

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD

FACULTE DE MEDECINE

DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEN



وزارة التعليم العالي

والبحوث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد

كلية الطب

د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

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

THÈME :

**Etude in vitro de l'influence de l'albumine sur la toxicité de
GLUCANTIME**

Présenté par : **ATTAR NACERA**

BENMIRA MALIKA

Soutenu le 28-06-2017

Le Jury

Président : DR D.BENIYAHIA

Maitre assistante en parasitologie

Membres :

DR L.RAHMOUN Maitre assistante en biophysique

DR A.HADJILA Assistante en hydro-bromatologie

Encadreur : DR N.BRIKCI.NEGASSA

Co-encadreur : DR K .BENCHACHOU

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ قالوا سبحانك لا علم لنا الا ما علمتنا ﴾

﴿ انك انت العليم الحكيم ﴾

صدق الله العظيم

الآيه (32) سورة البقره

Remerciment :

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

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

*Nos remerciements s'adressent également à notre co-encadreur **DRBENCHACHOU K**, maitre assistante en hydro-bromatologie, pour sa disponibilité, ses précieux conseils, ses encouragements et son assistance morale. Sincèrement vous nous faites l'honneur d'être notre co-encadreur merci.*

Aux membres de jury :

A mon Maître et Président du jury : DR BENYAHIA.D

Vous nous faites un grand honneur en acceptant la présidence de nos jurys de ce mémoire. Soyez assuré de notre profonde gratitude et respectueuse considération pour le soutien important apporté à ce travail.

*Nous tenons également à remercier **Mme RAHMOUN.L, DR HAJILA , DR KADDOUR ABDEL LAH** d'avoir accepté de faire partie de mes jurys et d'examiner notre travail. Nous ont fait preuve d'une grande attention et d'une grande disponibilité. Sincères remerciements.*

Au terme de ce travail nous ne pouvons pas manquer d'adresser nos sincères remerciements :

*À tous les membres du service de Biochimie pour leur aide et leur gentillesse, en particulier, **ZINA, IMENE , NESSRINE et YASSINE***



Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents Noureddine et Fadila

*Pour leur soutien, les sacrifices, et tous les efforts
consentis pour mon éducation et ma formation*

*Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance mon amour
et mon affection*

Que Dieu vous protège et vous prête santé et longue vie.

A mon frère et mes sœurs Hadjer et Sakina

*Permettez-moi de vous exprimer mon amour le plus
profond et mes vœux de réussite.*

A toutes les membres de la famille ATTAR et Attia

*A mes oncles surtout Boumedienne à mes tante
Amaria et Djamila je vous aime*

A mes anges Chifaà ,Anfel et Safaà

A mes chers amies Kikati ,Téma,Meriem et Nono

*En souvenir des agréables moments partagés et en
témoignage de notre amitié*

*A toute personne m'ayant consacré un moment pour
m'aider, me conseiller, m'encourager,
ou simplement me sourire.*

Attar Nacera



Je dédie ce mémoire :

A me chers parents

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer
l'immense amour que je vous porte ,
ni la profonde gratitude que je vous témoigne
pour tous les efforts et les sacrifices
que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon
instruction et mon bien être*

*Que Dieu vous protège et vous prête santé et longue
vie*

*A mon frère Kacem et mes sœurs Nina ,Chahra,
Roura et Nassima*

pour votre soutiens je vous aime bcp

*A mon cher boucif , ma tante ,et ma chère naïma
Pour vos précieux conseils et vos encouragements.*

A mes amies Nara ,Téma ,Meriemet Nono

*En souvenir des agréables moments partagés et en
témoignage de notre amitié*

A mon fiancé

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

Benmira Malika

Table des matière

Liste des Tableaux.....
Liste des Figures.....
Liste des abréviations.....
Introduction.....
Synthèse théorique.....
Chapitre I : La leishmaniose	
I.1 Définition:	14
I.2 Epidémiologie :.....	14
I.2.1 Agent pathogène :	14
I.2.2 Vecteurs (phlébotomes):	18
I.2.3 Réservoir du parasite :	19
I.2.4 Cycle parasitaire de leishmaniose:	21
I.2.5 Répartition géographique :	22
I.3 Les manifestations cliniques de la leishmaniose :	25
I.3.1 Leishmaniose cutanée :.....	25
I.3.3 Leishmaniose viscérale: « Kala-azar» :« Fièvre noire »	29
I.4 diagnostic de la lieshmaiose	31
ChapitreII: Glucantime®	
II.1 Dénomination du médicament.....	39
II.2 Présentation.....	39
II.2.1 Excipient	39
II.2.2 Classe thérapeutique :	39
II.2.3 Origine de la substance :	39
II.2.4 Structure chimique	40

II.3	Durée de conservation	41
II.4	Pharmacocinétique.....	41
II.4.1	Absorption.....	41
II.4.2	Distribution	41
II.4.3	Métabolisme	41
II.4.4	Demie de vie d'élimination.....	42
II.5	Mécanisme d'action:	42
II.6	Contre-indication:	42
II.7	Posologie et mode d'administration.....	43
II.7.1	Traitement générale	43
II.8	Mises en garde spéciales	44
II.9	Précautions d'emploi	44
II.10	Effets indésirables.....	44
II.11	Toxicité	45
II.12	Premiers gestes et principes de traitement	45
II.13	Interactions médicamenteuses:	46
II.14	. Prophylaxie	35
II.14.1	Prophylaxie individuelle	35
II.14.2	Prophylaxie collective	36
II.15	Vaccination :.....	36

Chapitre III:Globule Rouge

III.1	Les globules rouges	48
III.1.1	Structure du globule rouge.....	48
III.1.2	La membrane plasmique :.....	49
III.1.3	Squelette du globule rouge.....	51
III.1.4	Les propriétés de la membrane plasmique :	52
III.2	L'hémoglobine.....	54

III.3 L'hémolyse:	56
-------------------	----

Chapitre IV: l'Albumine

IV Introduction :	62
-------------------	----

IV.1 Structure	62
----------------	----

IV.2 Fonction : formation, distribution et rôles	64
--------------------------------------------------	----

IV.2.1 Rôles circulatoires	65
----------------------------	----

IV.2.2 « Le transporteur »	65
----------------------------	----

IV.2.3 Le protecteur	67
----------------------	----

IV.2.4 Les propriétés antioxydantes	67
-------------------------------------	----

Partie pratique

I. Problématique	85
------------------	----

II. But	85
---------	----

III. Objectif	85
---------------	----

IV. Matériel et méthode.

IV-1- Type lieu et calendrier de l'étude	87
------------------------------------------	----

IV-2- Matériels	87
-----------------	----

IV-2-1- Appareils	87
-------------------	----

IV-2-2- Réactifs	90
------------------	----

IV-3- Méthodes	92
----------------	----

IV-3-1- Déroulement et recueilles des données	92
-----------------------------------------------	----

IV-3-2 Paramètres étudiés	92
---------------------------	----

IV-4- Mode opératoire	92
-----------------------	----

V. Résultats et interprétation	97
--------------------------------	----

V-1-Résultats	98
V-2-Interprétation	168
VI.Discussion.....	171
Conclusion.....	
Bibliographie.....	

Liste des Tableaux

Tableau 01 :Classification simplifiée du genre leishmania.....	26
Tableau 02 ::Diagnostic biologique de leishmaniose.....	41
Tableau 03 :les valeurs normales du globule rouge par litre.....	56
Tableau 04 : la numérotation globulaire.....	64

Liste des figures

Figure 1: Organisation cellulaire de leishmania.....	15
Figure 2: Les deux principaux stades morphologiques de <i>Leishmania</i>	17
Figure 3:: Repas sanguin d'une femelle de phlébotome	18
Figure 4:Réservoir du parasite.....	19
Figure 5: Les réservoirs des leishmanioses en Algérie	20
Figure 6: Cycle évolutif de <i>Leishmania sp.</i>	21
Figure 7: Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, muco- cutanées et viscérales.	22
Figure 8: Cas de leishmanioses viscérales en Algérie années 2000 à 2004	24
Figure 9: Cas de leishmanioses cutanées en Algérie de 2000 à 2004	25
Figure 10: Bouton d'orient :.....	26
Figure 12: Leishmaniose à présentation érythémato-squameuse.	27
Figure 13: Leishmaniose cutanée diffusée	28
Figure 14: Espundia (<i>L. braziliensis</i>)	29
Figure 15: Aspect clinique d'un enfant atteint de la LV	30
Figure 16: Formule chimique Antimoniate de méglumine et de Stibogluconate de sodium ..	40
Figure 17: la structure du globule rouge	49
Figure 18: la membrane du globule rouge est composé d'une bicouche lipidique sous laquelle est ancré un réseau bidimensionnel de protéine, le squelette. Ce squelette est composé de filament de spectrine reliés entre eux par des complexes de jonction	51
Figure 19 : les échanges transmembranaires	54
Figure 20: paires de chaînes polypeptidiques Contenant une porphyrine contenant un atome de FER.....	55
Figure 21: Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures	63
Figure 22: Différents isomères conformationnels de la SAB en fonction du pH (Navarra, ...	64

Figure 23: Les voies de transport des métabolites par l'albumine	66
Figure 24 : Principaux sites de l'albumine impliqués dans son activité antioxydante.....	69
Figure 25 : Ionomètre	75
Figure 26 : spectrophotomètre.....	75
Figure 27 : Vortex	76
Figure 28 : Automate SIEMENS Dimension RxlMax®.....	76
Figure 29 : agitateur mécanique	77
Figure 30 : Préparation de la solution mère	79
Figure 31: préparation de la solution fille	79
Figure 32 : préparation de la solution de travail.....	81
Figure 33 : Préparation du suspension	83
Figure 34 : Préparation des tubes à testés	84
Figure 35: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 01)	87
Figure 36: l'effet de la Glucantime®sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 01).	87
Figure 37: l'effet de la Glucantime®sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 01).....	88
Figure 38: l'effet de la Glucantime®sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 01).....	88
Figure 39: le rapport [K+]/ [protéines] (test 01).....	89
Figure 40: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 02)	89
Figure 41: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 02).	90
Figure 42: l'effet de la Glucantime®sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 02).....	90
Figure 43: l'effet de la Glucantime®sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 02).....	91
Figure 44: le rapport [K+]/ [protéines] (test 02).....	91
Figure 45: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 03)	92
Figure 46: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 03).	92

