4). tube (3) :



- **La concentration 1.25g :**

1ml de la suspension cellulaire + 0.625 ml de HSA (1.25g) et 8.375 ml de tampon phosphate (100mmol ph : 7.4). tube (4) :

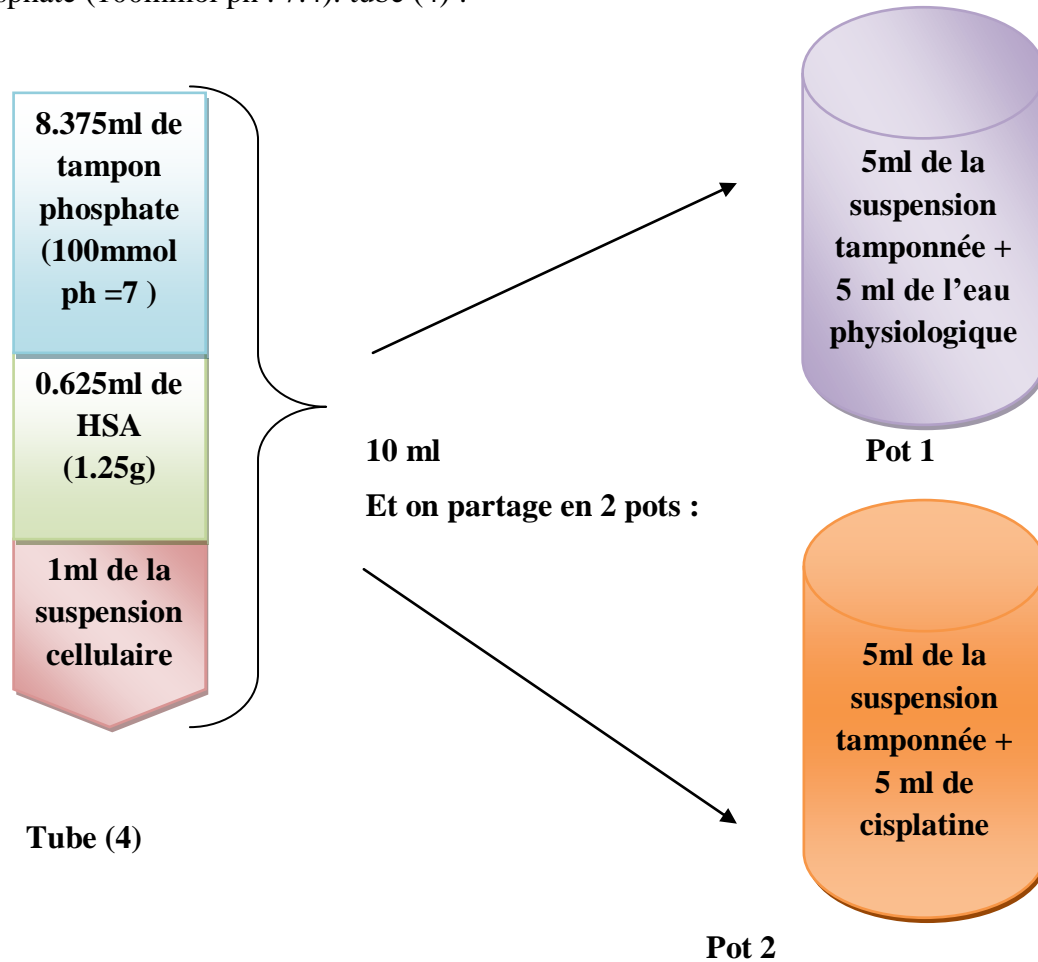


Figure 34 : Schéma représentatif de Test 4 :L' effet de l'albumine à différentes concentrations en fonction du temps :

- Pour chaque tube on a au total un volume de 10 ml, on partage la suspension tamponnée dans deux pots stériles chacun contient 5ml. pour le 1^{er} pot on ajoute 5ml d'eau physiologique, et pour le 2^{ème} 5ml de cisplatine.
- On prépare une série de tubes à différents temps : T0, T30, T60, T90, T 120. et pour chaque tube on prend 1ml de la suspension de travail et on ajoute 2ml de la solution de lavage glacée.
- Centrifuger (4000 tr/min pendant 5 min) pour chaque tube préparé on sépare le surnageant du culot.
- Le dosage de l'Hb par méthode spectrophotométrie, LDH et le culot pour le dosage de potassium.

- **Test 5 : les pré incubations :**

Le premier cas : la pré incubation de sérum albumine (10 g, 30 g et 50 g) humaine avec le cisplatine avant l'addition de GR:

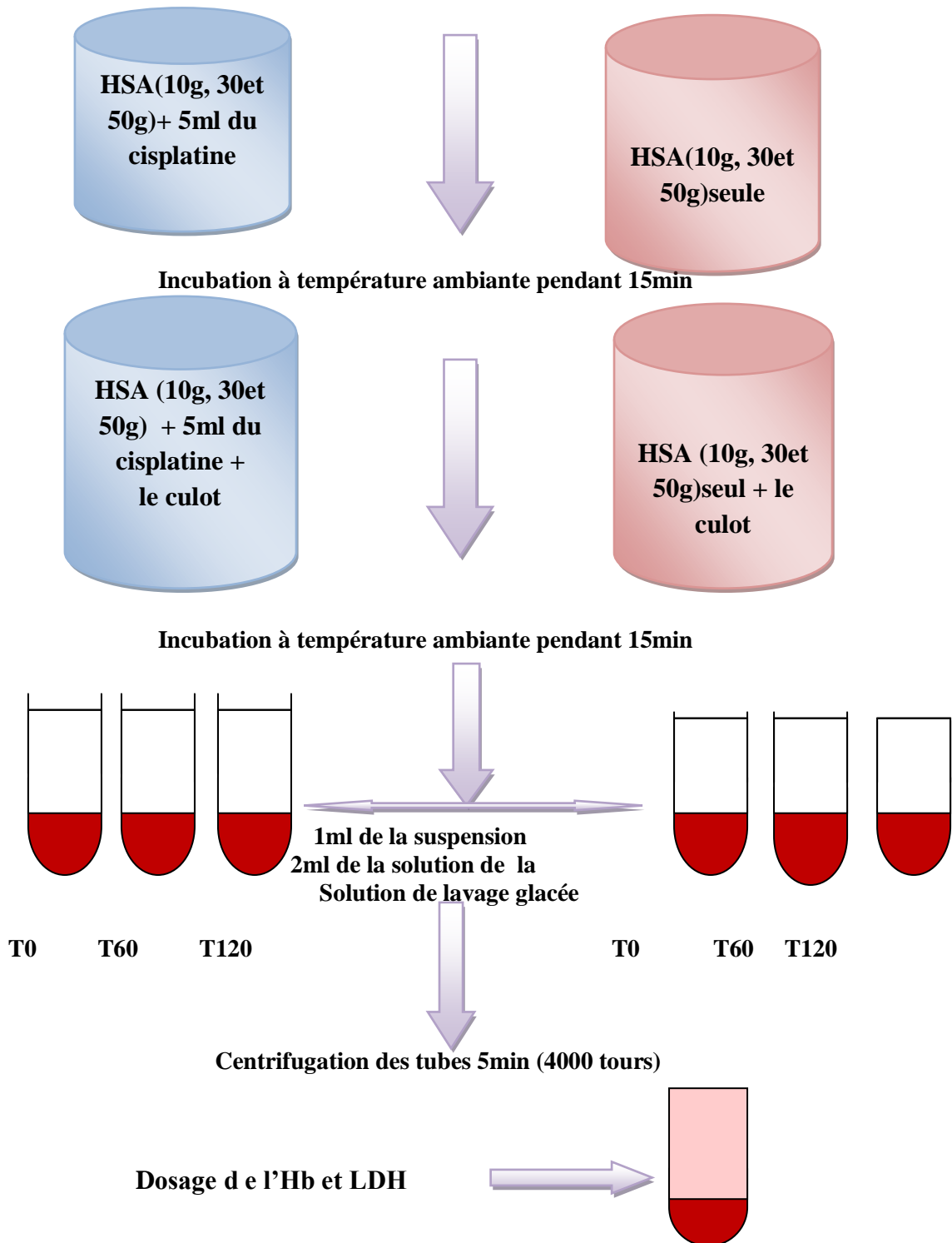
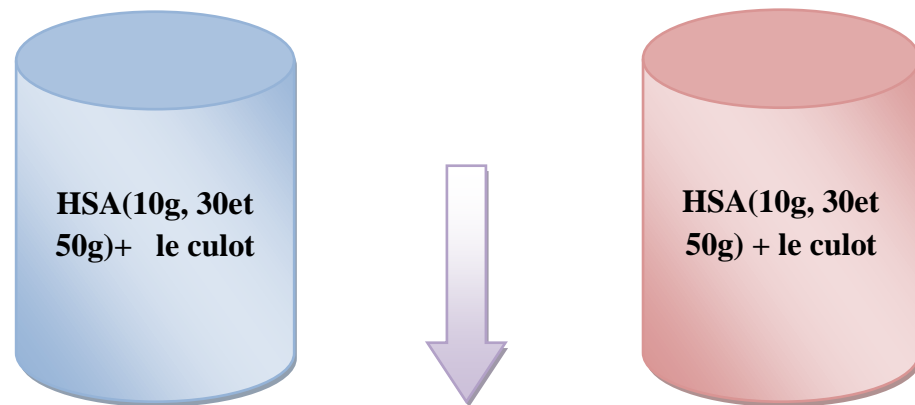
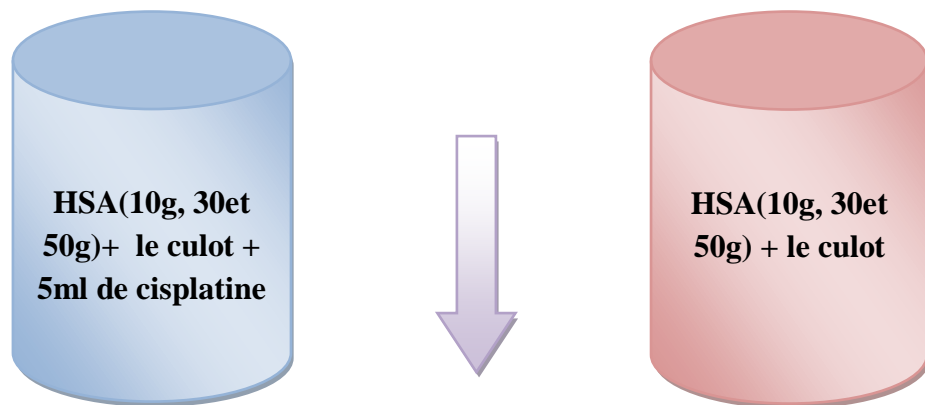


Figure 35: Etape de la préincubation de HSA avec le cisplatine

Le deuxième cas : la préincubation de sérum albumine humaine avec la suspension cellulaire fille avant l'addition de cisplatine :



Incubation à température ambiante pendant 15min



Dosage : de l'Hb, LDH.

Figure 36 : les étapes de la préincubation d'HSA avec la suspension cellulaire.

Résultats et Interprétation

IV. Résultats et interprétations

Toutes les expériences ont été menées dans les mêmes conditions de travail ; à T° ambiante et à pH 7,4.

L'effet du sérum albumine sur la toxicité du cisplatine vis-à-vis les globules rouges a été suivi d'une part par la perturbation de la perméabilité membranaire aux ions K⁺ (ion intracellulaire par excellence) d'autre part par la libération de l'hémoglobine secondaire à l'hémolyse.

IV.1. Test 1 : L'Effet de cisplatine (5mg/L) sur le taux l'Hb libéré en fonction du temps

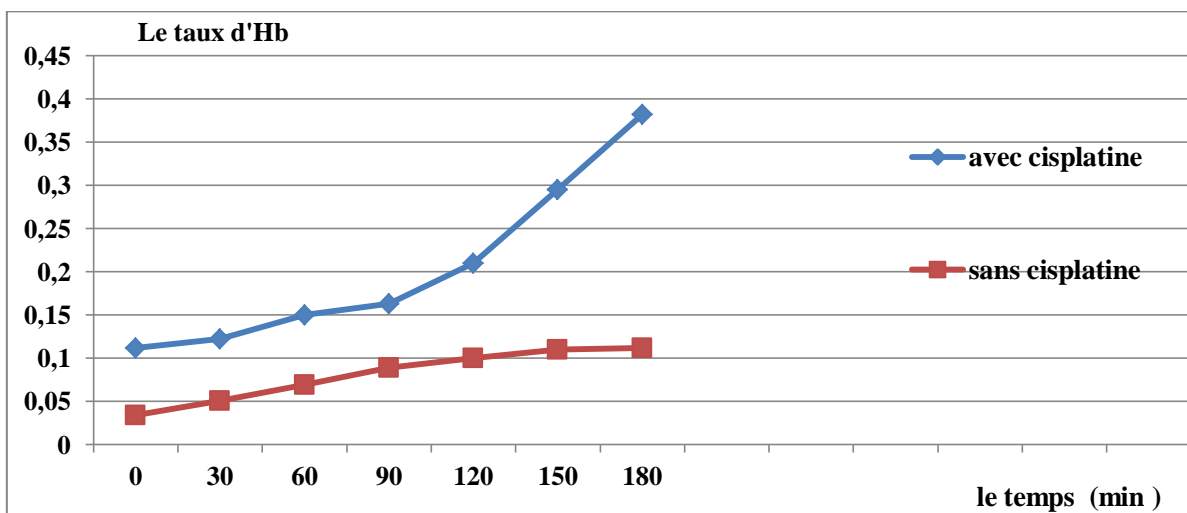


Figure 37 : Effet du cisplatine sur l'Hb libéré en fonction du temps

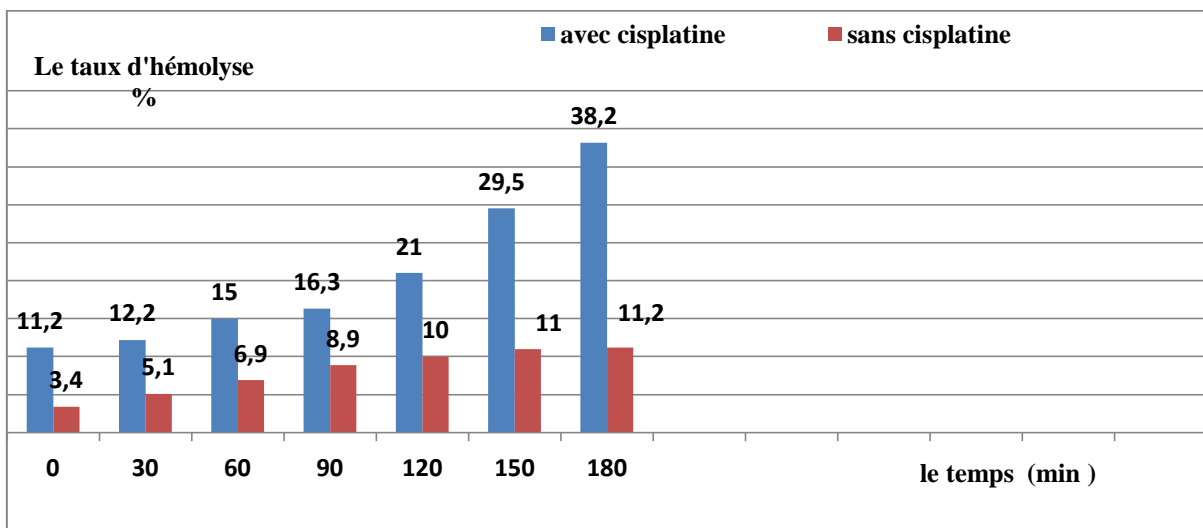


Figure 38 : Histogramme de l'effet du cisplatine sur l'Hb libéré dans le milieu extérieur en fonction du temps

- ✓ A T =0, nous avons remarqué que la concentration d'Hb diffère dans les deux milieux (avec et sans cisplatine).
- ✓ La concentration est plus élevée dans le milieu contenant le cisplatine.
- ✓ Dès la 90ème minutes cette concentration augmente de façon remarquable en présence du cisplatine alors qu'elle reste presque stable dans le 2ème milieu(en absence de cisplatine) au cours du temps.