Figure 47: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 03).....	93
Figure 48 : l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 03).....	93
Figure 49: le rapport [K+]/ [protéines] (test 03)	94
Figure 50: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 04)	94
Figure 51: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 04).	95
Figure 52: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 04).....	95
Figure 53: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 04).....	96
Figure 54: le rapport [K+]/ [protéines] (test 04).....	96
Figure 55: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 05)	97
Figure 56: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 05).	97
Figure 57: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 05).....	98
Figure 58: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 05).....	98
Figure 59: le rapport [K+]/ [protéines] (test 05)	99
Figure 60: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 06)	99
Figure 61: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 06).	100
Figure 62: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 06).....	100
Figure 63: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 06).....	101
Figure 64: le rapport [K+]/ [protéines] (test 06).....	101
Figure 65: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 07)	102

Figure 66: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 07).	102
Figure 67: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 07).....	103
Figure 68: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 07).....	103
Figure 69: le rapport [K+]/ [protéines] (test 07)	104
Figure 70: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 08)	104
Figure 71: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 08).	105
Figure 72: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 08).....	105
Figure 73: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 08).....	106
Figure 74: le rapport [K+]/ [protéines] (test 08).....	106
Figure 75: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 09)	107
Figure 76: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 09).	107
Figure 77: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 08).....	108
Figure 78: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 09).....	108
Figure 79: le rapport [K+]/ [protéines] (test 09).....	109
Figure 80: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 10)	109
Figure 81: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test10).	110
Figure 82: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 10).....	110
Figure 83: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 10).....	111

Figure 84: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 11)	111
.....	
Figure 85: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test11).	112
.....	
Figure 86: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 11).....	112
Figure 87: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 11).....	113
Figure 88: le rapport [K+]/ [protéines] (test 11)	113
Figure 89: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 12)	114
.....	
Figure 90: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test12).	114
.....	
Figure 91: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 12).....	115
Figure 92: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 11).....	115
Figure 93: le rapport [K+]/ [protéines] (test 12).....	116
Figure 94: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 13)	116
.....	
Figure 95: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test13).	117
.....	
Figure 96: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 13).....	117
Figure 97: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 13).....	118
Figure 98: le rapport [K+]/ [protéines] (test 13).....	118
Figure 99: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 14)	119
.....	
Figure 100: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test14).....	119
Figure 101: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 13).....	120

Figure 102: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 14).....	120
Figure 103: le rapport [K+]/ [protéines] (test 14).....	121
Figure 104: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 14).....	121
Figure 105: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test15).....	122
Figure 106: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 15).....	122
Figure 107: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 15).....	123
Figure 108: le rapport [K+]/ [protéines] (test 15).....	123
Figure 109: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 16).....	124
Figure 110: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test16).....	124
Figure 111 : l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 16).....	125
Figure 112: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 16).....	125
Figure 113: le rapport [K+]/ [protéines] (test 16).....	126
Figure 114: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 17).....	126
Figure 115: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test17).....	127
Figure 116: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 17).....	127
Figure 117: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 17).....	128
Figure 118: le rapport [K+]/ [protéines] (test 17)	128
Figure 119: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 18).....	129
Figure 120: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test18).....	129

Figure 121: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 18).....	130
Figure 122: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 18).....	130
Figure 123: le rapport [K+]/ [protéines] (test 18).....	131
Figure 124: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 19).....	131
Figure 125: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 19).....	132
Figure 126: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 19).....	132
Figure 127: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 19).....	133
Figure 128: le rapport [K+]/ [protéines] (test 19).....	133
Figure 129: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 20).....	134
Figure 130: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 20).....	134
Figure 131: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 20).....	135
Figure 132: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 20).....	135
Figure 133: le rapport [K+]/ [protéines] (test 20)	136
Figure 134: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 21).....	136
Figure 135: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 21).....	137
Figure 136: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 21).....	137
Figure 137: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 21).....	138
Figure 138: le rapport [K+]/ [protéines] (test 21).....	138
Figure 139: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 22).....	139

Figure 140: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 22).....	139
Figure 141: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 22).....	140
Figure 142: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 22).....	140
Figure 143: le rapport [K+]/ [protéines] (test 22).....	141
Figure 144: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 22).....	141
Figure 145: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 23).....	142
Figure 146: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 23).....	142
Figure 147: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 23).....	143
Figure 148: le rapport [K+]/ [protéines] (test 23).....	143
Figure 149: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 24).....	144
Figure 150: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 24).....	144
Figure 151: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 24).....	145
Figure 152: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 24).....	145
Figure 153: le rapport [K+]/ [protéines] (test 24).....	146
Figure 154: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 25).....	146
Figure 155: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 25).....	147
Figure 156: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 25).....	147
Figure 157: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 25).....	148
Figure 158: le rapport [K+]/ [protéines] (test 25).....	148

Figure 159: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 26).....	149
Figure 160: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 26).....	149
Figure 161: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 26).....	150
Figure 162: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 26).....	150
Figure 163: le rapport [K+]/ [protéines] (test 26).....	151
Figure 164: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 27).....	151
Figure 165: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 27).....	152
Figure 166: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 27).....	152
Figure 167: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 27).....	153
Figure 168: le rapport [K+]/ [protéines] (test 27).....	153
Figure 169: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 28).....	154
Figure 170 : l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 28).....	154
Figure 171: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 28).....	155
Figure 172 : l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence del'HSA(test28).....	153
Figure173 : lerapport [K+]/ [protéines] (test 28).....	154

La liste des abréviations :

°C : degré Celsius.	IFCC : la fédération internationale de chimie clinique I : intensité en ampères
µl : microlitre	INFc : interféron gamma
A° : Angstrom.	IV : Intra veineuse.
ADN : acide désoxyribonucléique	K+ : potassium
ADP : Adénosine diphosphate.	kDa : Kilo Dalton.
AMB : Amphotéricine B.	L/Kg : litre par kilogramme
ARN :acide ribonucléique	LC : Leishmaniose cutanée
ATP : l'adénosine triphosphate	LCD :Leishmaniose cutanée diffuse
ATP : Adénosine triphosphate.	LCL : Leishmaniose cutanée localisée
BAL : british Anti Lewisite	LCM : Leishmaniose cutanéomuqueuse
C : Carbone.	LCN (LCS) : Leishmaniose cutanée du nord ou (sporadique)
Ca 2+ : calcium	LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique
CCMH : La concentration corpusculaire hémoglobinique moyenne.	LDH : Lactate deshydrogénase.
CL :chlore	LDI : Désorption-ionisation laser
DEET : N.N-diethyl-m-toluamide	LV : Leishmaniose viscérale
DMSA : acide dimercaptosuccinique	LVI : Leishmaniose viscérale infantile
DPA : Les dérivés pentavalents de l'antimoine	M : Molaire.
Eau ppi :Eau pour préparation injectable	Mg/ml : milligramme par millilitre.
ECG : électrocardiogramme	Mg2+ : magnésium
EDTA :acide éthylène-diamine-tétraacétique acide édétique	Mg : milligramme.
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay,	MGG :May-Grünwald-Giemsa.
g/j : gramme par jour.	min :minute
g/l : gramme par litre.	ML : millilitre
G/L : Globule par litre	mM : millimole.
G : gramme.	N : Azote.
GR : Globule Rouge.	Na+ : sodium
H : Hydrogène.	Na₂HPO₄ : Disodium hydrogen phosphat
Hb : Hémoglobine.	NADH : nicotinamide adénine dinucléotide hydrogène.
He :Hémtocrite	NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène.
HSA :Human serum albumin	

NFS: Numération de la Formule Sanguin.
NK : Natural Killer
Nm : nanomètre.
NNN : Novy-Mc Neal-Nicolle.
OMS : Organisation Mondiale de la santé
PCR : polymérase chain reaction
PMO : Ponction de la moelle osseuse
ROS : Oxygen Reactive Species

RPMI: Le Roswell Park Memorial Institute medium
SM : spectrométrie de masse.
TCMH: La teneur globulaire moyenne en hémoglobine
TPBS : Tampon phosphate salin.
tr/min : tour par minute
U : tension en volts
UV : ultraviolet
VGM : volume globulaire moyen.
VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

Introduction

Les leishmanioses sont des pathologies parasitaires de distribution ubiquitaire, endémiques dans les régions tropicales et subtropicales du globe, et touchant 98 pays dans le monde.

La prévalence globale des leishmanioses est estimée à 12 millions d'individus, et environ 310 millions de personnes sont à risque d'infection. Elles constituent un véritable problème de santé publique en Inde, en Afrique du Nord, ou en Amérique du Sud. En Europe, les régions méditerranéennes sont des zones endémiques, avec plusieurs centaines de cas déclarés chaque année (en Espagne, en France, en Italie et au Portugal notamment). L'OMS estime que le nombre de nouveaux cas par an est de 1,3 millions, et que la mortalité annuelle est comprise entre 20 000 à 30 000 personnes.

L'Algérie se place malheureusement parmi les pays infestés du pourtour méditerranéen par les leishmanioses, elles constituent un vrai problème de santé publique, en raison du nombre croissant des cas dépistés chaque année ainsi que leur extension à travers le territoire national, avec une coexistence des deux formes (cutanée et viscérale) au niveau d'un même foyer.¹⁻²

Les dérivés pentavalents de l'antimoine, dont le Glucantime®, demeurent la meilleure arme thérapeutique de la leishmaniose. Toutefois, ce choix thérapeutique expose aux risques d'effets indésirables parfois graves.³

Vu le coût abordable du Glucantime et sa disponibilité dans les pays du Maghreb, nous proposons d'étudier et évaluer l'effet anti oxydant de l'albumine sur le Glucantime® afin de diminuer ses effets indésirables.

*Synthèse
théorique :*

Chapitre I:
la leishmaniose

I.1 Définition:

Les leishmanioses sont des maladies communes à l'homme et à certains mammifères dues à des protozoaires du genre *Leishmania* transmis par un insecte, le phlébotome femelle.

Selon l'espèce parasitaire en cause et les mécanismes de défense mis en place par l'hôte, la maladie peut prendre la forme d'une affection tégumentaire ou systémique. Ces deux formes peuvent s'associer et donner des manifestations cliniques diverses.