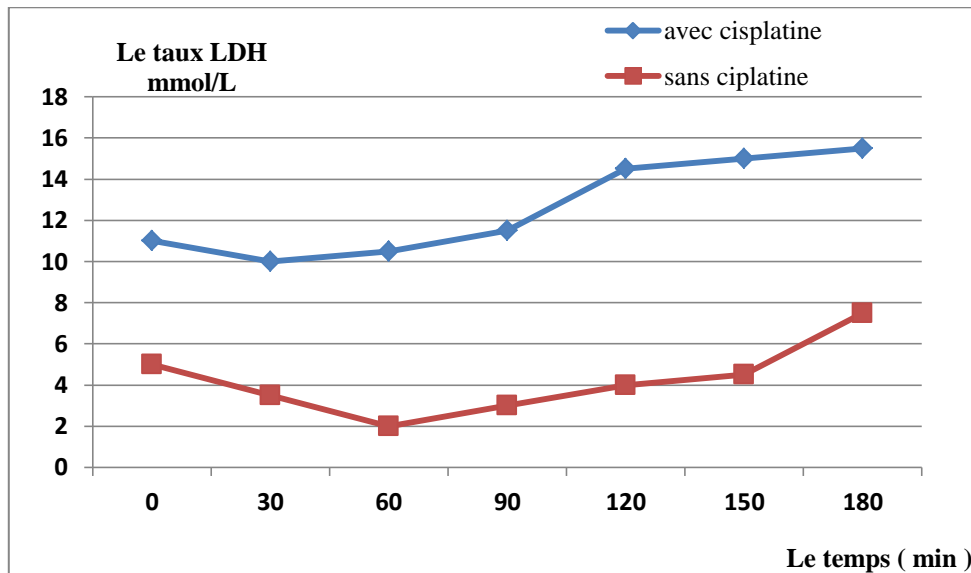


Figure 39 : Effet du cisplatine sur LDH libéré de GR endommagé au cours du temps

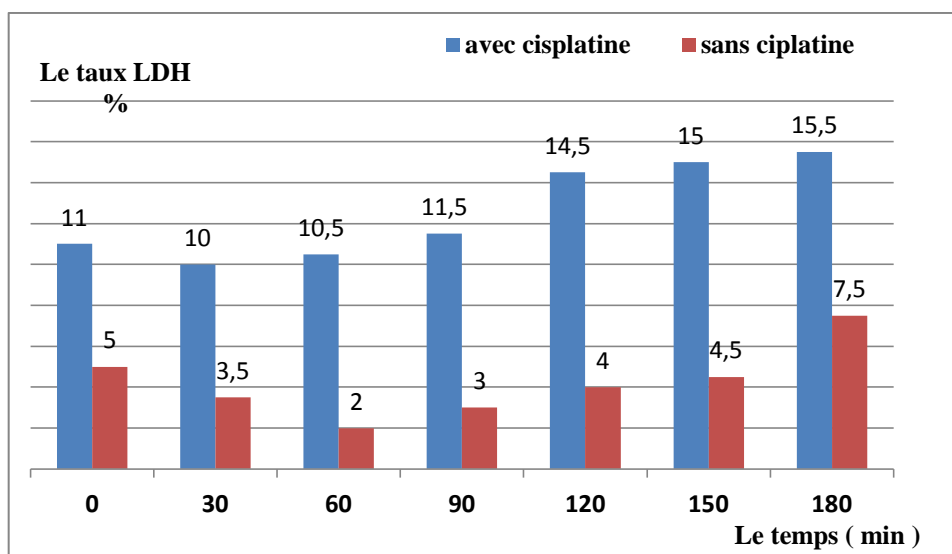


Figure 40 : Histogramme de l'effet du cisplatine sur LDH libéré dans le milieu extracellulaire au cours du temps

Nous avons remarqué que le taux LDH augmente d'une manière plus marquée en présence de cisplatine au cours du temps, alors en absence de cisplatine le taux LDH reste presque stable au cours du temps.

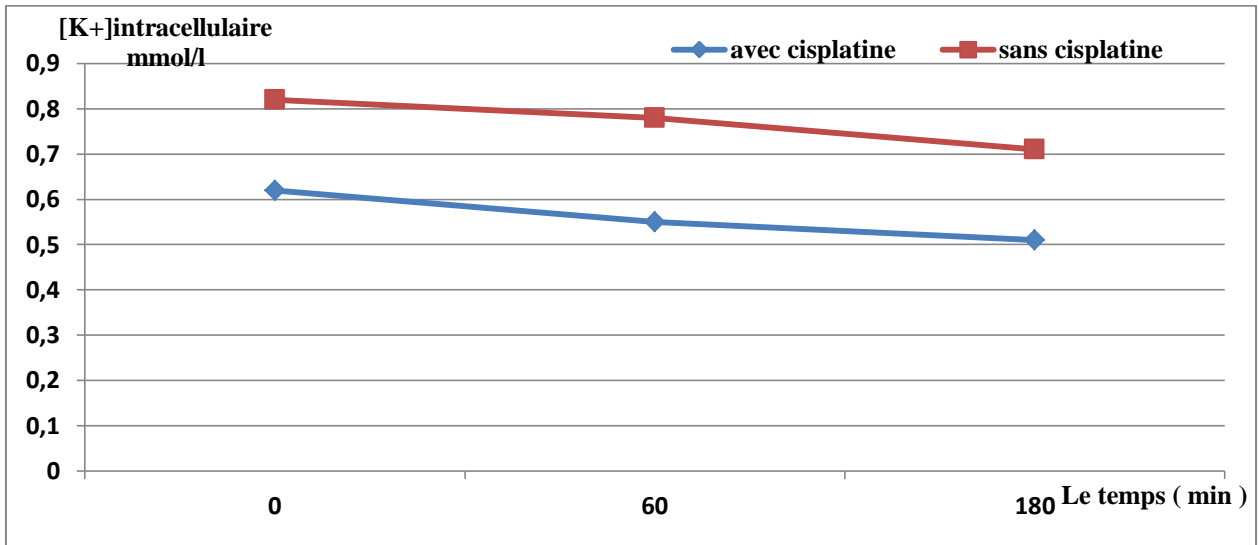


Figure 41: Effet du cisplatine sur la [k+]intracellulaire au cours du temps.

Les concentrations intracellulaires en potassium ont diminué dès la 20ème minute et cette diminution est très remarquable au temps (180 minute) dans l'échantillon avec le Cisplatine.

IV.2. Test 2 : L'effet des différentes concentrations du cisplatine en fonction du temps :

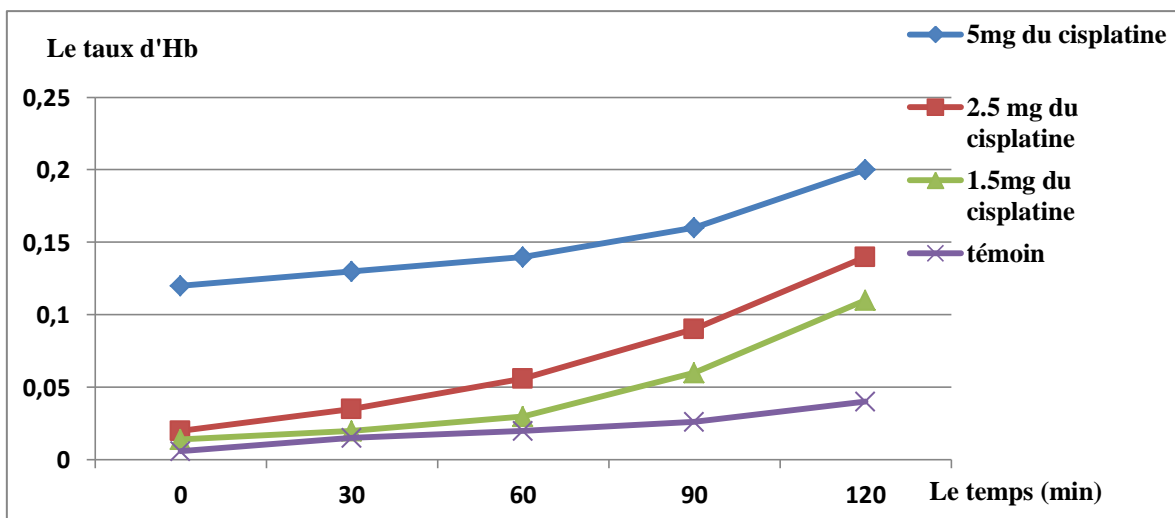


Figure 42 : Effet des différentes concentrations du cisplatine sur [Hb] au cours du temps

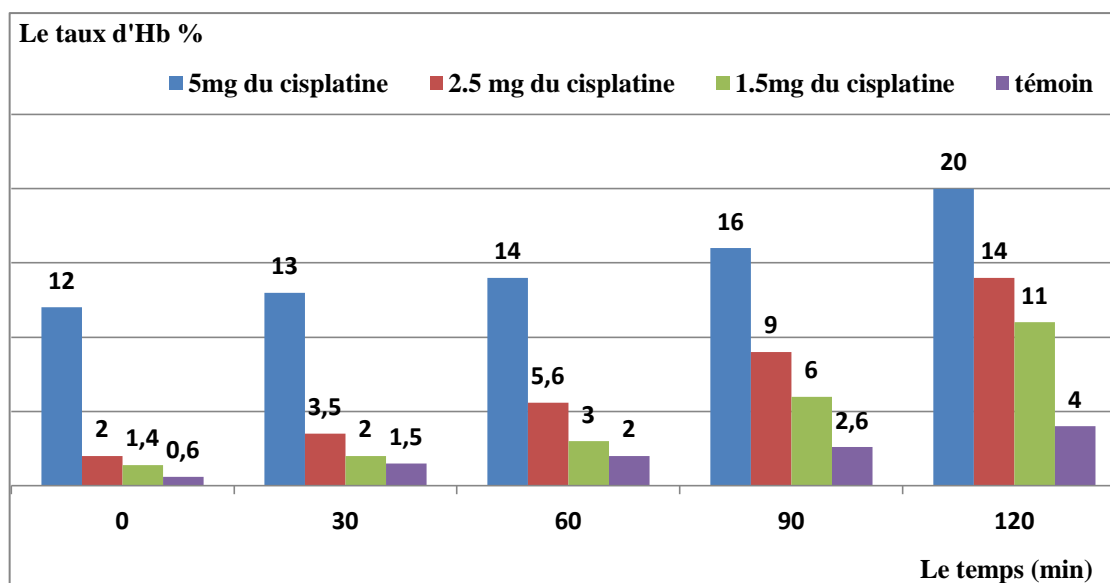


Figure 43 : Histogramme de l'effet des différentes concentrations du cisplatine sur Hb au cours du temps.

L'augmentation du taux d'Hb est proportionnelle à l'augmentation des concentrations du cisplatine au cours du temps car elle est plus élevée à la concentration 5mg.

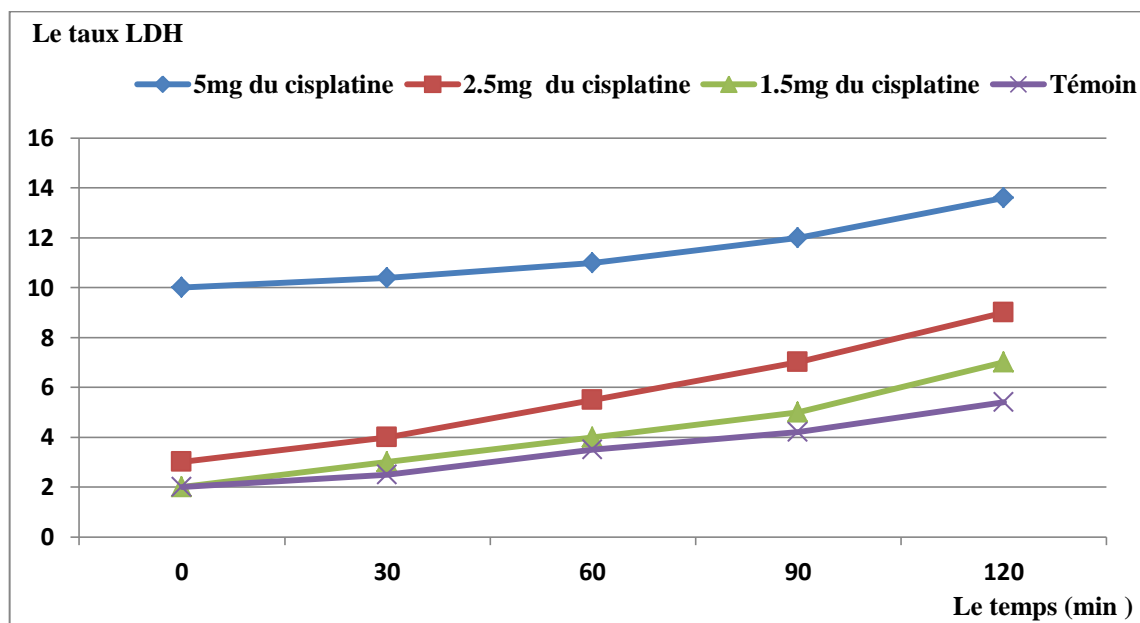


Figure 44 : Effet des différentes concentrations du cisplatine sur le taux de LDH au cours du temps.

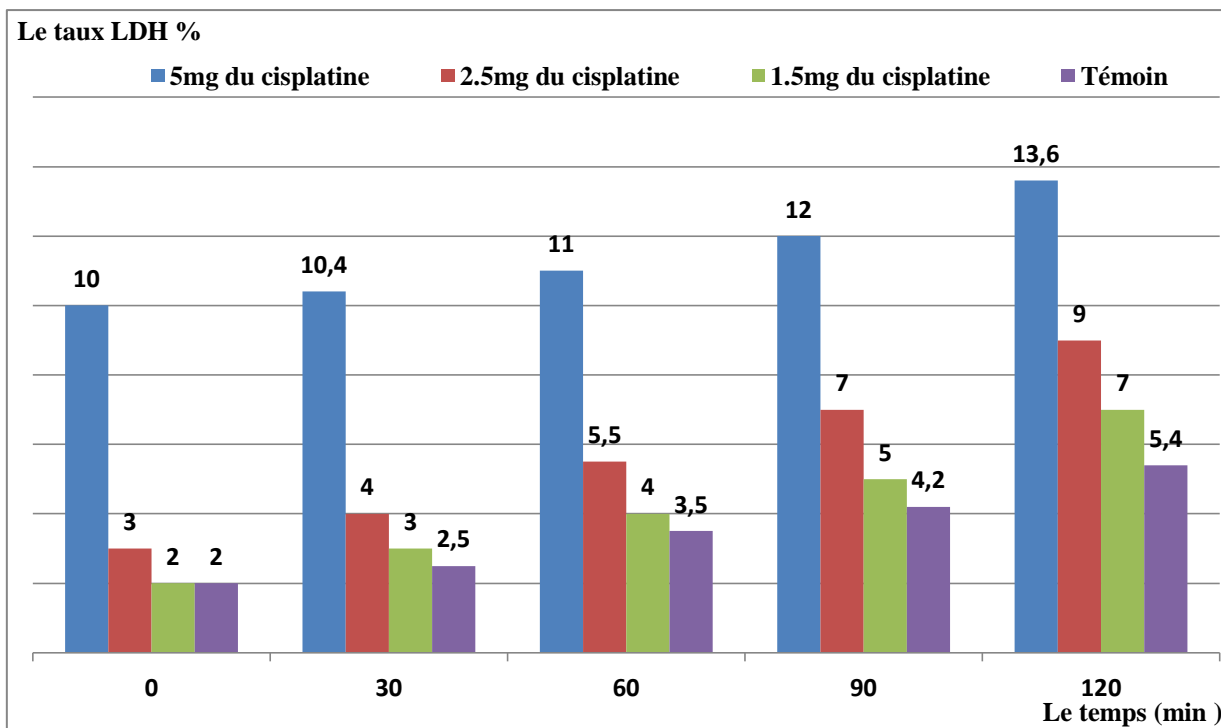


Figure 45 : Histogramme de l'effet des différentes concentrations du cisplatine sur le taux de LDH au cours du temps.

Le taux LDH est plus marqué à pour la concentration 5mg en fonction du temps par rapport le reste des concentrations.

IV.3.Test 3 : L'effet de l'albumine en présence et en absence de cisplatine en fonction du temps :

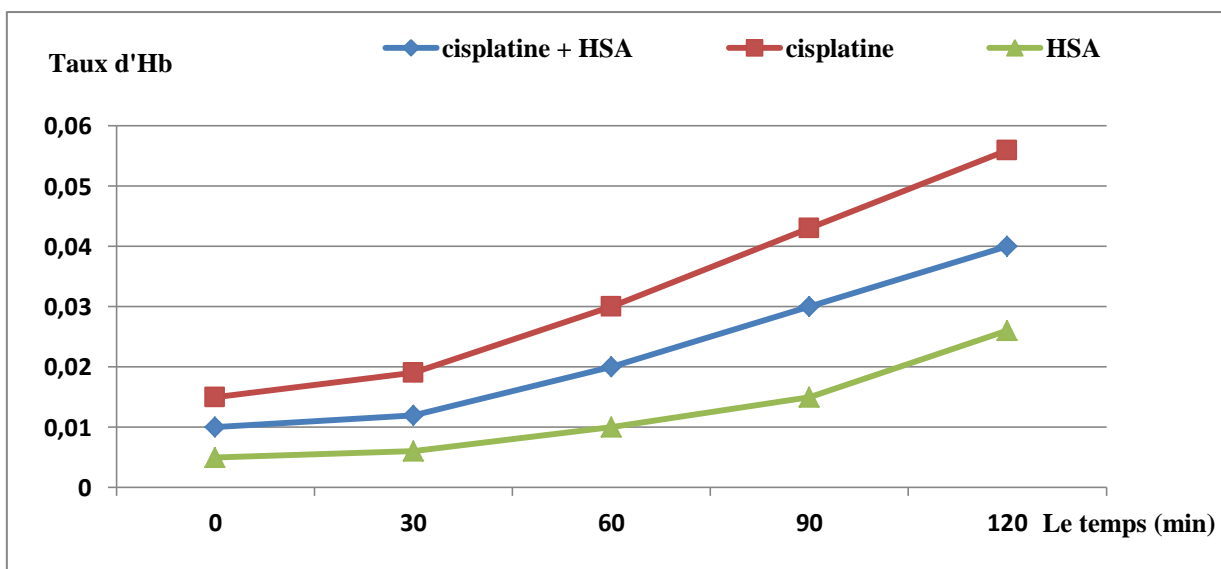


Figure 46: Effet du cisplatine sur [Hb] en présence et en absence de HSA

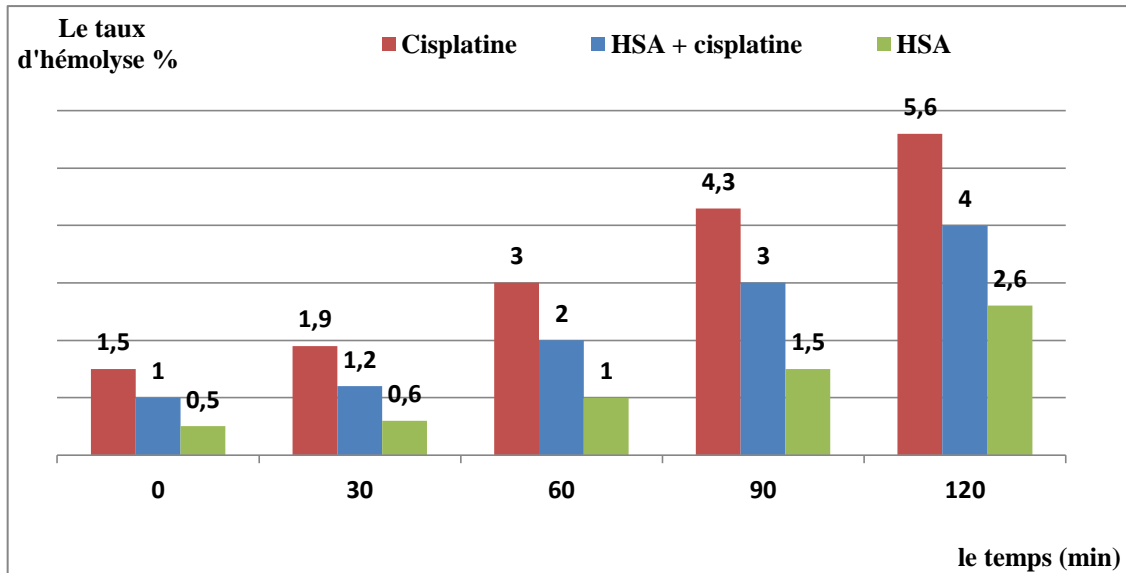


Figure 47 : Histogramme de l'effet du cisplatine sur [Hb] en présence et en absence de HSA au cours du temps .

Nous avons remarqué une augmentation du taux de l'Hb dès la 45^{ème} minute dans les trois milieux (cisplatine seul, HSA seul et cisplatine + HSA) mais cette augmentation est plus importante dans le milieu sans HSA (cisplatine seul) .

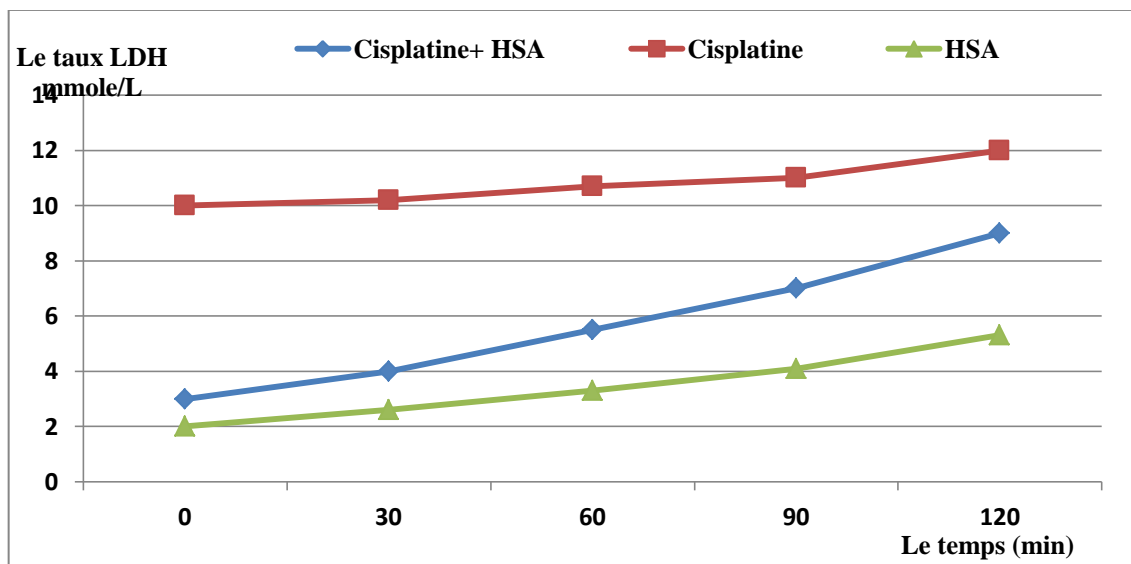


Figure 48 : Effet du cisplatine sur le taux de LDH en présence et en absence de HSA au cours de temps.

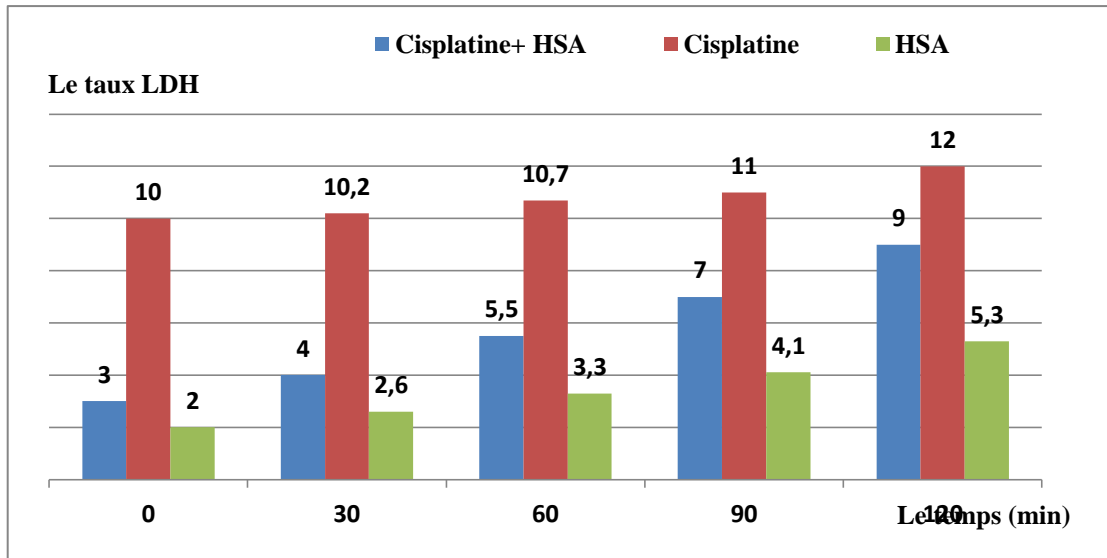


Figure 49 : Histogramme de : l'effet du cisplatine sur le taux de LDH en présence et en absence de HSA au cours du temps

Le taux LDH augmente dans les trois milieux (Cisplatine seul, HSA seul et cisplatine + HSA), cette augmentation est très faible en présence d'HSA seul, par contre elle est plus élevée en présence d'HSA et le cisplatine (à T = 90 minute) mais cette augmentation reste moins remarquable par rapport au milieu contenant le cisplatine seul .