Cliniquement on distingue trois types de leishmaniose :

- La leishmaniose viscérale .
- La leishmaniose cutanéomuqueuse ;
- La leishmaniose cutanée pure appelée « Clou de Biskra ».

Les leishmanioses sont devenues ainsi des maladies à déclaration obligatoire.⁴⁻⁵⁻⁶⁻⁷

I.2 Épidémiologie :

I.2.1 Agent pathogène :

I.2.2 Morphologie :

Les leishmanies sont des eucaryotes unicellulaires de la famille des trypanosomiases, pourvus d'un organe spécifique aux kinétoplastidés, le kinétoplaste, situé en position antérieure. Il contient deux types de molécules d'ADN, les maxi-cercles et les mini-cercles. La composition cellulaire des leishmanies inclut des organites plus classiques tels que le noyau, le flagelle et sa poche flagellaire ou encore l'appareil de Golgi, la membrane plasmique est composée principalement de glycolipides de haut poids moléculaire et de protéines membranaires. (*Figure n= 01*)⁸⁻⁹⁻¹⁰⁻¹¹

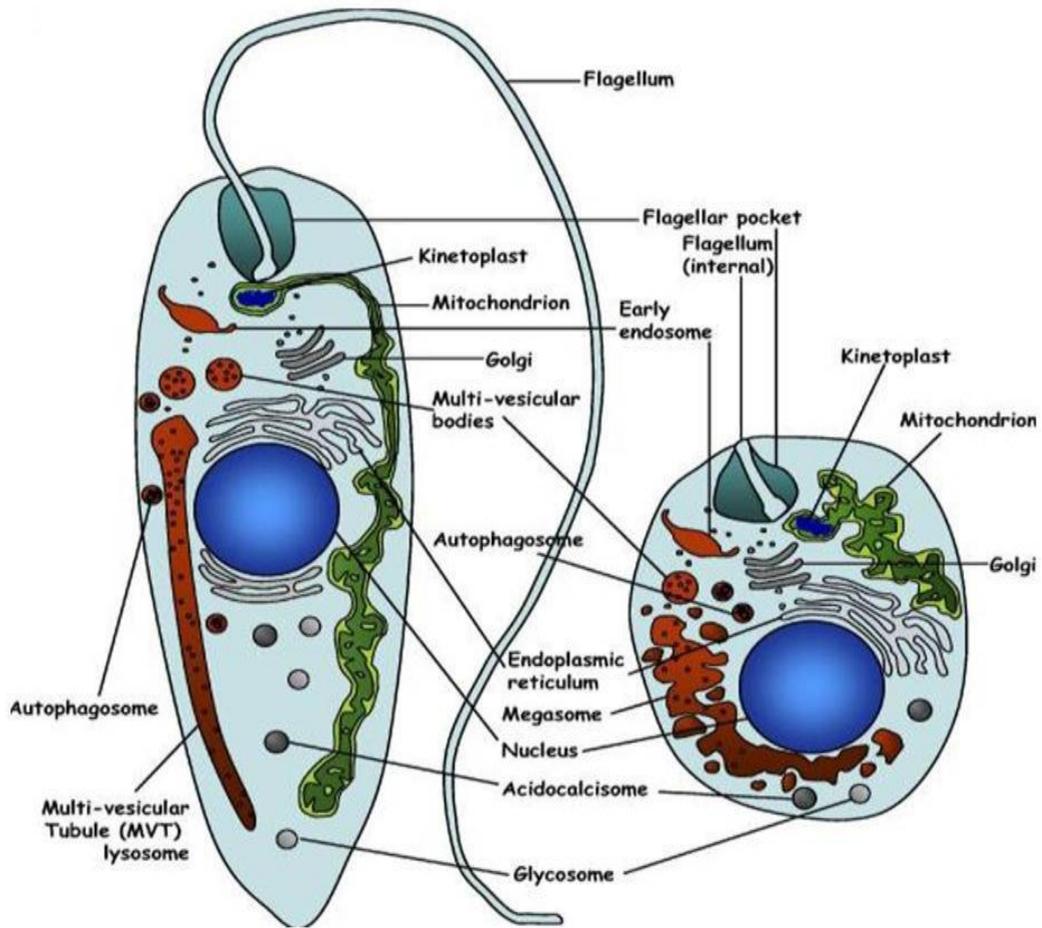


Figure 1: Organisation cellulaire de *Leishmania*⁹

Tableau 1 : Classification simplifiée du genre *leishmania*¹²

Sous-genres et complexe	Forme clinique courante
<i>Le sous-genre Leishmania</i>	
<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	Leishmaniose viscérale
<i>L. tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. killicki</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. arabica</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. amazonensis</i>	Leishmaniose cutanée
<i>Le sous-genre Viania</i>	
<i>L. braziliensis</i>	Leishmaniose muco-cutanée
<i>L. guyanensis</i> <i>L. naiffi</i> <i>L. lainsoni</i>	Leishmaniose cutanée

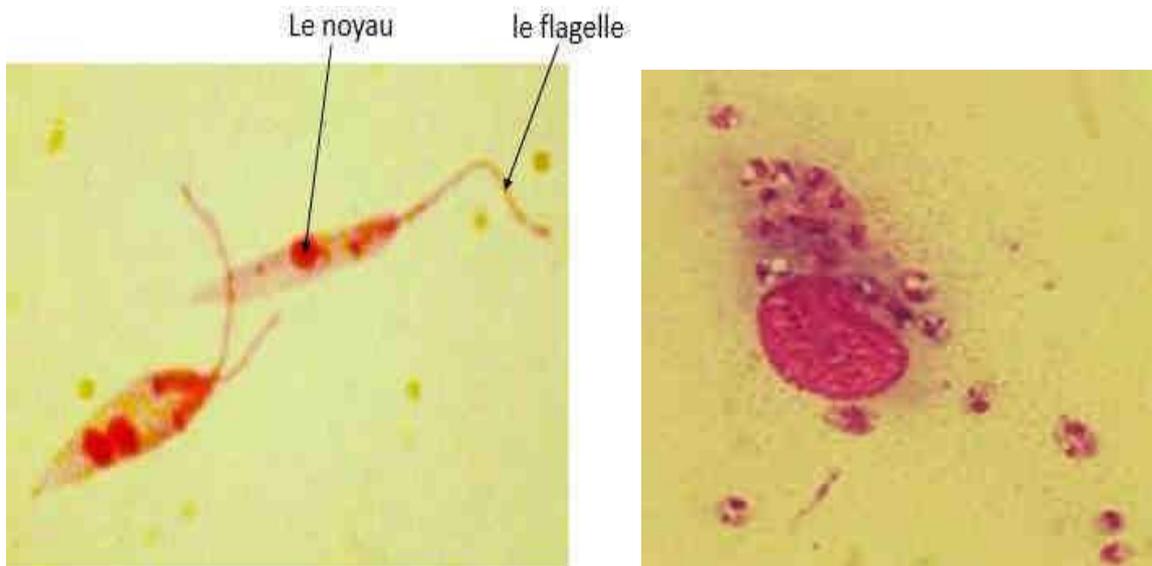
Les *Leishmanias* présentent au cours de leur cycle de développement deux stades morphologiques successifs (*Figure=02*):

I.2.2.1.1 La forme promastigote:

C'est le stade d'évolution, dans le tube digestif du phlébotome, il est mobile et flagellé mesure 12 à 16 μm de long et 1,5 à 3, 5 μm de large, le flagelle mesure de 15 à 25 μm . Ce stade est subdivisé en quatre sous stades: le néctomanade, haptomonade, promastigote et métacyclique, cette dernière forme est infectieuse et se trouve dans la cavité buccale de l'insecte. ¹⁰⁻¹³⁻¹⁴⁻¹⁵

I.2.2.1.2 La forme amastigote:

Chez l'hôte vertébré, il se présente sous forme d'un élément ovoïde, sans flagelle, immobile de 2 à 6 μm , nanti d'un noyau arrondi et d'un bâtonnet ou kinétoplaste à partir duquel surgit un court filament ne débordant pas la limite du corps cellulaire. ¹⁰⁻¹¹⁻¹⁴⁻¹⁵⁻¹⁶



Forme promastigote

Forme amastigote

Figure 2: Les deux principaux stades morphologiques de *Leishmania*

I.2.3 Vecteurs (phlébotomes):



Figure 3: femelle de phlébotome.

Les flagellés du genre *leishmania* sont transmis par des insectes diptères appartenant au genre *Phlebotonus*. L'adulte mesure 2 à 3 mm de long, il est d'aspect bossu. Le corps, les ailes et les pattes sont velus. Les yeux sont nettement visibles. Les antennes dépassent la trompe constituée par une lèvre inférieure charnue creusée en gouttière, le labium, où sont contenues les pièces piqueuses. Les phlébotomes vivent dans les pays tempérés et tropicaux.

Les adultes ont une activité crépusculaire et nocturne. Leur vol est silencieux. Leur dispersion autour des gîtes larvaires est généralement de courte portée. Seules les femelles sont hématophages. Après un repas sanguin, elles déposent leurs œufs dans les gîtes où se développent les larves. La piqûre est douloureuse car ces insectes dilacèrent les téguments avec leurs pièces buccales pour aspirer le sang.

En Algérie existe trois espèces de phlébotomes qui sont: *Phlebotomus perniciosus* est le principal vecteur de la leishmaniose viscérale, *Phlebotomus papatasi* responsable de la transmission de la leishmaniose cutanée zoonotique et *Perfliewide* la leishmaniose cutanée du nord, ces deux espèces sont très anthropophiles.¹⁷⁻¹⁸⁻¹⁹⁻²⁰

I.2.4 Réservoir du parasite :

Les réservoirs naturels des leishmanies sont des mammifères domestiques ou sauvages, chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononuclées. Dans certains cas, l'Homme est l'unique réservoir du parasite .