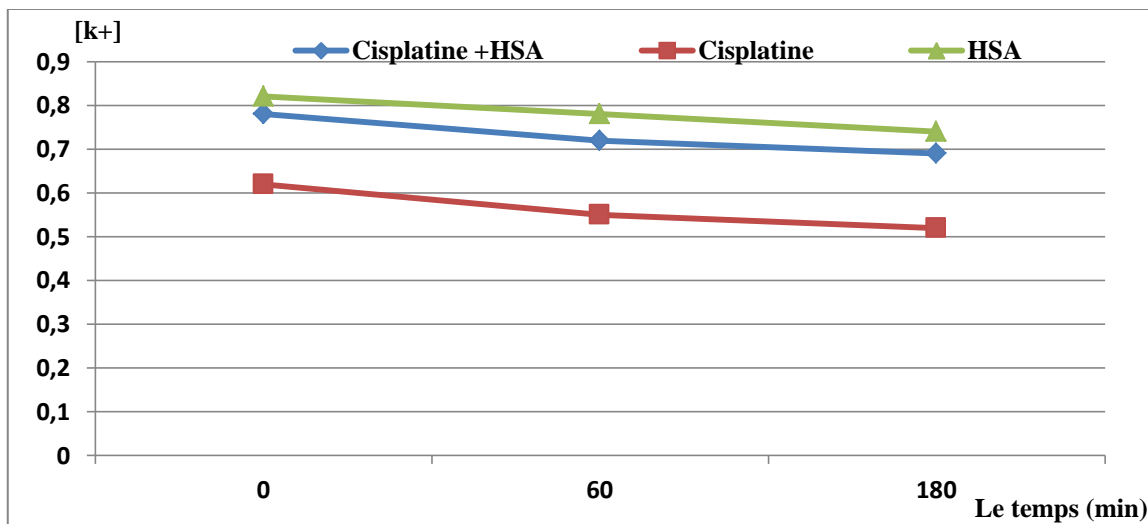


Figure 50 : Effet du cisplatine sur la [k+] en présence et en absence de HSA

La sortie de potassium est plus importante dans le milieu sans HSA (cisplatine seul) dès la 30^e minute.

IV.4. Test 4 : L'effet de l'albumine à différentes concentrations : 10g, 5g, 2.5g, 1.25g sur la toxicité de cisplatine au cours du temps

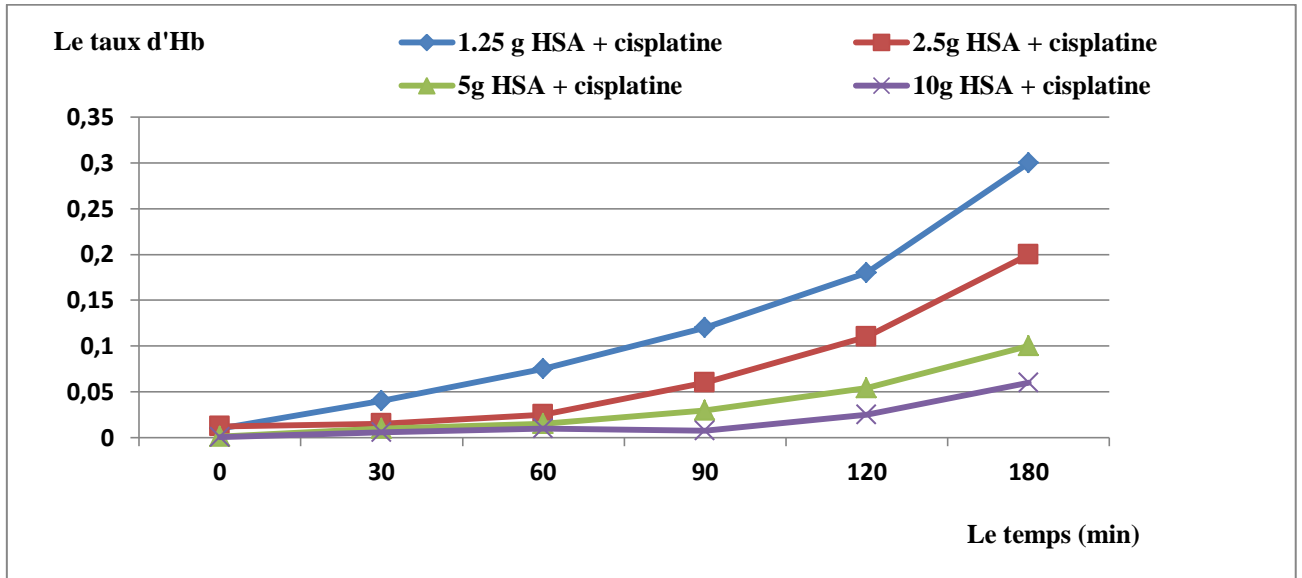


Figure 51 : Effet des concentrations de HSA sur l'Hb en présence de cisplatine au cours du temps

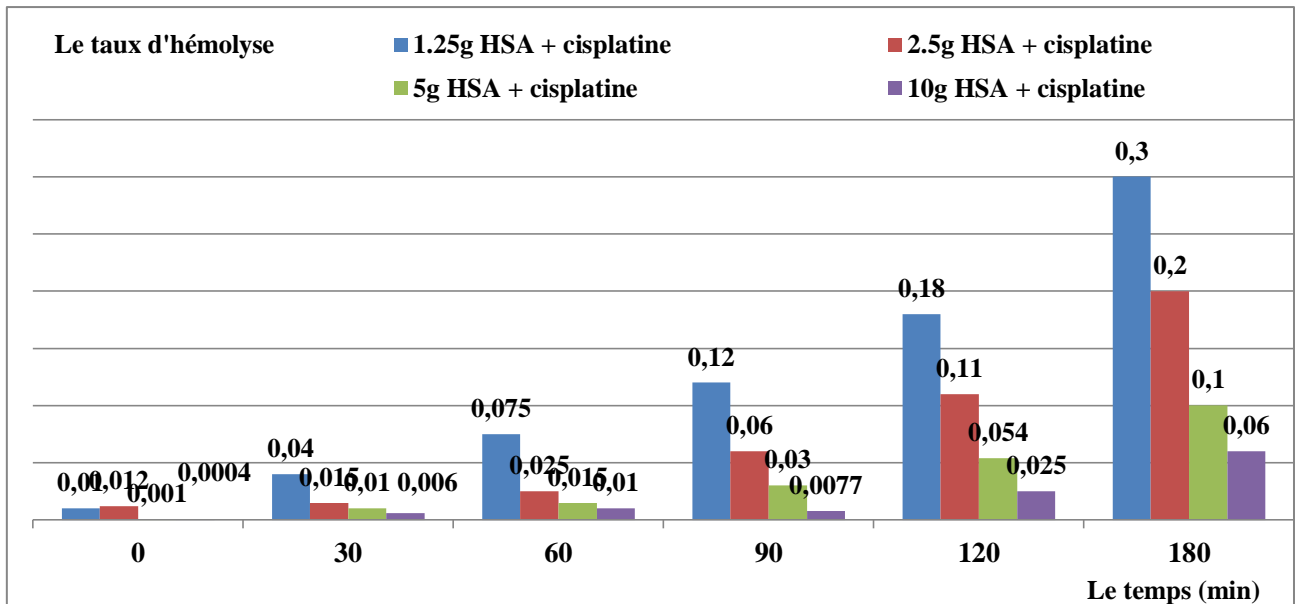


Figure 52 : Histogramme de l'effet des concentrations de HSA sur l'Hb en présence de cisplatine au cours du temps.

Nos avons remarqué que le taux d'Hb augmente au cours du temps à différentes concentrations d'HSA, elle est plus élevée pour la concentration 1.25 g, alors qu'elle est plus faible pour la concentration 10g.

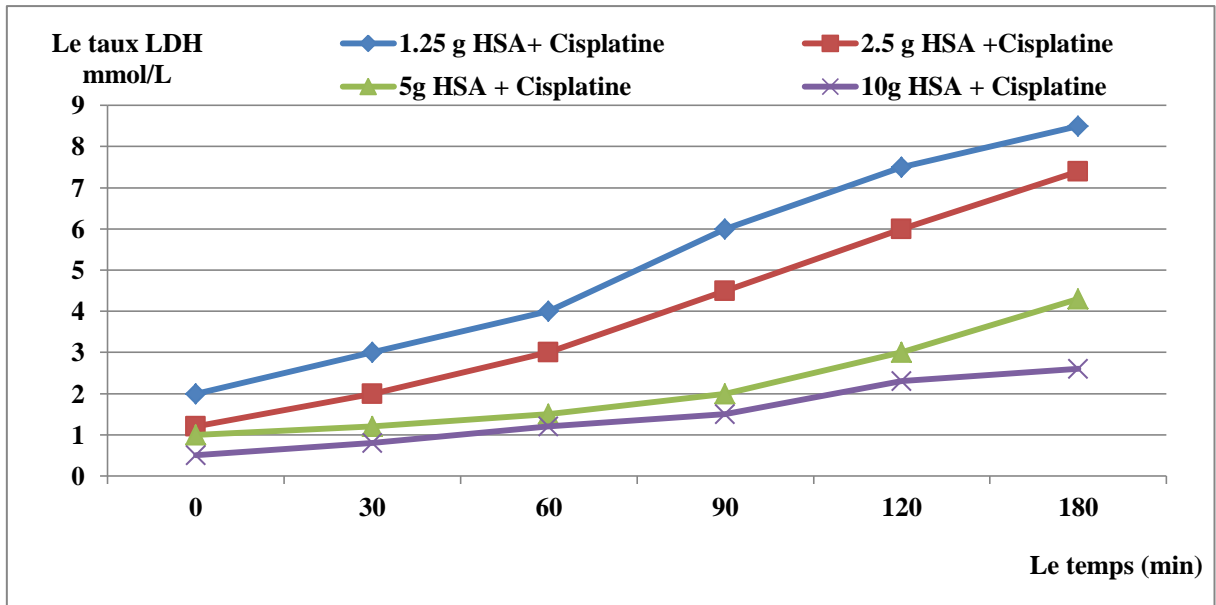


Figure 53: Effet du cisplatine sur le taux LDH en présence de différentes concentrations de HSA

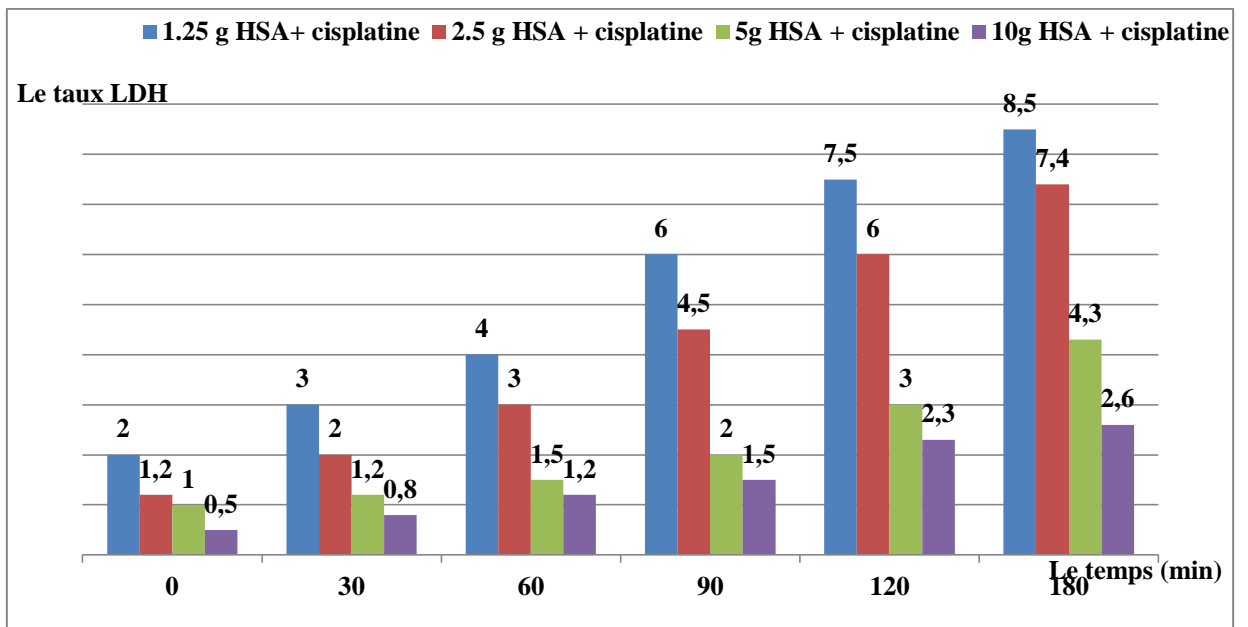


Figure 54 : Histogramme de : l'effet du cisplatine sur le taux LDH en présence de différentes concentrations de HSA

Le taux LDH augmente à pour la concentration (10g) v = 5ml d'une manière plus faible par rapport aux autres concentrations d'HSA.

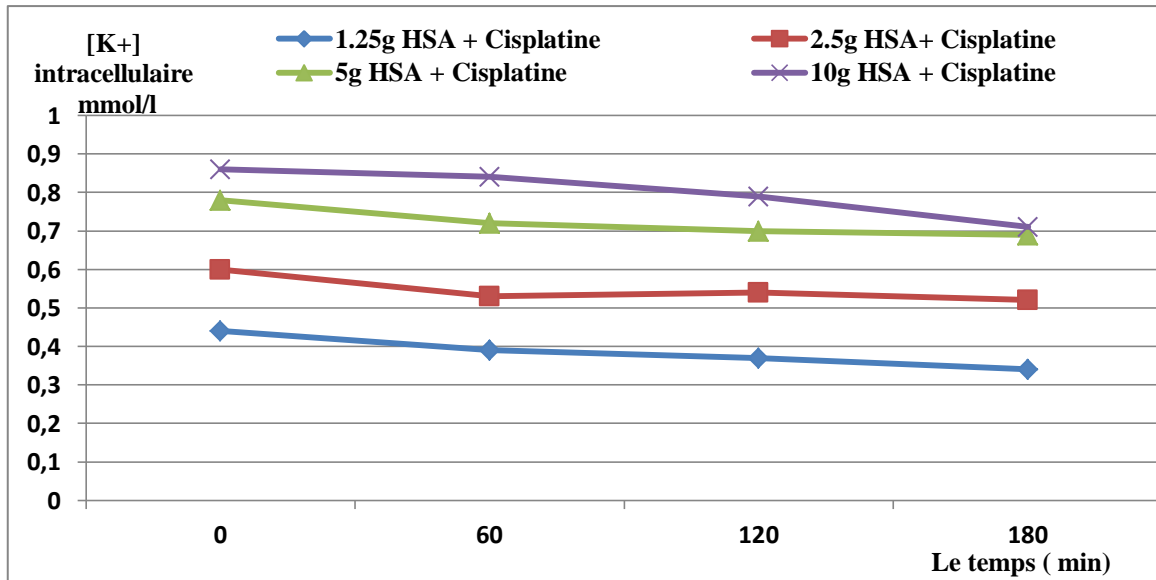


Figure 55: Effet du cisplatine sur la [K+] en présence de différentes doses de HSA

La diminution du potassium intracellulaire est moins marquée à la concentration 10g par rapport aux autres concentrations d' HSA.