On peut qualifier les leishmanioses d'anthroponoses ou de zoonoses selon que l'Homme soit l'hôte direct ou l'hôte accidentel du vecteur. En effet, certains vecteurs sont attirés par l'Homme alors que la majorité a plutôt tendance à infecter d'autres mammifères. Ceux-ci varient selon l'habitat. ^{21- 22- 23-24}

D'après GARNHAM, il existe trois foyers :

- **Foyers primaires:** Afrique de l'Est, Sud-Américain, Asie centrale dans lesquels les animaux sauvages jouent le rôle de base (renard, chacal et rongeurs sauvages).
- **Foyers secondaires:** Foyers méditerranéens, chinois et Sud-américain. Dans ces foyers la maladie est une anthroponose dont le principal réservoir est le chien, l'Homme n'étant atteint qu'accidentellement.
- **Foyers tertiaires:** L'inde et le Soudan sont le siège de véritables épidémies interhumaines.



Figure 4:Réservoir du parasite

Les leishmanies circulent en Algérie entre l'homme et le chien, véhiculées par *Phlebotomus* pour les formes viscérale et cutanée à *L. infantum*, et entre l'homme et un rongeur sauvage pour la forme cutanée à *L. major* (figure 05).²⁵

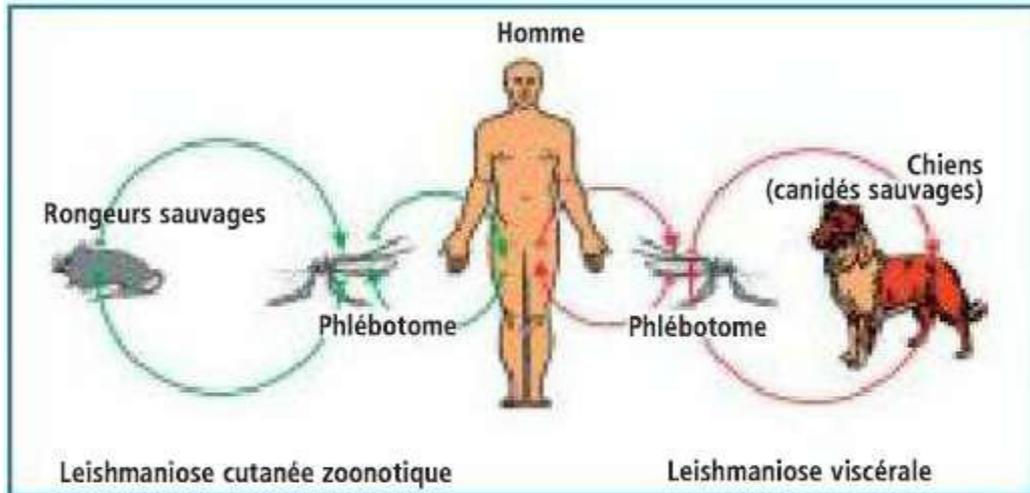


Figure 5: Les réservoirs des leishmanioses en Algérie (Bachi, 2006).²⁵

I.2.5 Cycle parasitaire de leishmaniose:

Comme le montre la Figure 6 : la leishmaniose est transmise par la piqûre infectante des phlébotomes femelles lors des repas de sang (1). Ces larves au stade infectieux (promastigotes méta cycliques) déposées au niveau du point de la piqûre sont phagocytées par les macrophages (2) et se transforment en amastigotes (3) chez les vertébrés. Les amastigotes se multiplient dans les cellules infectées et atteignent différents tissus, suivant (du moins en partie) l'espèce de *Leishmania* qui est impliquée (4). Ces spécificités d'atteinte tissulaires différentes sont la cause des manifestations cliniques qui diffèrent dans les diverses formes de leishmaniose. Les phlébotomes s'infectent lors d'un nouveau repas de sang sur un hôte infecté quand ils ingèrent des macrophages porteurs d'amastigotes (5-6). Dans l'intestin du phlébotome, les parasites se différencient en promastigotes (7), qui se multiplient et se différencient en promastigotes méta cycliques et migrent dans la trompe du phlébotome (8) et le cycle reprend de nouveau.^{26- 27- 28}

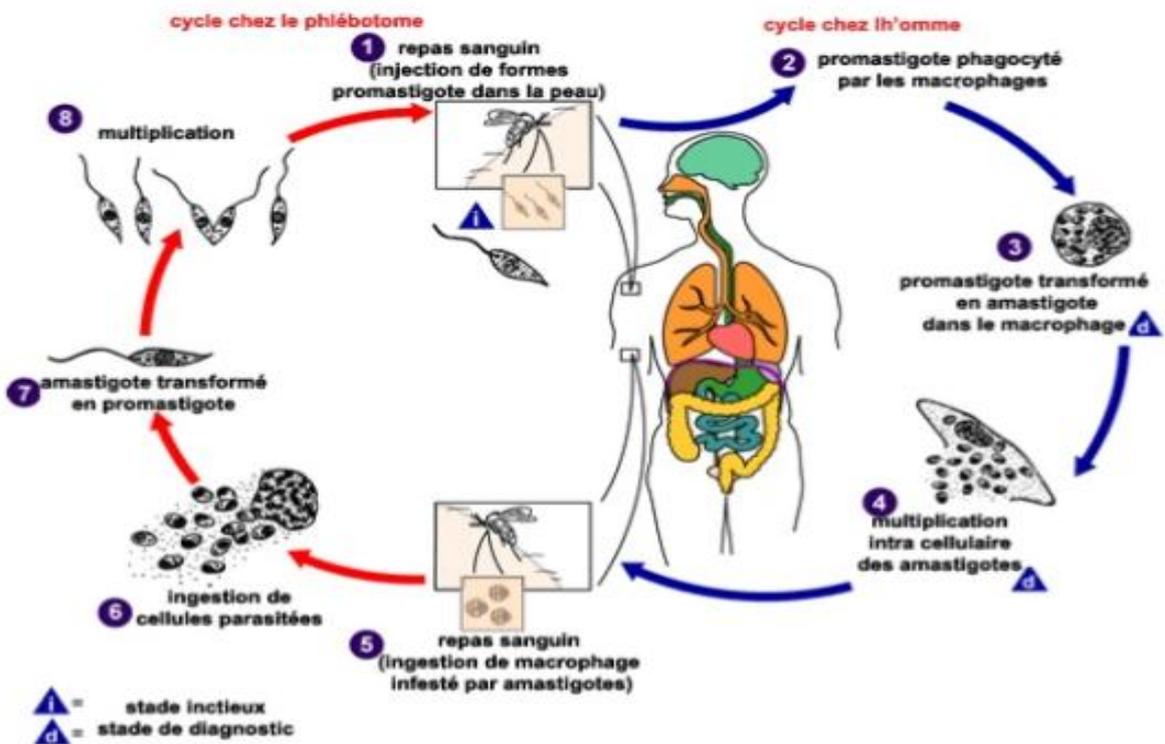


Figure 6: Cycle évolutif de *Leishmania sp.*

I.2.6 Répartition géographique :

2.6.1 Dans le monde :

Les leishmanioses sont largement répandues à la surface du globe. Elles possèdent une aire géographique circumterrestre, globalement intertropicale, mais débordant fortement sur les zones tempérées d'Afrique du Nord, du Sud de l'Europe (en particulier le Sud de la France) et d'Asie. On distingue les leishmanioses de l'Ancien Monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie) et le Nouveau Monde (Amérique du Nord, du Sud et Centrale).²⁹⁻³⁰

Présentes sur les quatre continents, les leishmanioses affectent 88 pays dont 21 dans le Nouveau monde et 66 dans l'Ancien. La population exposée au risque de leishmanioses est estimée à 350 millions de personnes et l'incidence annuelle mondiale est comprise entre 1,5 et 2 millions de cas dont un demi-million pour la LV et 1,5 millions pour la LC et la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM).³¹



Figure 7: Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, muco-cutanées et viscérales.

Au foyer méditerranéen :

Les régions méditerranéennes sont des zones endémiques avec plusieurs centaines de cas déclarés chaque année (en Espagne, en France, en Italie et au Portugal notamment). L'OMS estime que le nombre de nouveaux cas par année est de 1.3 millions, et que la mortalité annuelle est comprise entre 200 000 à 300 000 personnes.³²

2.6.2. En Algérie:

L'Algérie, comme d'autres pays méditerranéens, est fortement concernée par ces zoonoses qui sont classées dans notre pays comme maladies à déclaration obligatoire.

Deux types de leishmaniose sévissent à l'état endémique en Algérie LC et LV.

La LV se répartit sur toute la partie nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humides et subhumides. Bien que sa fréquence ainsi que celle de la leishmaniose cutanée sporadique (LCS), varie d'une région à l'autre. Aussi elle peut survenir dans les régions arides et semi-arides, foyers de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ).³³

A côté des anciens foyers, Tizi-ouzou, Boumerdès, Médea, Constantine, Jijel, de nouveaux foyers sont apparus; à l'Est, Annaba et Collo; au centre, la Mitidja, la Chiffa et Chlef et à l'Ouest, Tlemcen et Oran. L'existence de leishmaniose canine dans la région de Tlemcen rend cette ville de l'Ouest un territoire potentiel pour cette forme viscérale.