IV.5. Test 5 : les préincubations

Comparaison entre la préincubation de Cisplatine avec l'albumine et celle de Cisplatine avec les cellules :

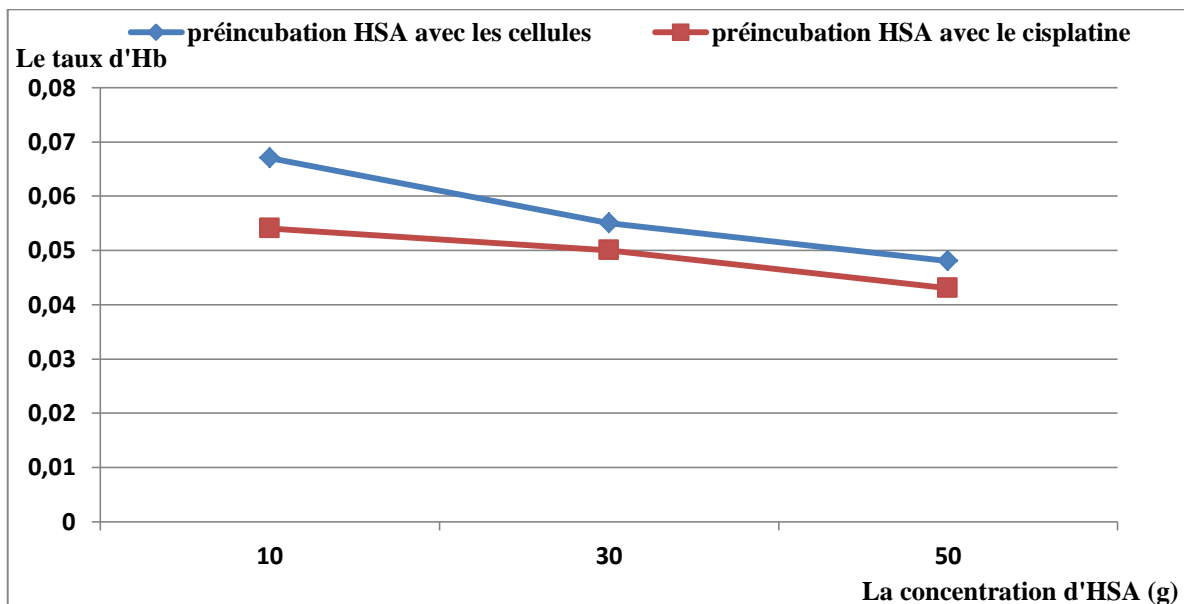


Figure 56: Comparaison de taux d'Hb entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0.

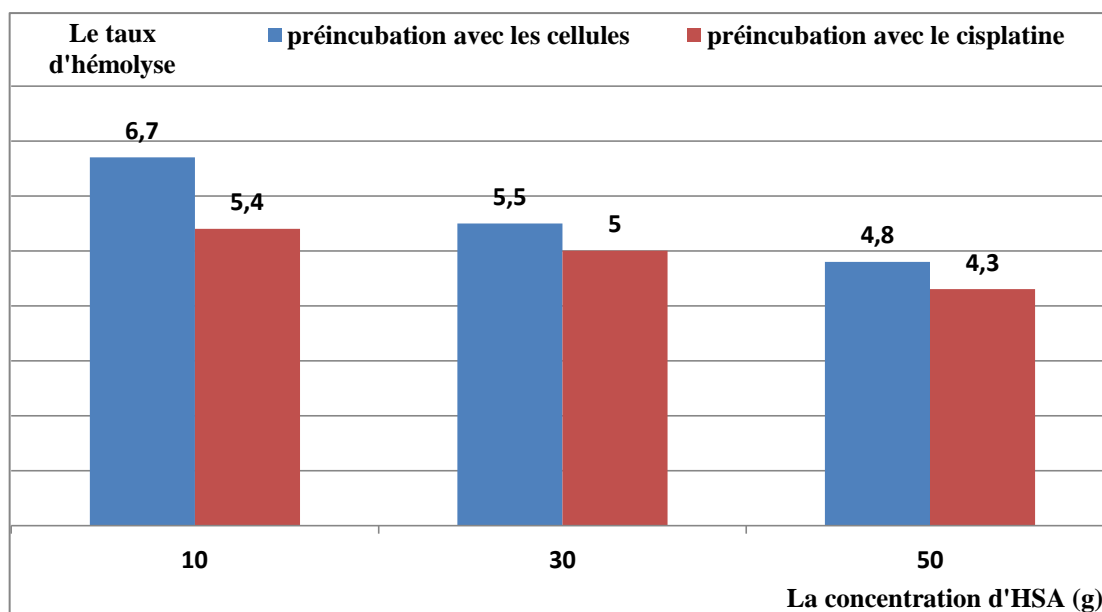


Figure 57 : Histogramme de comparaison du taux d'Hb entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0.

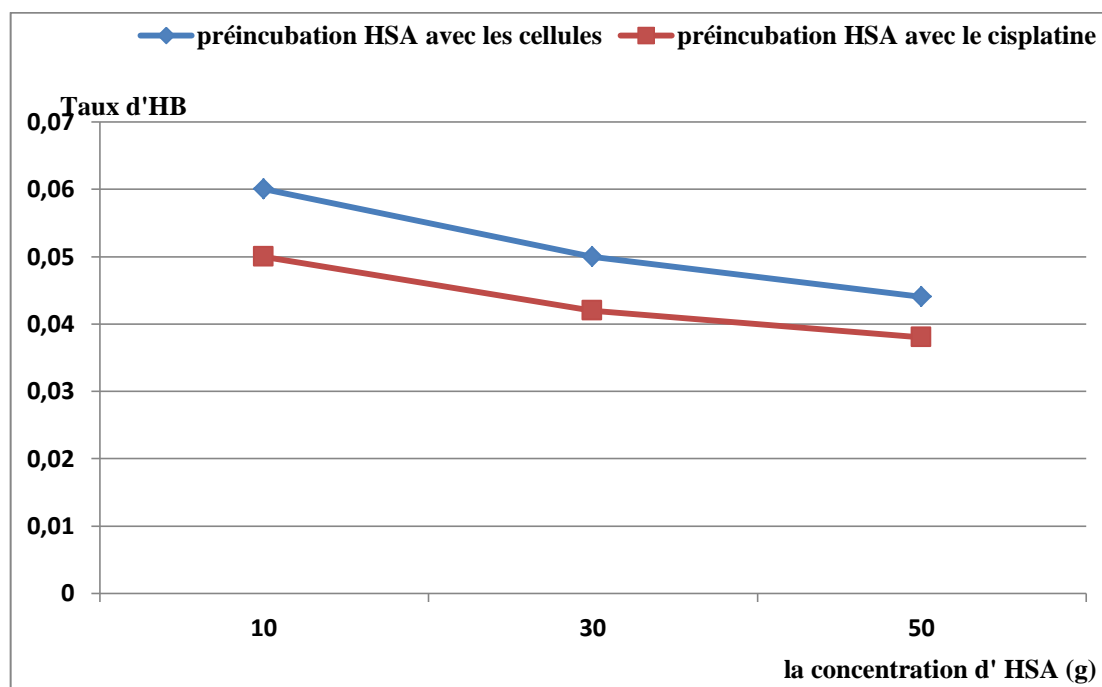


Figure 58: Comparaison de taux d'HB entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 60 min

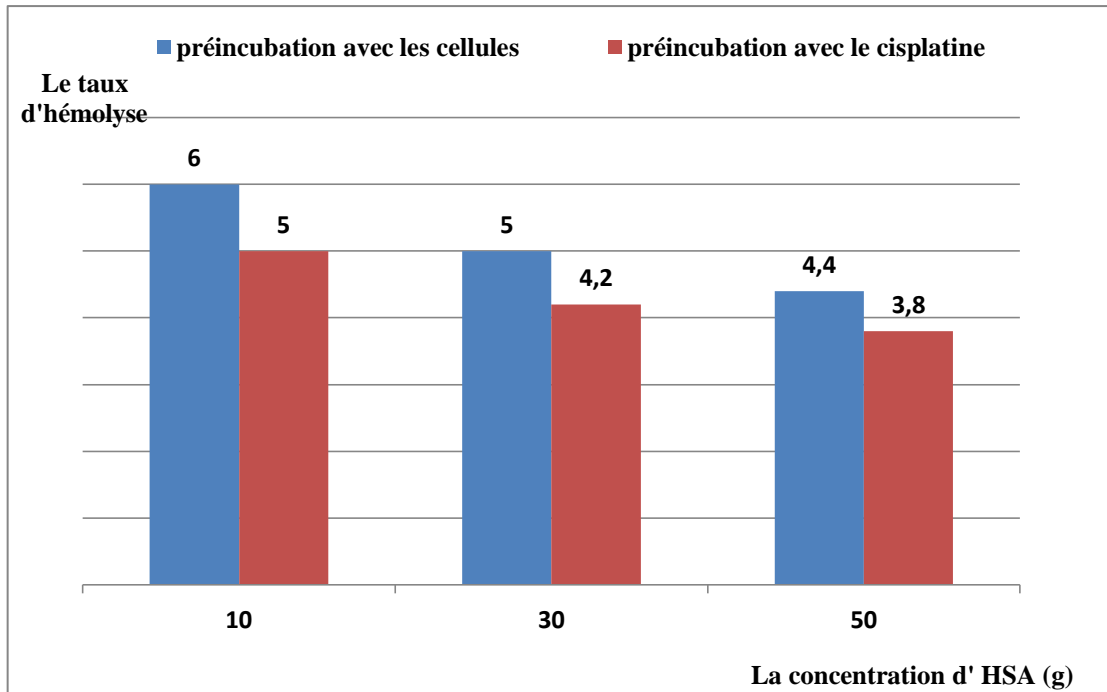


Figure 59 : Histogramme de la comparaison de taux d'HB entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 60 min

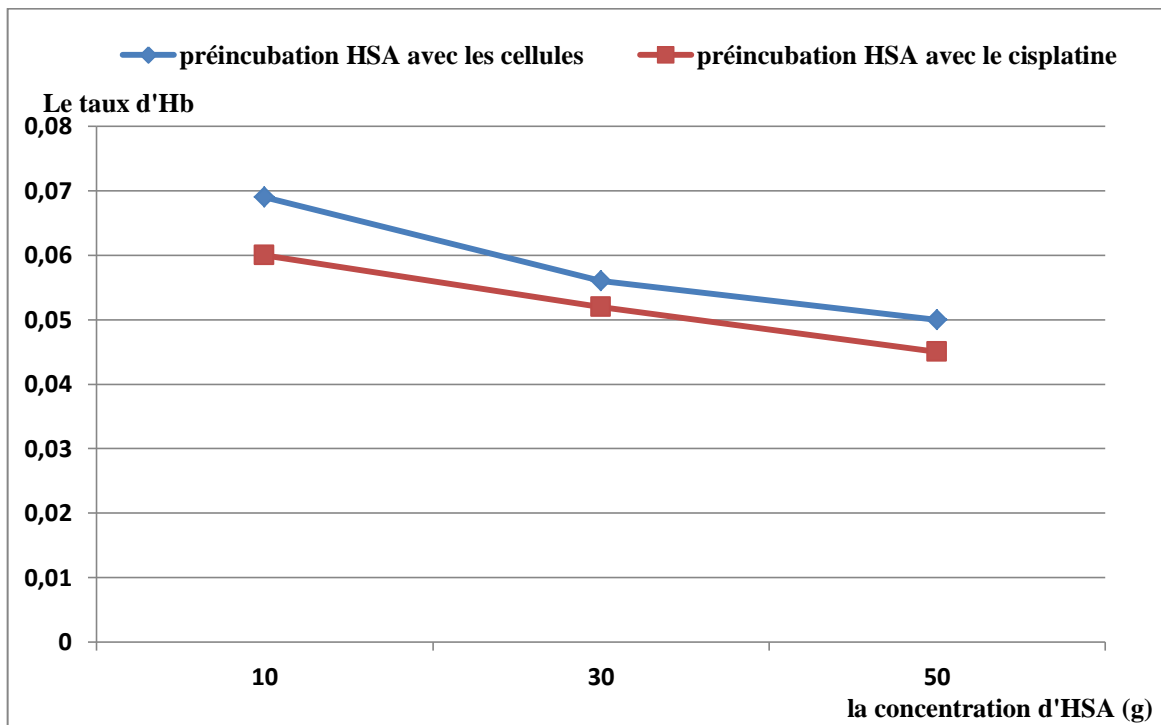


Figure 60: Comparaison de taux d'HB entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 120 min

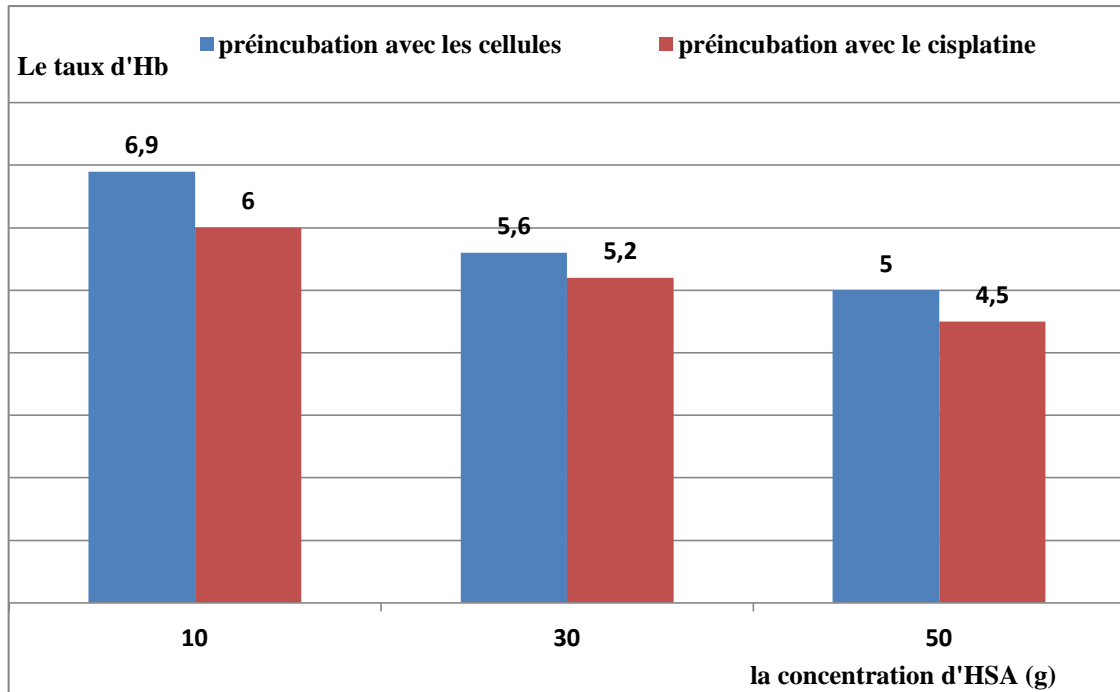


Figure 61 : Histogramme de la comparaison du taux d'Hb entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 120 min

Il y'a effectivement une fuite de l'Hb dans les deux milieux mais l'effet protecteur est plus marqué lorsque il y'a la préincubation de HSA avec le cisplatine.