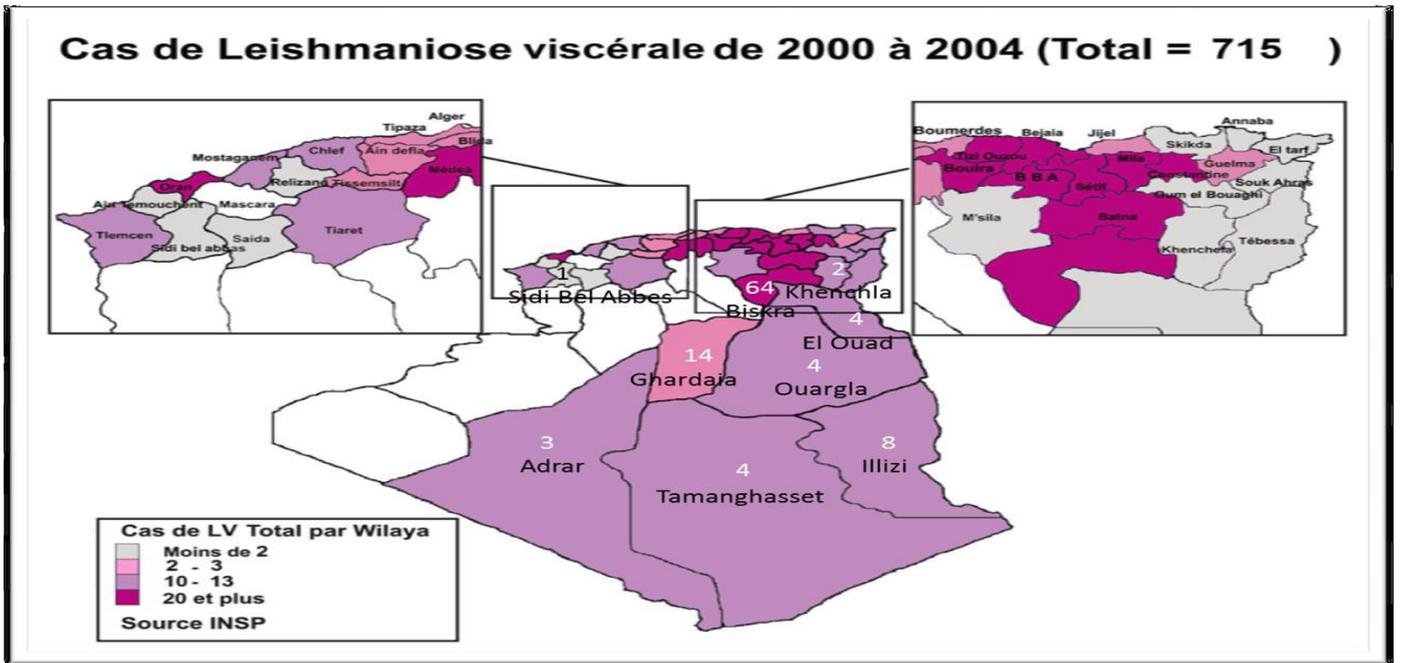


Figure 8: Cas de leishmanioses viscérales en Algérie années 2000 à 2004 ³⁴(INSP)

La LCZ est la forme la plus rencontrée en Algérie. Elle correspond au clou de Biskra et s'observe à l'état endémo-épidémique dans les régions arides et semi-arides, principalement au niveau de la frange nord du Sahara ³⁴. Les foyers anciennement connus sont ceux de Biskra à l'Est et Abadla à l'Ouest. Les nouveaux foyers tels ceux de Msila, Boussaâda, Tiaret et Béchar. Cette forme se singularise par son extension rapide à partir des foyers anciens et devient de plus en plus fréquente au Nord au sein même des zones d'endémie de LV. Les nouveaux foyers au nord concernent Batna, Médéa, Tiaret et Bordj Bouarreridj.

Dans la Wilaya de Ghardaïa, à côté de *Leishmania major*, une nouvelle espèce, *Leishmania killicki* appartenant au complexe *tropica*, a été isolée au cours de l'année 2005 et identifiée comme *L.killicki*. ³⁵

La LCS du Nord qui s'observe de façon permanente durant toute l'année, a une aire de distribution limitée au Nord algérien, s'inscrit dans la zone d'endémie de la LV, Kabylie, Nord constantinois, régions de Ténès et quelques cas sporadiques au niveau de tout l'Est algérien et à Tlemcen. Les foyers les plus touchés par cette forme sont, Tizi-Ouzou, Ténès, Bordj menaïl, Bouira et Alger. ³⁶

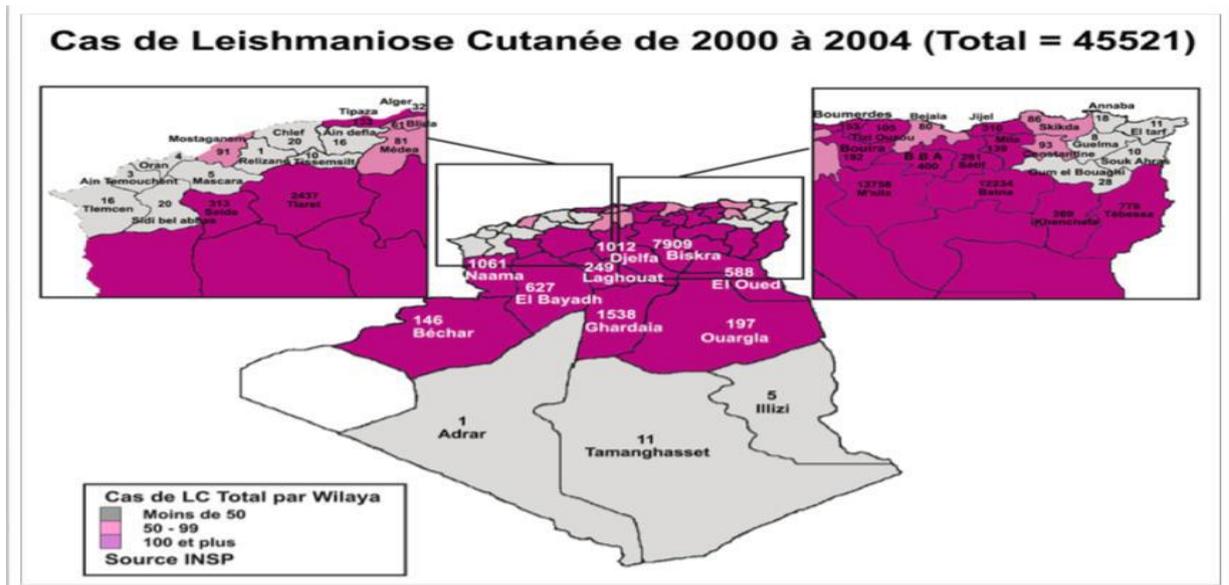


Figure 9: Cas de leishmanioses cutanées en Algérie de 2000 à 2004 ³⁴

I.3 Les manifestations cliniques de la leishmaniose :

I.3.1 Leishmaniose cutanée :

La LC correspond à des atteintes exclusives de la peau sous forme de petites lésions inflammatoires qui débutent par une papule inflammatoire qui va se développer en nodules qui s'ulcèrent et se recouvrent d'une croûte, sans extension aux organes profonds ni aux muqueuses. ³⁷⁻³⁸⁻³⁹⁻⁴⁰

I.3.1.1 Leishmaniosescutanées localisées (LCL) « Clou de Biskra »

I.3.1.1.1 Forme humide ou rurale

Elle sévit dans les régions rurales, semi-désertiques à habitat dispersé. Il s'agit du passage accidentel chez l'Homme de *L.major*, parasite habituel des rongeurs sauvages. La période d'incubation est de 10 à 45 jours, l'inflammation est très marquée, s'accompagnant d'une lymphangite et d'adénopathies.

L'évolution se fait vers la guérison spontanée en 3 à 5 mois mais laisse persister une cicatrice souvent importante. ³⁸

I.3.1.1.2 Forme sèche ou urbaine :

C'est la forme la plus classique, forme anthroponotique, elle est due à *L.tropica*. La période d'incubation varie de 2 à 3 mois. La lésion peut être unique rarement multiple. Elle ressemble à un grand furoncle abortif mais évoluant sans douleur et sans adénopathies. L'évolution se fait vers la guérison spontanée en 8 à 12 mois, laissant persister une cicatrice atrophique indélébile plus ou moins marquée.³⁸



Figure 10: aspect ulcéro- Crouteux **Figure 11:** aspect pseudo-impitigineux

I.3.1.1.3 LC à *L.infantum*



Figure 12: Leishmaniose à présentation érythémato-squameuse.

I.3.1.2 Leishmaniose cutanée diffuse (LCD):

IL s'agit d'une forme de LC particulière et rare, qui correspond au parasitisme de sujets anergiques par les espèces *L.aethiopica* dans l'Ancien Monde et *L.amazonensis* dans le Nouveau Monde. Mais depuis que les états d'immunodépression acquise se multiplient, quelques cas de LCD ont été signalés avec des espèces habituellement responsables de lésions localisées telles *L.major* ou *L.braziliensis*, voire *L.infantum*. Dans la LCD, la lésion élémentaire est le nodule non ulcéré. Les nodules isolés, très nombreux et disséminés sur l'ensemble du corps. L'aspect du malade s'apparente à celui d'un lépreux. Cette forme de leishmaniose est rebelle aux antileishmaniens classiques.³⁹



Figure 13: Leishmaniose cutanée diffusée

I.3.2 Leishmaniose cutanéomuqueuse: (LCM) « Espundia »

La LCM est due principalement à l'espèce *L.braziliensis*, largement répandue du sud du Mexique au nord de l'Argentine.

Zoonose sylvatique, ses réservoirs sauvages demeurent inconnus. Cette affection évolue en deux temps: une primo-invasion cutanée pouvant être suivie par une atteinte muqueuse secondaire. L'atteinte cutanée initiale ressemble aux lésions de LC et évolue vers la guérison spontanée. L'atteinte muqueuse, lorsqu'elle se produit, débute à la muqueuse nasale, la muqueuse buccale peut être ensuite atteinte. Les lésions du palais et du voile sont souvent granulomateuses et congestives.

Les lésions des lèvres sont plus inflammatoires et ulcérées et accompagnées de destruction tissulaire.³⁹

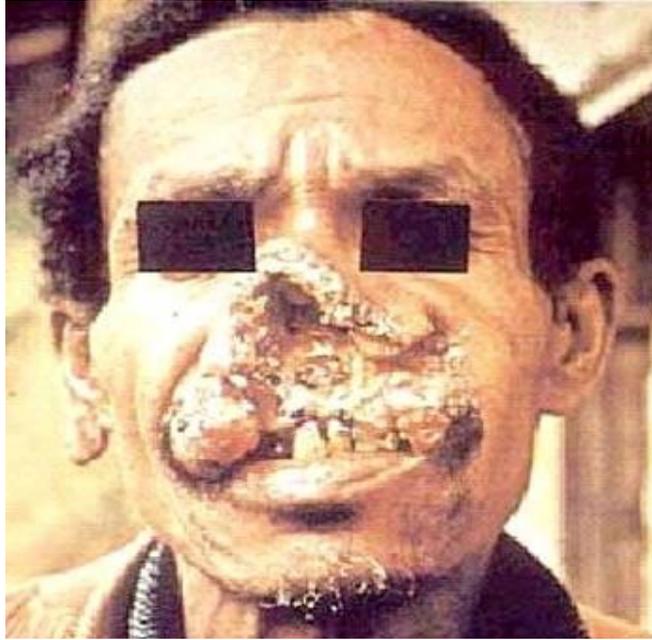


Figure 14: Espundia (*L. braziliensis*)

I.3.3 Leishmaniose viscérale :

La LV résulte d'une atteinte systémique généralisée de la lignée des phagocytes mononucléés par les parasites du genre *Leishmania*. C'est une maladie mortelle en absence du traitement. La période d'incubation moyenne est de 3 à 6 mois. Mais des durées d'incubation de 1 à 3 ans sont également rapportées.