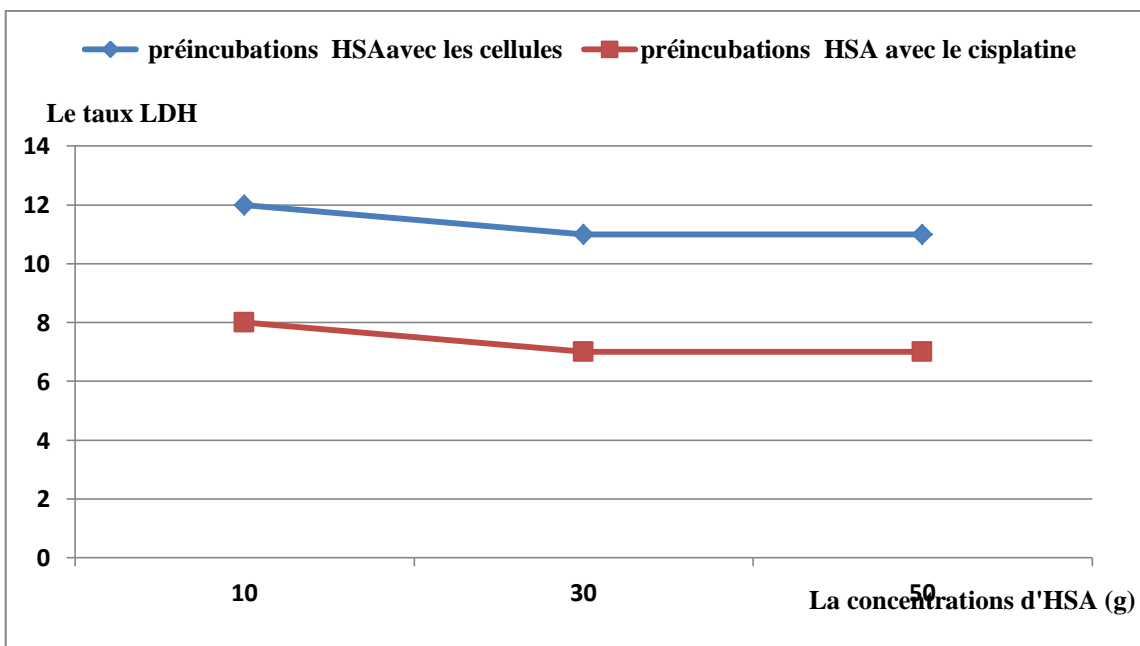


Figure 62 : Comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0.

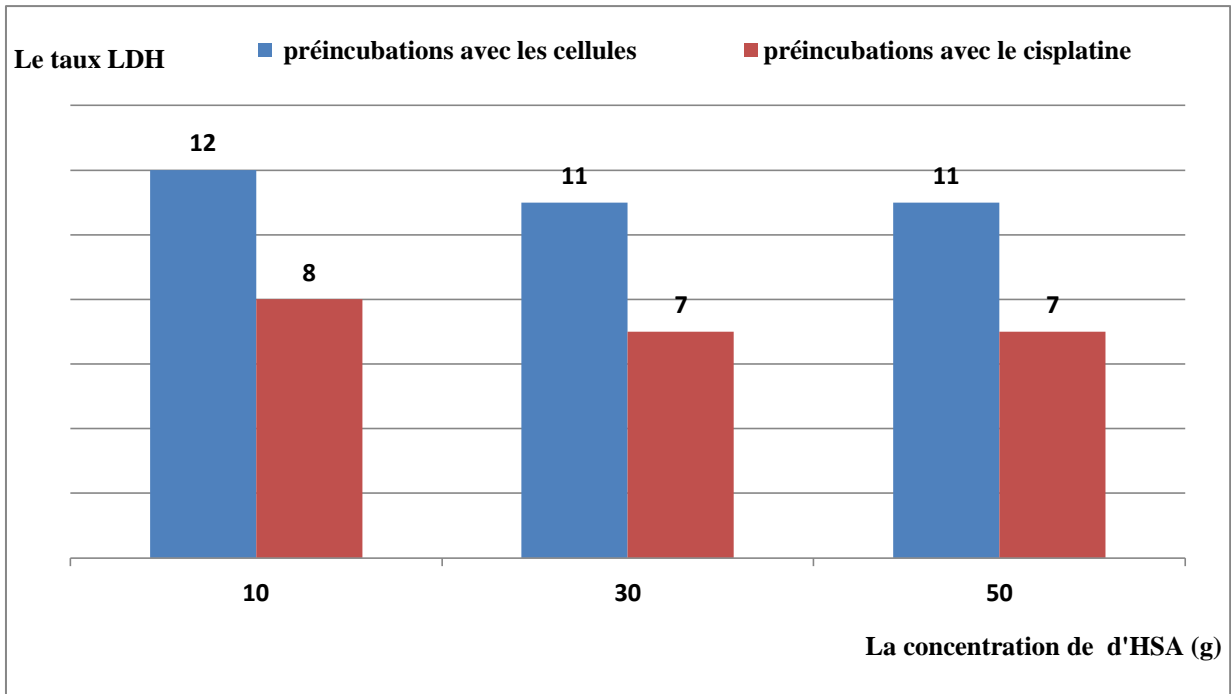


Figure 63 : Histogramme de la comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0.

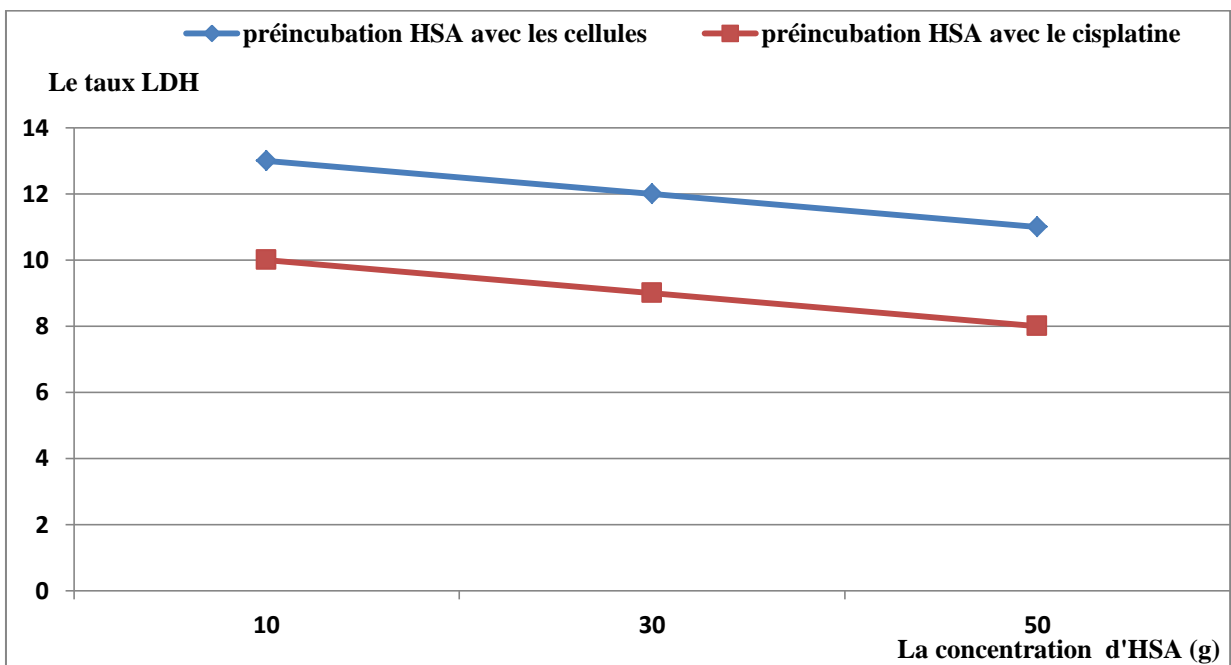


Figure 64 : Comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 60min.

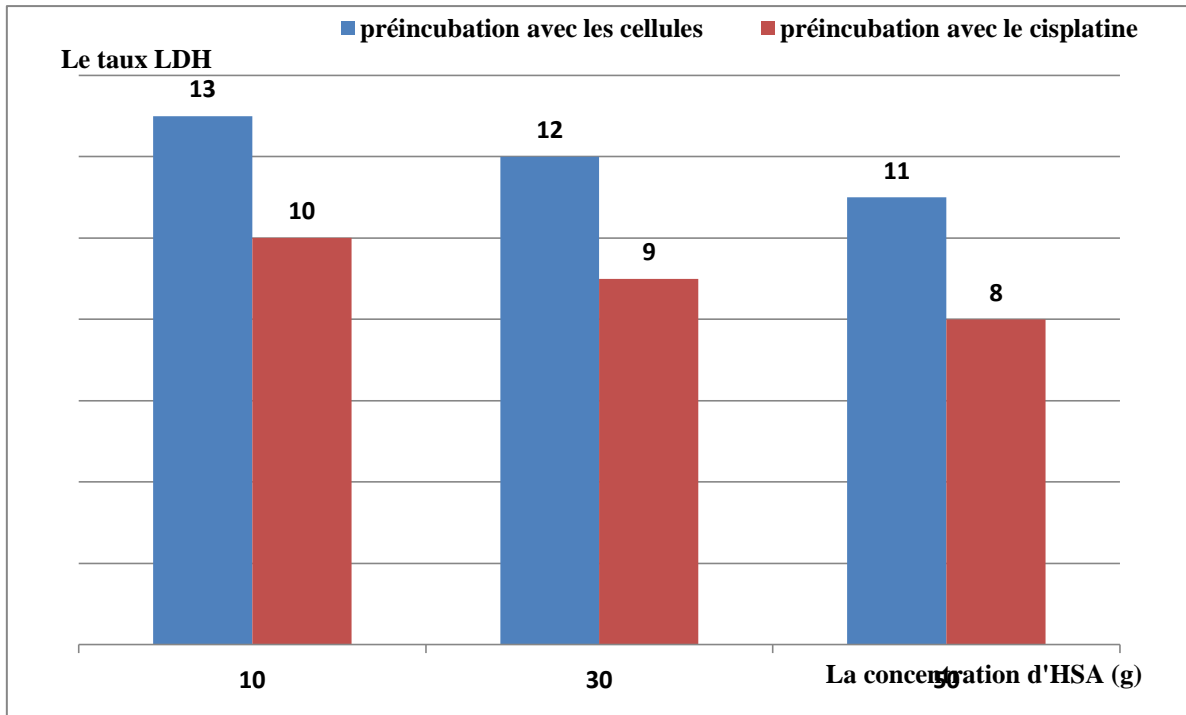


Figure 65 : Histogramme de de la comparaison de taux LDH entre les deux préincubations à différentes concentrations à T = 0.

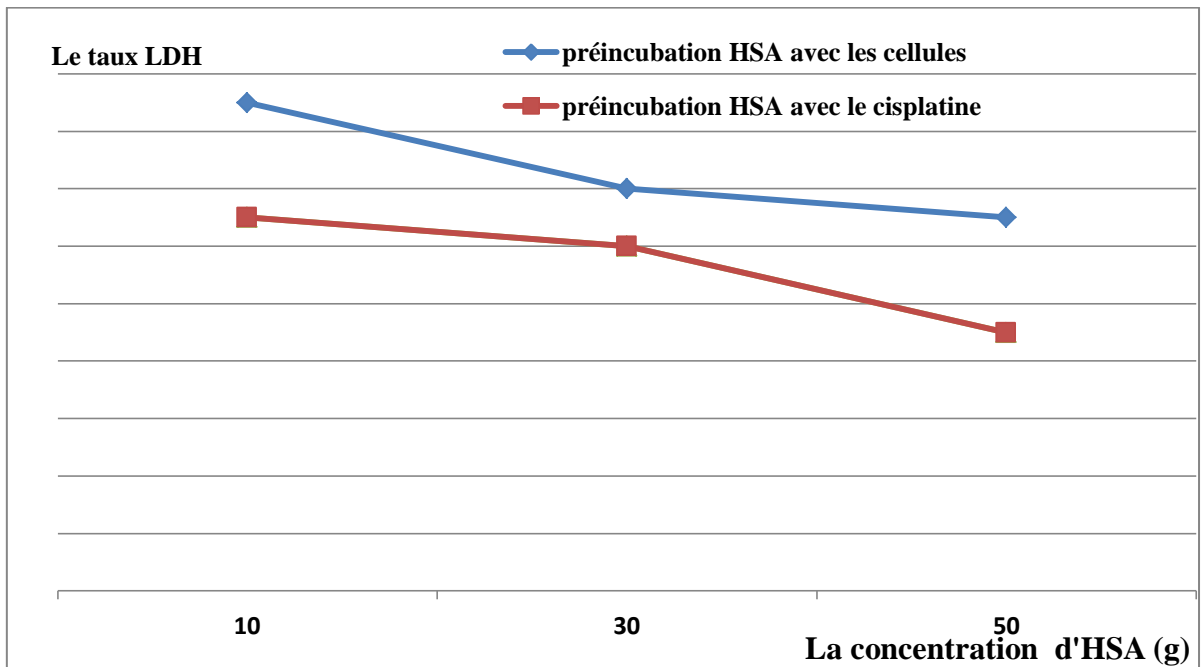


Figure 66 : Comparaison de taux LDH entre les deux pré incubations à différentes concentrations à T = 120 min.

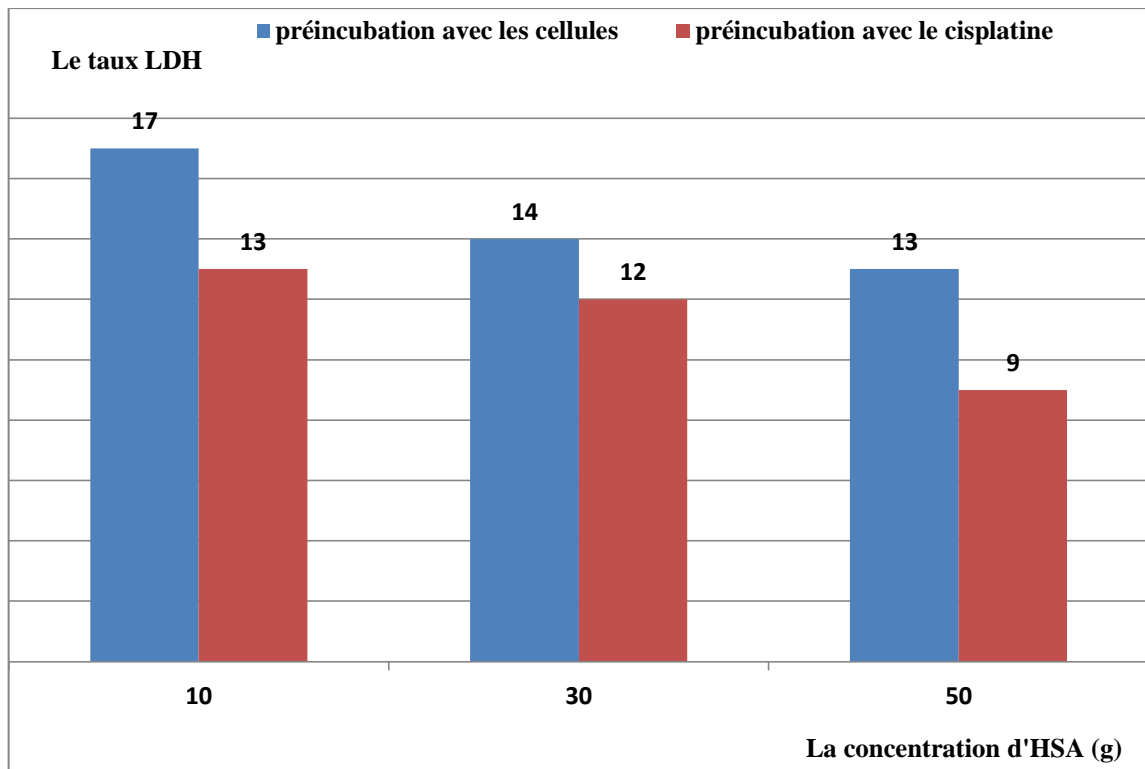


Figure 67 : Histogramme de la comparaison de taux LDH entre les deux pré incubations à différentes concentrations à T = 120 min.

Il est diminué dans les deux milieux mais la diminution est plus importante ou il y'a la pré incubation de HSA et le cisplatine.

Discussion

Discussion

Le travail fait au sein du service de biochimie CHU Tlemcen a été confronté à des contraintes, notamment :

- La non disponibilité d'ionogramme au sein de service de biochimie.
- Une telle étude nécessite un approfondissement et une réalisation in vivo.

A partir des données de ce travail ; l'effet d'HSA sur la toxicité de cisplatine . les points importants suivants se dégagent :

a- Le cisplatine a un effet d'une part sur la perméabilité de potassium de globule rouge d'autre part induit un effet hémolytique non négligeable , plus de 35% d'hémolyse sont obtenus après 180 minutes d'incubation a température ambiante en présence d'une concentration de 5mg . cet effet d'hémolyse est visualisé aussi bien par la libération d'Hb que celle de LDH.

-cet effet hémolytique direct de cisplatine est très peu rapporté dans la littérature ; peu de cas de syndrome hémolytique et urémique ont été rapporté.

Ce qui habituellement rapporté ; ce sont les cas d'anémie par effet myélosuppresseur ou par un effet direct sur la production tubulaire rénale de l'érythropoïétine depuis plusieurs années .

L'induction des perturbations membranaire de globule rouge par le cisplatine est concentrations dépendantes en effet (figures 43 ; 44 ; 45) on constate une augmentation de l'effet toxique de cisplatine lorsqu'on fait varié la concentration de cette drogue (1.5 à 5mg)

b- L'addition de la sérum albumine humaine à la concentration 5 g réduit la fuite de potassium et l'hémolyse .

c- La réduction de la toxicité de cisplatine par la sérum albuine humaine est concentration dépendante en effet comme indique les figures 51 ; 53 à 120 minutes d'incubation l'hémolyse.

d- Enfin on préincubant 15minutes de cisplatine avec HSA avant l'addition de globule rouge on obtient une réduction significaiive de l'effet hémolytique induit par le cisplatine.

Cette observation attire l'attention sur le mode de préparation de la solution de cisplatine à injecter aux patients .

Il serait en effet plus judicieux d'envisager de préincuber le cisplatine avec HSA avant de l'injecter aux malades.

Concernant le mécanisme proprement dit la réduction de la toxicité de cisplatine par HSA , la question qui se pose est de savoir si l'effet protecteur de HSA est due à un simple fait de fixation de cisplatine sur la protéine et donc est lié à une réduction de la quantité de « cisplatine libre » qui aggraverait alors le globule rouge ou si HSA a un effet protecteur par action antioxydant «action habituellement reconnue à cette protéine » ou si les deux mécanismes sont impliqués en même temps .

Dans ce dernier cas il s'agirait alors de déterminer la part de ce qui revient à chacun de ce deux mécanismes.

-une autre remarque notable c'est l'importance de la fuite immédiate de potassium induite par l'addition de cisplatine ; ce résultat doit attirer notre attention sur un suivi précoce de l'ionogramme sanguin et de la kaliémie en particulier .

A partir des données de ce travail ; l'effet de l'albumine sur la toxicité de cisplatine

Conclusion

Conclusion

Le cisplatine conserve une place essentielle en chimiothérapie anticancéreuse, son domaine d'activité est vaste, il est principalement employé pour traiter les cancers de la vessie, les ovaires et des testicules ; il est prescrit seul ou en association avec d'autres médicaments antinéoplasiques mais son importante toxicité pour l'organisme limite son utilisation.

D'après notre étude nous avons essayé de diminuer les effets toxiques de cisplatine en administrant l'albumine pour ces propriétés antioxydants.

Après plusieurs tests réalisés in vitro, on a remarqué que vraiment l'albumine a un effet protecteur contre la lyse membranaire due au cisplatine.

Selon les résultats, nous avons remarqué qu'il y a une réduction de la toxicité de le cisplatine sur les globules rouge, en présence du sérum albumine humaine, d'une part par la diminution de la fuite de K^+ intracellulaire et d'autre part par la diminution de taux d'hémolyse.

Ces résultats montrent clairement la nécessité de poursuivre les travaux sur l'effet antioxydant du sérum albumine humaine sur la toxicité du cisplatine dans l'espoir d'aller en une amélioration de l'index thérapeutique et élaborer d'une nouvelle formulation du cisplatine.

Bibliographie

Bibliographie

1. De Mestier P. and Des Guetz G., T.o.g.s., et al.
2. Moen M. D., M.K., Plosker G. L., and Siddiqui M. A, Imatinib: a , p.-. review of its use in chronic myeloid leukaemia. Drugs, and 320.
3. Lacave et al.
4. Novotny L. and Szekeres T., C.t.n.t.f.c.a.p.-H.
5. Vicente-Dueñas, C., et al., *Epigenetic Priming in Cancer Initiation*. Trends in Cancer, 2018. **4**(6): p. 408-417.
6. Bernades-Genisson V, B.J., Berque-Bestel I, Brion JD, Couquelet J, Cussac M, Debert M., et al.
7. Armand JP, B.J., Le Bourgeois JP, Martin J, Robert J. (2006) Dictionnaire des cancer. Editions and F.-R.P. 115.
8. 38(5):392-402., R.H.E.o.l.l.r.-w.s.n.S.N.M.
9. Drouillard, A., et al., *Épidémiologie du cancer du pancréas*. Bulletin du Cancer, 2018. **105**(1): p. 63-69.
10. Locatelli-Sanchez, M., S. Couraud, and P.J. Souquet, *Épidémiologie du cancer bronchique : données actuelles*. Revue des Maladies Respiratoires Actualités, 2015. **7**(4): p. 285-289.
11. Scherpereel, A., *Amiante et pathologie respiratoire* La Presse Médicale, 2016. **45**(1): p.117-132.
12. Jardel, P., et al., *Radiothérapie des cancers du sein inflammatoires*. Bulletin du Cancer, 2018.
13. Hurmuzlu M, A.H., Aarstad AK, Hjermstad MJ, Viste A. (2010) Health-related quality of life in, l.-t.s.a.h.-d.c.f.b.s.i.e.c. Dis, and Esophagus.
14. Bhide SA, N.C.R.a.i.r.B.M.. 4:67-80, M.J.T.i.c.i.C.M.I.O.
16. Jaillais, A., et al., *Hépatite B : dépistage et traitement en oncologie*. Bulletin du Cancer, 2018. **105**(2): p. 162-170.
17. Merceron et al.
18. Faure et al.
19. Burotto et al.20.(NCS, M.C.T.o.a.b.c.w.c.-D.I. and A.p.s.J.U. 119:493-495.
21. Moncharmont, C., et al., *Cisplatine ou carboplatine, telle est la question*. Bulletin du Cancer, 2011. **98**(2): p. 164-175.
22. Rosenberg B (1978) Platinum complex-DNA interactions and anticancer activity; Biochimie and 859-867.
23. Rosenberg B, C.L.a.K.T.I.o.c.d.o.E.c.b. and electrolysis products from platinum electrode; Nature, 698-699.

24. Rancoule, C., et al., *Les 50 ans du cisplatine*. Bulletin du Cancer, 2017. **104**(2): p. 167-176.
25. Ben Kridis, W., et al., *Ostéomalacie secondaire au cisplatine : un diagnostic difficile*. Médecine Nucléaire, 2013. **37**(9): p. 401-404.
26. https://www.google.com/search?q=structure+de+cisplatine&client=firefox-b&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjb86Gm5rrbAhUIVBQKHVnkCs8Q_AUI CigB#imgrc=HsTUFxOmK2jzHM:
27. Higby, D.J.e.a.D.i.t.c.o.t.t.J. and U. 100-104.
28. Hospira Healthcare Corporation, P.M., Cisplatin Injection BP – June 5, 2007.
29. Borchiellini, D., et al., *Facteurs prédictifs pour la survie après radiothérapie bifractionnée avec ou sans cisplatine et 5-fluoro-uracile (essai BiRCF) pour cancer pharyngé non résecable*. Cancer/Radiothérapie, 2010. **14**(6): p. 663-664.
30. Sahli, B., et al., *Chimiothérapie première par docétaxel, cisplatine et 5-fluoro-uracile (TPF) suivie de chimioradiothérapie concomitante dans le traitement des carcinomes indifférenciés localement évolués non métastatiques du cavum*. Cancer/Radiothérapie, 2009. **13**(6): p. 677.
31. Pasteur, J., et al., *Hypersensibilité immédiate au carboplatine ou à l'oxaliplatine : réintroduction du cisplatine sans tests cutané ?* Revue Française d'Allergologie, 2017. **57**(3): p. 251. 2013., v.
33. Wang D, L.S.C.p.o.p.a.d.N.R.D.D. and 4(4):307-20.
34. https://www.google.com/search?q=structure+de+cisplatine&client=firefox-b&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjb86Gm5rrbAhUIVBQKHVnkCs8Q_AUI CigB#imgrc=eSjO_IV4ozxAkM:
35. Jamieson ER and Lippard SJ (1999) Structure, r.a.p.o.c.-D. and Adducts; Chem Rev, 2467-2498.
36. ou, B.F.A.d.c.q.c.f.p.l.p.I.e.I., t. palladium (II) avec deux médicaments de la famille des biguanides (metformine et proguanil), and d.l.U.P. XI.
37. Scott J and Bradbury R (1994) Pharmacokinetic dosing of carboplatin; Fla J Hosp Pharm, 17-18.
38. Coste F, M.J.-M., Serre L, Shepard W, Roth M, Leng M and Zelwer C (1999) Crystal, s.o.a.d.-s.D.c.a.c.i.c.-l.a. 1.63Å, and resolution: hydratation at theplatinated site; Nucleic Acid Res, 1837-1846.
39. Cisplatine A2 - Sabbah, Laurent, in *Méga Guide STAGES IFSI (2e édition)*. 2015, Elsevier Masson: Paris. p. 157-158.
40. Alexandre, J., et al., 39 - Cisplatine, in *Le tout en un révisions IFSI*. 2009, Elsevier Masson: Paris. p. 151-152.
41. Legendre F, B.V., Kozelka J, Chottard JC. (2000) A complete kinetic study of GG versus AG, p.s.t.t.d.a.d.o.c.a.t.a.D. binding, and s.C. 6(11):2002-10.