La LV se manifeste principalement par la triade: fièvre prolongée irrégulière, anémie et splénomégalie qui est un signe précoce et fréquent.^{40-41- 42 43}

La pâleur, Extrême « vielle cire », jaune- charmois, traduit l'anémie qui s'accompagne de manifestations corollaires habituelles: dyspnée, vertiges, bouffissure de visage, et souffle systolique.

La fièvre, résistante à tout traitement habituel, dite « fièvre folle », elle est irrégulière, à intensité variable, avec souvent deux à trois cloches quotidiens bref à 40C °et des phases d'hypothermie.

Plusieurs jours ou semaines d'apyrexie sont possibles en l'absence de tout médicament.

La splénomégalie est un signe précoce et fréquent (environ 80% des cas). La rate est dure, lisse et indolore et peut devenir énorme, atteignant l'hypochondre gauche, c'est la plus grosse rate infantile (Stade IV)

Avec le temps, le tableau clinique peut se compliquer de signes d'atteinte digestive, hépatique, rénale, pulmonaire et de troubles hémorragiques. Une atteinte bronchique est possible caractérisée par une toux sèche, irritative et sans expectoration.

Chez certains sujets, l'infection leishmanienne demeure asymptomatique dans les zones endémiques de LV ou au cours d'épisodes épidémiques.



Figure 15: Aspect clinique d'un enfant atteint de la LV

I.4 diagnostic de la leishmaniose

Tableau 2 : Diagnostic biologique de leishmaniose: ⁴⁴⁻⁴⁵

Tableau 2 : Diagnostic biologique des leishmanioses humaines.			
	Eléments d'orientation	Diagnostic parasitologique	diagnostic indirect
Leishmaniose viscérale	<ul style="list-style-type: none"> - Numération-formule sanguine, plaquettes - vitesse de sédimentation, C-reactive protéine - profil protéique et immunoelectrophorèse des protéines 	<p>Myélogramme et/ou leucocytocentrifugation de sang périphérique (rarement biopsies tissulaires) :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Examen direct coloré au Schneider ou RPMI supplémentés) - PCR/séquençage - SM Maldi-Tof - Recherche d'antigène circulant 	<ul style="list-style-type: none"> - Sérodiagnostic (Elisa, réaction d'agglutination directe ou indirecte, immuno-fluorescence indirect , Western blot) - Intra-dermo-réaction à la leishmanine = Réaction de Monténégro (outil épidémiologique plus que diagnostique)
Leishmanioses tégumentaires et cutmuqueuse	Aspect clinique des lésions	<p>Grattage ou raclage ou scarification ou injection/aspiration ou biopsie cutanée :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Examen direct coloré au MGG - Culture (milieu NNN, Schneider ou RPMI supplémentés) - PCR/séquençage - SM Maldi-Tof 	<ul style="list-style-type: none"> - sérodiagnostic souvent peu contributif, sauf par western blot dans certains cas du Nouveau Monde - Intra-dermo-réaction à la leishmanine positive dans 70 % des cas en zone d'endémie (outil épidémiologique plus que diagnostique)

4.Traitement :

1.1Dérivés pentavalent

Les deux produits disponibles de nos jours sont l'antimoniote de N-méthylglucamine (Glucantime) et le stibogluconate de sodium (Pentostant). Chimiquement voisins, ils ont une teneur en antimoine distincte, de 8,5 % pour le Glucantimet (85 mg/mL) et de 10 % pour le Pentostant (100 mg/mL). Leur mécanisme d'action demeure mal connu. L'antimoine a une action inhibitrice sur la synthèse de l'adénosine triphosphate (ATP), sur l'oxydation glycolytique et sur celle des acides gras. Il est possible que les sels d'antimoine aient à être concentrés dans le macrophage ou transformés en métabolites actifs pour être efficaces.

1.2Amphotéricine B :

Antibiotique polyénique isolé en 1955 d'un Streptomyces du sol, l'amphotéricine B est un antifongique puissant utilisé dans le traitement des mycoses systémiques. Il représente un anti leishmanie puissant utilisé dans le traitement des leishmanioses graves (viscérales et muqueuses) ou résistantes aux antimoniés.

- **Mode d'action :**

L'amphotéricine B se fixe sur les stérols membranaires des champignons et des Leishmania, provoquant des modifications de la perméabilité de leurs membranes entraînant une perte létale de substances. Elle agirait en outre également sur les macrophages en stimulant leur production et en augmentant leurs capacités phagocytaires.⁸⁴⁻⁸⁵

- **Pharmacocinétique:**

L'absorption digestive faible empêche l'utilisation de cette voie pour un traitement systémique. Dans le sang, l'amphotericine B est très liée aux lipoprotéines. La molécule se concentre ensuite préférentiellement dans certains tissus: foie, rate, poumons, reins. Le métabolisme est mal compris. Il existe probablement une dégradation in situ, mais aucun métabolite n'est connu. L'élimination urinaire et biliaire est faible, proche de 20 %.⁸⁴

- **Toxicité :**

Les effets secondaires de l'amphotéricine B sont de deux types. Les signes d'intolérance surviennent au moment de la perfusion (frissons, céphalées, crampes, hypotension, vertiges, paresthésies, convulsions, vomissements, exceptionnellement choc anaphylactique, collapsus cardiovasculaire, voire arrêt cardiaque). Ces manifestations sont habituellement contrôlées par le ralentissement de la perfusion ou l'emploi des corticoïdes. La toxicité de l'amphotéricine B est à la fois rénale et hématologique. La néphrotoxicité est dose-dépendante et liée à la baisse de filtration glomérulaire provoquée par le produit. Elle peut aboutir à une insuffisance rénale généralement réversible à l'arrêt du traitement, sauf pour des doses élevées. ⁸⁶

- **Présentation et mode d'utilisation :**

L'amphotéricine B désoxycholate ou Fungizone® se présente en flacons de 50 mg. Elle s'utilise seulement en perfusion intraveineuse lente (6 à 8 h), le produit ayant été dissous dans 500 ml de sérum glucosé à 5 %. Les perfusions sont administrées un jour sur deux, sur des malades alités, sous surveillance médicale.

Pour éviter les signes d'intolérance, on associe des antihistaminiques injectables ou des corticoïdes. Le traitement est institué à doses progressives pour atteindre en 4 jours la dose maximale de 1 mg/kg et par perfusion. Des guérisons peuvent s'obtenir à partir d'une dose totale de 1 g, mais elles nécessitent souvent de dépasser les 2 g. Au-delà de 3 g, une surveillance très étroite de la fonction rénale s'impose.

L'amphotéricine B désoxycholate a montré son efficacité dans le traitement de toutes les formes de leishmaniose. Dans la leishmaniose muqueuse, une étude systématique de la littérature a montré qu'elle avait un taux d'efficacité comparable à celui de l'antimoniote de méglumine ⁸⁷ La dilution de l'amphotéricine B dans une émulsion lipidique, utilisée un certain temps, a été abandonnée.

1.2 Pentamidine:

La Pentamidine, est une diamine aromatique synthétisée qui inhibe la synthèse de l'ADN parasite par blocage de la thymidine synthétase et par fixation sur l'ARN de transfert. L'administration se fait par perfusion lente, et les effets toxiques dépendants de la

dose, apparaissent au cours du traitement atteignant le rein, le pancréas ou les lignées sanguines.⁸⁸

1.3 Miltefosine :

La Miltefosine, une hexadecylphosphocholine. Son avantage, par rapport aux autres produits, est qu'elle est administrée oralement à une dose de 2,5 mg/kg/jours pendant 28 jours avec 98% de succès avec des effets secondaires négligeables⁸⁹. Après des essais de Phase IV, le gouvernement indien a décidé de l'utiliser comme traitement de première ligne depuis 2002 pour traiter la leishmaniose viscérale⁹⁰. La miltefosine a été utilisée en Colombie, avec un taux de guérison de 94%⁸⁹. Cette même molécule a fait l'objet d'une étude en Bolivie avec un taux de guérison de 71% sur des patients atteints de LV⁹¹. Elle n'est toutefois pas utilisable chez la femme enceinte pour son embryotoxicité relevée chez les animaux.⁸⁹⁻⁹⁰⁻⁹¹

2. Produits alternatifs:

Diverses molécules déjà connues et utilisées hors leishmaniose ont été proposées et font l'objet d'essais thérapeutiques dans les leishmanioses. Parmi elles, l'aminosidine paraît la plus prometteuse.

Aminosidine sulfate:

Aminosidine sulfate La paromomycine est un antibiotique aminoside à large spectre, proche de la monomycine employée par les auteurs soviétiques depuis de nombreuses années pour le traitement des LC. Elle s'est révélée efficace par voie parentérale (15 mg/j pendant 20 jours) dans le traitement de la LV, seule ou en association avec des antimoniés.⁹²⁻⁹³

Allopurinol:

Cet analogue structural de l'hypoxanthine (Zyloric®) a la propriété de s'incorporer à l'ARN des leishmanies sur lesquelles il a un effet létal. La posologie utilisée est de 20 mg/kg/j, par voie orale, il s'élimine rapidement par voie rénale.⁹⁴

Ses effets indésirables sont limités à des troubles digestifs, des intolérances cutanées ou de rares hypersensibilités généralisées. Toutes ces raisons l'ont fait essayer dans le traitement des leishmanioses humaines, dans lesquelles il n'a montré qu'une efficacité réduite. Son

principal intérêt contre les leishmanioses réside dans une amélioration d'efficacité des autres antileishmaniens.

Atovaquone :

Les hydroxynaphtoquinones sont des inhibiteurs sélectifs des transporteurs d'électrons mitochondriaux et, à ce titre, sont actives contre plusieurs protozoaires de la classe des sporozoaires.⁹⁴

Parmi ces produits, l'atovaquone a montré une certaine efficacité in vitro contre les Leishmania et a fait l'objet de quelques essais limités dans certaines formes de LC .