42. https://www.google.com/search?q=structure+de+cisplatine&client=firefox-b&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjB86Gm5rrbAhUIVBQKHVnkCs8Q_AUI CigB#imgrc=hoq3KaoBGKCCAM:
43. Chemo, F.F.e.a.C.a.a.r.P.I.C. and P. 1971;2:827-828.
44. Einhorn, L.H., and Donahue, J.P. Improved chemotherapy in disseminated testicular cancer. and J.U. 65-69.
45. Merrin, C.A.N.M.t.p.t.w.h.d.o.c.-D.p., T.e.i.p.t.w.a.r.t.t. Proc, and A.S.C.O. 243.
46. Hulin, A., et al., *Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique du cisplatine*. Thérapie, 2010. **65**(3): p. 151-155.
47. . Mankelov T, S.T., Burton N. Refined views of multi-protein complexes in the, K. erythrocyte membrane. Blood Cells Mol Dis. 15 juin 2012;49(1):1-10., S.P.(2002, and) Red blood cells. Int J Biochem Cell Biol, 1513-1518.
48. . Wiltshaw, E.a.K., T. Phase II Study of cis-Dichloro-diammineplatinum (II) (NSC and i.a.a.o.t.o.C.T.R.I. 55-60.
49. Beck, D.J.a.B., R.R. Mutagenic properties of cis-platinum (II) diamminodichloride and i.E.C.M.R. 181-189.
50. Bruckner, H.W.e.a.C.o.g.t.w.p.I.J.C. and H.O. 619-633.
51. Lin X, O.T., Holzer A, Howell SB. (2002) The copper transporter CTR1 regulates cisplatin uptake and i.S.c.M.P. 1154-9.
52. Cis-diamminedichloroplatinum(II), I.T.a.A.-O.F.G.-a., m.a.A.-d.e.f.l.c.m.c. of, and glutathione-platinum complex and its biological significance; J Biol Chem, 20116-20125.
53. Lattuca Truc, M. and L. Sakhri, *Administration du cisplatine à forte dose en hôpital de jour, expérience d'un an en oncologie thoracique à l'institut Daniel-Hollard*. Revue des Maladies Respiratoires, 2018. **35**: p. A108.
54. Faraglia G, F.D., Sitran S, Giovagnini L, Marzano C, Baccichetti F, Casellato U, Graziani R., (2010) Platinum(II) and palladium(II) complexes with dithiocarbamates and amines: synthesis, and c.a.c.a.J.I.B. 31-40.
55. Isnard-Bagnis C, M.B., Launay-Vacher V, Izzedine H, Tostivint I, Deray G. (2005) Anticancer and d.-i.n.N.T. 101-14.
56. Koch Nogueira, P.C., et al., *Nephrotoxicité du traitement de l'ostéosarcome par cisplatine, ifosfamide et methotrexate*. Archives de Pédiatrie, 1997. **4**: p. 247s.
57. Escudier B.Tolérance rénale du cisplatine. La Revue de Médecine Interne and n. vol. 17, p. 450-451. .
58. Lajer H., D.G.C.a.h.C.T. and Reviews, vol. 25, p. 47-58. .
59. Comprendre *les effets neurologiques du cisplatine*. Option/Bio, 2010. **21**(445): p. 4.
60. Albers JW, C.V., Cavaletti G, Donehower RC. Interventions for preventing neuropathy and c.b.c.a.r.c.C.D.S.R. 2011;(2):CD005228.

61. Içli F, K.H., Dinçol D, Demirkazik A, Gunel N, Karaoguz R, Uner A. (1993) Severe vascular and t.a.w.c.-b.c.C. 587-93.
62. Giuseppina F, M.A.P.I.a.p.I.c.o.d.a.L. and T.M.C. 200-206.
63. Medicine., H.P.C.-I.N.a.V.N.E.J.o. and 2008;358(23):2482 - 2494.
64. intravenous, L.C.e.a.D.a.d.o.p.f., a.o.c.-D.I.N.t.d.C. Res, and 1976;36:2340-2344.
65. Caponigro et al.
66. Sharma et al.
67. Nuhrich et al.
68. De Pascali et al.
69. Sessa et al.
70. Reedjik et al.
71. Somerharju P, V.J., Cheng KH, Hermansson M. The superlattice model of, l.o.o.m.a.i.i.o.m. lipid, and h.B.B.A.B.-B.j. 2009;1788(1):12-23.
72. 7, H.T.A.d.p.h.p.M.-S.F. and p.
73. Mankelow T, S.T., Burton N. Refined views of multi-protein complexes in and t.e.m.B.C.M.D.j. 2012;49(1):1-10.
74. HELMS JB, Z.C.L.a.t.s.l.r.a.i., trafficking., and Traffic, 5, 247-254.
75. PORTIER K.1, K.N., FELLMANN N.3, COUDERT J.3, LEKEUX P., F.c.-A.d. synthèse, and Ann. Méd. Vét., 151, 101-106.
76. https://www.google.dz/search?q=la+membrane+%C3%A9rythrocytaire&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjazfjL6rrbAhVLPRQKHVAXDmgQ_AUICigB&biw=1366&bih=672#imgsrc=UHtHBXSl-yWZ_M:
77. jlie-Anne, D.d.l.s.h.p.c.e.f.t.d.D. and D.-. ROUVIERE.
78. Physiologie du GR/par B . Dalle et Coll 1997.Cahier bioforma . Pr Christian Janot
79. P. BOIVIN*Protéines de la membrane érythrocytaire , H.B., INSER M U. and C.L.R.d. 160, Medecine interne numérohors serie, 1984, pp. 17 a 25.
80. Brands, R., Slot, J.W., and Geuze, H.J., Albumin localization in rat liver parenchymal and v.p.-. cells.Eur J Cell Biol.
81. 2013.474, A.T.M.P.S.S.B.M. and p.
82. Kaestner L, B.I.I.c.i.t.h.r.b.c.m.t., f.i.a.p.r.B.A. Neth., and j. 2002;55(1 - 2):71 - 4.
83. [http://www.futurasciences.com/magazines/sciences/recherche/?q=h%C3%A9moglobine.](http://www.futurasciences.com/magazines/sciences/recherche/?q=h%C3%A9moglobine)

84. Butcher JT, J.T., Beers J, Columbus L, Isakson BE. Hemoglobin α in the blood and v.w.F.R.B.M.a. 2014;73:136- 42.
85. Zhang J, W.K., Xiao X, Liao J, Hu Q, Chen H, et al. Autophagy as a Regulatory and C.o.E.I.J.M.S.f. 2015;16(2):4083- 94.
86. p, D.B.L.h.-.
87. A.Quessar, S.H.C.d.H.è.A.
88. Godeau, B., Diagnostic des anémies and h.-S.d.M. Interne.
89. Oncol, U.K.C.p.a.m.o.h.a. and W.P.N.s.S. 10):163- 70.
90. Jeney V, r., Eaton JW, Balla G, rgy, Balla J, et al. Natural History of the Bruise:, et al.
91. Da Costa L, G.J., Fenneteau O, Mohandas N. Hereditary spherocytosis,, a.o.r.c.m.d.B.R.j. elliptocytosis, and 2013;27(4):167- 78.
92. Ayadi Dahmane, I., et al., *Sphérocytose héréditaire néonatale sévère : à propos d'une observation*. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 2016. **29**(3): p. 155-157.
93. King M-J, G.L., Hoyer JD, Iolascon A, Picard V, Stewart G, et al. ICSH, g.f.t.l.d.o.n.h.r.c. membrane, and d.I.J.L.H.j. 2015;37(3):304- 25.
94. Barcellini W, B.P., Fermo E, Imperiali FG, Marcello AP, Vercellati C, et al., H.r.c.m.d.d.a.c.a. Blood, and T.j. 2011;9(3):274- 7.
95. Joncas F-H, A.P., Mazroui R. Rôle de l' heme regulated inhibitor (HRI) dans and l.r.à.l.a.m.s.o. 2014;30(10):882- 8.
96. . Dominique Bonnefont Rousselot, S.o.e.v., Spectra Biologie, and 2007.
97. Doudi Dalal et Atia Noura , E.d.m.d.f., de cuivre et de stress and m. oxydatif chez des femmes enceintes dans la région d'El-OUED
98. Durand, D., M. Damon, and M. Gobert, *Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux*. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2013. **48**(5): p. 218-224.
99. Favier, A., *Stress oxydant et pathologies humaines*. Annales Pharmaceutiques Françaises, 2006. **64**(6): p. 390-396.
- 100.Leverve, X., *Stress oxydant et antioxydants ?* Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2009. **44**(5): p. 219-224.
- 101.Gammoudi, I., et al., *Évaluation des paramètres du stress oxydant chez des patients coronariens*. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, 2013. **28**(1): p. 39-42.
- 102.Gobert, M., M. Damon, and D. Durand, *Stress oxydant et qualités nutritionnelles des produits animaux*. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2013. **48**(5): p. 225-232.
- 103.A, F., *Stress oxydant et diabète de type 2*. Médecine des Maladies Métaboliques, 2014. **8**(6): p. 639.

104. Roussel, A.-M. and M. Ferry, *Stress oxydant et vieillissement*. Nutrition Clinique et Métabolisme, 2002. **16**(4): p. 285-291.
105. Jauniaux, E. and G.J. Burton, *Le rôle du stress oxydant dans les pathologies placentaires de la grossesse*. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, 2016. **45**(8): p. 775-785.
106. <https://www.google.dz/search?tbm=isch&q=la+balance+d%27%C3%A9quilibre+entre+les+sy+st%C3%A8mes+oxydants+et+antioxydants&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwiW09qr8brbAhVGLZoKHTghDRkQBQgxKAA&biw=1366&bih=672&dpr=1#imgrc=ATC7-mNNqJNwFM:>
107. Beaudoux, J.L., et al., *Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose*. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, 2006. **21**(3): p. 144-150.
108. Aboura, r., *mémoire :evaluation du stress oxydant chez des fumeurs chroniques*. decembre 2007.
109. Berr, C., et al., *Enzymatic Antioxidant Balance and Cognitive Decline in Aging: The EVA Study*. European Journal of Epidemiology, 2004. **19**(2): p. 133-138.
110. Bonnefont-Rousselot, D., et al., *Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée*. Annales Pharmaceutiques Françaises, 2004. **62**(3): p. 147-157.
111. Subrata Kumar, b., does the independence between oxidative stress and, j.O.m.a.c. inflammation explain the antioxidant paradox, and l. 2016.
112. Xavier Lerverve. Oxidative, s.a.a.M.e.n.é. and E.e.M. 2009.
113. Meryem Allioua , S.n.e.d.m.c.l.p.a. and F. de lymphome non hodgkinien.
114. Mihaela Ilie and Denisa Margină , T.i.t.E.o.L.P., L.p. Processes , Edited by Angel Catala , August, 2012 , pp 130, and L.B.a.S.D. 88. Lucie Frémont, Antioxidant
115. Lucie Frémont, L.B.a.S.D., Antioxidant activity of, et al.
116. Hippocrate, H.W., ed. Penguin. 1978, New York. 232.
117. Rothschild, M.A., Oratz, M., and Schreiber, S.S., Serum albumin. Hepatology, and v.p. 385-401.
118. Peters, T., Jr. and Anfinsen, C.B., Net production of serum albumin by liver slices. J and v.p.-. BiolChem.
119. Transfus, F.A.A.u.i.c.m.t.o.t.a.M.R.j.
120. Nicholson JP, W.M., Park GR. The role of albumin in critical illness. Br J and A.o. 2000;85(4):599- 610.
121. Caquet, R., Albumine, in 250 examens de laboratoire (11e édition). 2010, Elsevier Masson: Paris. p. 16-17.
122. Brodersen, B., R., Bilirubin transport in the newborn infant reviewed with and v.p.-. relation to kernicterus. J Pediatr.

123. Barone G, G.C., Verdoliva A. DSC studies on the denaturation and aggregation and o.s.a.T.A.m. 1992;199:197- 205.
124. Tamion, F., *Albumine dans les états infectieux graves*. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 2010. **29**(9): p. 629-634.
125. Bal, W., Christodoulou, J., Sadler, P.J., and Tucker, A., Multi-metal binding site of serum and v.p.-. albumin. J InorgBiochem.
126. Guidet, B., *Albumine*, in *Insuffisance circulatoire aiguë*. 2009, Elsevier Masson: Paris. p. 343-356.
127. Turell L, R.R., Alvarez B. The thiol pool in human plasma: The central, c.o.a.t.r.p.F.R.B.M. déc, and 2013;65:244- 53.
128. Polito C, M.G.A.P.a.C.E.o.L.F. and M.A.o. 2013;79(10):1180- 6.
129. Peters, T.J., All about albumin - Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. and S.D.A. 1996.
130. Ozier, Y., *Place du traitement substitutif en albumine dans le transport des médicaments, des hormones, des électrolytes et d'autres substances*. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 1996. **15**(4): p. 532-542.
131. (Schlesinger, S., J.B., van Harmelen, V., Alberti-Huber, C.E., and, H. Hauner, Albumin inhibits adipogenesis and stimulates cytokine release from human, and v.p.C.-. adipocytes. Am J Physiol Cell Physiol.
132. Sezer MT, A.H., Demir M, et al. The effect of serum albumin, l.o.i.-i.o.s.i.c. renal, and f.p.J.N. 2007;20(2):196–203.
133. Majeur, a.e.u.p.a.-o., D.a.l.c.d.J.-P. Mira, and Hôpital Cochin, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75679 Paris cedex 14, France janv, T.J.A.G.f.c.u.J. and concl.
135. Shahian M, M.M.E.o.a.a.p.t.e., t.i.t.n.w.h.-.-a.r. controlled, and t.I.P.m. 2010;47(3):241 - 4.
136. Heyl JT, G.J., Janeway CA, Shwachman A, Wojcik L. Studies on The, et al.

Résumé :

Le cisplatine est l'un des produits majeurs de la chimiothérapie anticancéreuse administré par voie parentérale , La toxicité de ce médicament est importante et centré sur l'atteinte rénale et auditive qui limite son utilisation.

Les résultats retrouvent que le sérum albumine humaine diminue la toxicité de cisplatine sur le globule rouge illustré par la diminution du taux d'hémolyse et la perméabilité des ions K+.

Cette étude a apporté la preuve de l'effet protecteur de l'albumine contre la toxicité de cisplatine sur le globule rouge.

Mots clés : cisplatine, globule rouge, hémolyse, albumine, LDH, K+.

Abstract:

Cisplatin is one of the major products of anticancer chemotherapy administered parenterally. The toxicity of this drug is important and focuses on the renal attack and hearing what limits its utilisation .

The results show that human serum albumin decreases the toxicity of cisplatin on the red blood cell illustrated by the decrease in the rate of hemolyse and the permeability of K + ions. This study provided evidence of the protective effect of albumin against the toxicity of cisplatin on the red blood cell.

Key words: Cisplatin, Red globule, Hemolyse, Albumine, LDH

ملخص :

سيسبلاتين هي واحدة من المنتجات الرئيسية للعلاج الكيميائي المضادة للسرطان تدار بالحقن. تسمم هذا الدواء مهم ويركز على ضعف الكلى والسمع الذي يحد من استخدامه. وأظهرت النتائج أن الألبومين في المصل البشري يقلل من سمية سيسبلاتين على خلية الدم الحمراء يتضح من انخفاض في معدل انحلال الدم ونفاذية أيونات K +. قدمت هذه الدراسة أدلة على تأثير وقائي من الألبومين ضد سمية سيسبلاتين على خلايا الدم الحمراء. الكلمات المفتاحية: سيسبلاتين ، خلايا الدم الحمراء ، انحلال الدم ، الألبومين ، LDH ، K +.