Interféron gamma:

L'interféron gamma (INF γ) est une lymphokine produite naturellement par les lymphocytes T helper et les cellules tueuses NK. Il possède des propriétés immunomodulatrices, en particulier d'activation macrophagique, élément fondamental du développement de l'infection leishmanienne.

L'INF γ de synthèse, associé à l'antimoniote de méglumine, a montré une certaine efficacité dans le traitement des LV et LCM, mais dans des schémas thérapeutiques longs et avec des effets secondaires sérieux. Il n'est de ce fait pas utilisé en pratique courante.⁹⁴

6. Prophylaxie :

La prophylaxie contre les leishmanioses comprend :

6.1 Prophylaxie individuelle

Les mesures prophylactiques individuelles aspirant à l'éviction de la piqûre des phlébotomes et ce, au moyen d'installation de moustiquaires.

Utilisation de moustiquaires à mailles fines pour protéger les pièces et les lits.

Utilisation de produits répulsifs tels que le DEET (N.N-diethyl-m-toluamide) et l'hexaméthylène benzamide. Ces deux mesures sont particulièrement utiles pour la protection personnelle des gens qui visitent les zones d'endémie.⁴⁵

L'élimination; autour des habitations; des déchets; ordures et matières organiques ainsi que des briques; bois de chauffage ou autres matériaux sur lesquels les phlébotomes peuvent se poser.

6.2 Prophylaxie collective

La prophylaxie collective se base sur trois actions :

➤ **Action sur le réservoir du parasite**

La lutte contre le réservoir qui repose sur :

Le diagnostic et le traitement des malades

Le dépistage de la leishmaniose canine, l'abatage des chiens errants et infestés est la méthode de choix de lutte contre le réservoir canin.

La neutralisation du rongeur au niveau de son biotope assurant la collecte, le conditionnement et l'élimination des déchets et des ordures solides et liquides, soit par la destruction des terriers qui sont des microsites d'infestation du phlébotome et l'utilisation de rodenticide.

➤ **Action sur le phlébotome vecteur :**

Elle est basée sur :

L'élimination des gîtes larvaires effectifs ou potentiels de phlébotomes.

La lutte imagocide qui peut être menée par des opérations d'aspersions intradomiciliaires d'un insecticide à effet rémanent couvrant la période de transmission. Ces actions ont pour objectifs la réduction de la densité du phlébotome vecteur et l'arrêt de la transmission de la maladie.

7. Vaccination :

Il n'y a pas de vaccin efficace disponible pour l'immunisation prophylactique contre les leishmanioses. Jusqu'à présent, la seule vaccination fiable contre les leishmanies était limitée à la protection de l'Homme contre *L.tropica* et *L.major*, par infection préalablement provoquée à la seringue. Les promastigotes sont injectés dans le bras ou une autre partie du corps.

L'infection suit un cours naturel et après guérison, l'individu est solidement immunisé contre une infection postérieure avec les deux leishmanies. Ce type d'immunisation a été

pratiqué sur une échelle limitée dans des régions hyper-endémiques de LC; elle doit être seulement utilisée pour l'Homme se déplaçant dans des zones à haut risque. Il faut approximativement 3 mois avant que l'immunité soit acquise.

*Chapitre II: Le
Glucantime®*

II Chapitre de glucantime :

Le traitement des leishmanioses reste difficile, en raison d'une part de la multiplicité des espèces de *Leishmania* de sensibilité variable aux produits utilisés, et d'autre part du nombre restreint de produits disponibles, et qui sont de surcroît anciens, toxiques et coûteux. Enfin, l'existence de produits dont l'efficacité n'est pas prouvée complique encore le problème.

Les dérivés pentavalents de l'antimoine (DPA) constituent depuis un siècle le traitement de référence des leishmanioses viscérales (LV) et de la majorité des formes tégumentaires (LT).⁴⁶⁻⁴⁷

A l'inverse des pays anglo-saxons qui utilisent le stibogluconate de sodium (Pentostam®), produit comparable, l'antimoniote de N-méthyl glucamine est largement prescrit dans les pays francophones et en Amérique du Sud.⁴⁸⁻⁴⁹

II.1 Dénomination du médicament :

GLUCANTIME 1,5 g/5 ml, sous forme d'une solution injectable.⁵⁰

II.2 Présentation :

Les dérivés stibiés de sels pentavalents d'antimoine: Glucantime®, est une molécule utilisée au cours du traitement de la leishmaniose, il se présente sous forme d'une boîte de 5 ampoules de 5 ml correspondant à 1,5 g d'antimoniote de Méglumine, à reconstituer avec de l'eau pour préparation injectable, à usage parentéral intramusculaire, intraveineux et intra-lésionnel.⁵¹

II.2.1 Excipients:⁵⁰

- Eau ppi,
- Potassium disulfite,
- Sodium sulfite anhydre.

II.2.2 Classe thérapeutique :

Antiparasitaire ; Anti-leishmanies⁵⁰

II.2.3 Origine de la substance :

L'antimoniote de méglumine et le stibogluconate sodium sont obtenus par synthèse.

II.2.4 Structure chimique:

Il existe deux molécules couramment utilisées contenant de l'antimoine, l'antimoniote de méglumine (Glucantime ®) et le stibogluconate de sodium (Pentostam (t)). L'antimoniote de méglumine et le stibogluconate de sodium ont une structure chimique voisine.

II.2.4.1 Formule brute:

Antimoniote de méglumine: $C_7 H_{18} NO_8 Sb$.

Stibogluconate de sodium: $C_6 H_8 Na_2 O_9 Sb$.

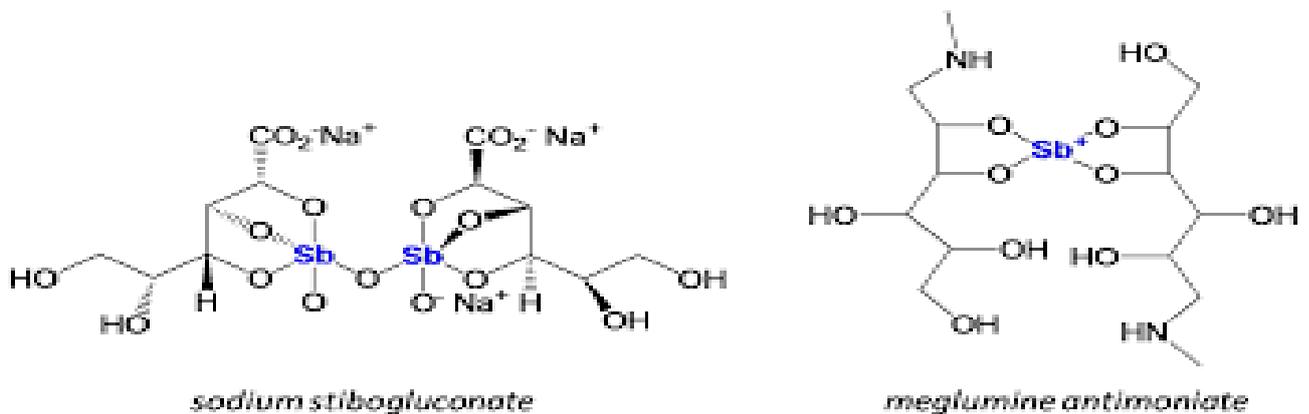


Figure 16: Formule chimique Antimoniote de méglumine et de Stibogluconate de sodium

II.2.4.2 Propriétés physiques

- Couleur : Antimoniote de méglumine: blanche

Stibogluconate de sodium: blanche

- Forme: Cristaux
- Description:
- Antimoniote de méglumine: odeur faible, facilement soluble dans l'eau. Le pH de la solution obtenue est compris entre 6 et 7.
- Il est insoluble dans l'alcool; l'éther et le chloroforme.
- Stibogluconate de sodium: très soluble dans l'eau; insoluble dans l'alcool et l'éther. Le pH de la solution est compris entre 5 et 5,6.

II.3 Durée de conservation :

Avant ouverture: 3 ans.⁵⁰

Après ouverture, le produit doit être utilisé immédiatement

II.4 Pharmacocinétique :

II.4.1 Absorption:

L'absence d'absorption digestive de l'antimoniote de N-méthyl glucamine (L'absorption par l'homme de l'antimoine est faible)⁵⁵ impose une injection par voie parentérale.

II.4.2 Distribution :

L'antimoine pénètre dans le corps par la circulation sanguine où il se répartit différemment suivant la valence. L'antimoine pentavalent serait sous forme chargée en conditions biologiques. Le temps de distribution est de 51 minutes.⁵⁶

Depuis le sang, l'antimoine est distribué et stocké dans différents compartiments corporels.

Il s'accumule dans les tissus mous vascularisés comme le foie et la rate mais aussi au niveau des os.

Chez l'homme, dans la population générale, l'antimoine est retrouvé dans les fluides et dans les tissus à de très faibles niveaux, de l'ordre de 7 mg pour l'ensemble du poids corporel. L'antimoine est affiné des résidus thiols (groupement SH). Ceci pourrait expliquer son affinité pour l'hémoglobine des globules rouges et sa toxicité, sans que ces derniers soient bien compris. En effet, les groupes SH sont essentiels à la structure et à la fonction des protéines.⁵⁷

II.4.3 Métabolisme :

Etant donné que les antimoniés pentavalents n'ont pas d'action parasiticide directe sur les leishmanies, certains auteurs pensent que la différence d'activité in vitro et in vivo de ces produits est due à une réduction en forme trivalente.

Après une seule injection, la presque totalité du produit est éliminée dans les 1ères 24h et l'on ne trouve plus trace d'antimoine dans les urines après 48h.

Au cours du traitement avec des doses répétées, la concentration plasmatique et l'excrétion urinaire augmente mais la balance antimoniee reste positive chez le patient.

II.4.4 Demie de vie et élimination:

L'élimination urinaire est rapide, 50% dans les 6 heures et 80% dans les 24 heures qui suivent l'injection. Elle peut être incomplète, avec risque d'accumulation.¹⁵

II.5 Mécanisme d'action:

Leur mécanisme d'action est encore peu connu actuellement, il semblerait que les dérivés d'antimoine stimulent la réponse immunitaire des patients traités⁵⁸. Des hypothèses sur l'inhibition de la synthèse de l'adénosine triphosphate (ATP), et l'oxydation des acides gras et des glucides ont été décrites.⁵⁹⁻⁶⁰⁻¹⁵

Des actions sur l'ADN parasitaire et sur les mécanismes de signalisation intracellulaire liés à la phosphatidylsérine ont également été rapportées.⁶¹⁻⁶²

Il est possible que les sels d'antimoine aient à être concentrés dans le macrophage ou transformés en métabolites actifs pour être efficaces.⁵²⁻⁶³

II.6 Contre-indication:

- ❖ Hypersensibilité à l'un des constituants,
- ❖ Insuffisances cardiaque ou hépatique,
- ❖ Insuffisance rénale sévère,
- ❖ Insuffisance cardiaque ou troubles de conduction,
- ❖ Tuberculose pulmonaire,
- ❖ Syndrome hémorragique,
- ❖ Grossesse: Il n'y a pas d'étude de tératogénèse disponible chez l'animal.

Il n'existe actuellement pas des données pertinentes sur un éventuel effet malformatif ou foetotoxique de l'antimoniote de méglumine.⁵⁰

- ❖ Allaitement:

En l'absence d'étude, à éviter pendant l'allaitement par ce qu'il passe dans le lait maternel¹⁵.

II.7 Posologie et mode d'administration :

II.7.1 Traitement générale:

Injection intramusculaire de 60 mg/kg/jour d'antimoine jusqu'à guérison clinique ou disparition du parasite dans le suc dermique recueilli par scarification, puis quelques jours au-delà.⁶⁴

La posologie du Glucantime selon le service de dermatologie CHU Tlemcen est la suivante:

- Adultes : 60 mg/kg/jr avec une dose maximale de 100 mg/kg/jr.
- Enfant: soit la demi-dose : 30 mg/kg/jr

Posologie progressivement augmentée avec une cure de 15j, à renouveler éventuellement après 15 j si nécessaire.

- 1/4 de la dose totale
- 1/2 de la dose totale le J2
- 3/4 de la dose totale le J3
- La dose totale à partir de J4

Arrêt de 15 jr puis une deuxième cure pendant 15 jr.

II.7.1.1 Leishmaniose viscérale:

Injection intra-musculaire de 20 mg/kg/jour d'antimoine (soit 75 mg/kg/jour d'antimoniate de méglumine), sans dépasser 850 mg d'antimoine, pendant au moins 20 jours consécutifs. Le traitement doit être poursuivi jusqu'à disparition des parasites dans des ponctions de rate effectuées à intervalle de 15 jours.⁶⁵⁻⁶⁶⁻⁶⁷

En cas de récurrence, la cure doit être immédiatement recommencée avec les mêmes doses quotidiennes.

II.7.1.2 Leishmaniose cutanée:

A l'exception des formes à *L. Braziliensis* et *L. Amazonensis*:

II.7.1.2.1 Traitement local:

Les injections au niveau des lésions ne doivent être envisagées qu'au stade précoce. L'infiltration doit être profonde jusqu'à l'obtention d'un blanchiment complet à la base de la lésion.

Injection de 1 à 3 ml à la base de la lésion, renouvelée une fois (ou 2 fois en l'absence de résultat apparent), à intervalles de 1 ou 2 jours.

II.7.1.2.2 **Traitement général:**

Un traitement par voie générale est nécessaire quand les lésions sont trop nombreuses, enflammées, ulcérées ou situées dans un endroit où des cicatrices risqueraient d'être inesthétiques ou incapacitantes, en particulier s'il y a obstruction des voies lymphatiques ou atteinte cartilagineuse.

Injection intra-musculaire de 10 à 20 mg/kg/jour d'antimoine (soit de 37 à 75 mg/kg/jour d'antimoniate de méglumine) jusqu'à guérison clinique ou disparition du parasite dans le suc dermique recueilli par scarification, puis quelques jours au delà. Pour *L. Braziliensis* (leishmaniose cutanée et cutanéomuqueuse) et *L. Amazonensis* (leishmaniose cutanéomuqueuse): Injection intra-musculaire de 20 mg/kg/jour d'antimoine (soit 75 mg/kg/jour d'antimoniate de méglumine) jusqu'à guérison et pendant au moins 4 semaines pour *L. Braziliensis* plusieurs mois pour *L. Amazonensis*.⁶⁹⁻⁶⁸

II.8 **Mises en garde spéciales:**

Ce produit contient des sulfites et peut provoquer des réactions allergiques sévères et un bronchospasme.⁵⁰

II.9 **Précautions d'emploi :**

Une alimentation riche en protéines doit être administrée pendant toute la durée du traitement, celui-ci étant précédé si possible par la correction d'une éventuelle carence en fer ou de toute autre carence spécifique.⁷⁰

Surveiller l'ECG, la fonction hépatique ou rénale pendant tout le traitement. En cas d'anomalies, diminuer les doses.

II.10 **Effets indésirables :**

Céphalées, malaise général, dyspnée, rash cutané, œdème de la face et douleurs abdominales, augmentation des enzymes hépatiques.

De très rares cas de pancréatites et d'insuffisance rénale aiguë ont été rapportés.

Les altérations de l'ECG sont en fonction de la dose et généralement réversibles; le plus souvent, une inversion des ondes T et un allongement de l'intervalle QT précèdent l'apparition d'une arythmie grave.⁷¹⁻⁸²⁻⁸³

II.11 Toxicité:

Bien que de nombreux effets collatéraux a été attribués aux antimoniés, la rareté d'effets secondaires cliniquement graves rapportés justifie la poursuite de leur utilisation, d'autant qu'un médicament alternatif dénué de toxicité n'est pas disponible.⁷²

Très schématiquement, les effets secondaires des antimoniés pentavalents se distinguent en signes:

➤ **Stibio-intolérance :**

de type anaphylactique (frissons, hyperthermie, arthromyalgies, les réactions cutanées étaient à type de rashes cutanés ou des réactions urticariennes au site d'injection, observés au début, mais aussi à la fin du traitement. Des auteurs ont expliqué la fréquence de ces réactions par la présence de métaux lourds impures au niveau du produit ⁷⁵, toux coqueluchoïde, tachycardie, lipothymies, hémorragies, troubles digestifs)⁷³⁻⁷⁴.

➤ **Stibio-intoxication:**

survenant en fin de cure et traduisant un surdosage. Il s'agit de signes généraux (hyperthermie, polynévrites, myalgies, arthralgies), des troubles cardiaques notamment une bradycardie qui disparaît à l'arrêt du traitement et un élargissement de l'espace QT ^[76] d'atteintes hépatique particulièrement une cytolyse hépatique d'intensité variable et parfois une insuffisance hépatocellulaire grave ⁷⁷ pancréatique ⁷⁸ ou rénale, et manifestations hématologiques à type d'anémie hémolytique, une agranulocytose et parfois des hémorragies importantes ⁷⁹. Ces complications sont survenues lors de traitement de leishmaniose viscérale.
72-80-73-74

II.12 Premiers gestes et principes de traitement :

➤ Arrêt du médicament si apparition des signes de stibio-intolérance.

➤ Traitement symptomatique des différentes perturbations cliniques.

➤ Traitement antidotique: deux chélateurs sont proposés:

- Le BAL par voie parentérale à la dose de 3 mg/kg/6 heure le premier jour, 2 mg/kg/j/6 heures le deuxième jour et 2mg/kg/j/12H le 3ème jour.

- Le DMSA à la dose de 20 à 40 mg/kg/j en trois prises per os pendant 7 jours.⁸¹

II.13 Interactions médicamenteuses:

En l'absence d'études de compatibilité, ce médicament ne doit pas être mélangé avec d'autres médicaments.⁵⁰

Chapitre III :
Globule Rouge

III .CHAPITRE DES GLOBULES ROUGES

III.1 Les globules rouges :

Les globules rouges sont des cellules anucléées dont le constituant essentiel est une hémoprotéine de liaison de l'oxygène : l'hémoglobine (environ 14,5 g / 100 ml). Le rôle principal de ces cellules est d'assurer le transport de l'oxygène et du gaz carbonique entre les alvéoles pulmonaires et les tissus. Il y en a 4 à 5 millions par millimètre cube de sang, soit 25 milliards dans un organisme normal. Elles sont produites dans la moelle osseuse par les cellules souches hématopoïétiques et vivent normalement 120 jours, avant d'être détruites. Elles ont une forme de « disque biconcave », facilement reconnaissable, et une couleur rouge due à la grande quantité d'hémoglobine qu'elles renferment.⁹⁶

Tableau 3 : les valeurs normales du globule rouge par litre

Cellules	Homme	Femme	Enfant 1 an	Nouveau-né
Globules rouges	4,5 à $5,9 \times 10^{12}$	4 à 5.4×10^{12}	3.6 à 5×10^{12}	4 à 6×10^{12}

III.1.1 Structure du globule rouge :

Les globules rouges sont de petites cellules (7-8 micromètres) en forme de disque aplati dont les faces sont concaves. Le globule rouge n'a plus de noyau ni d'organites cellulaires: c'est essentiellement un sac rempli par un pigment de couleur rouge, *l'hémoglobine*. Classiquement, le globule rouge apparaît entre lame et lamelle sous la forme d'un disque biconcave, ils ressemblent à de tous petits beignes.^{97-98- 99}

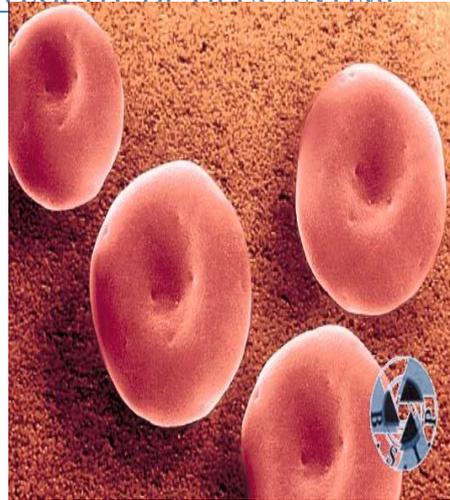
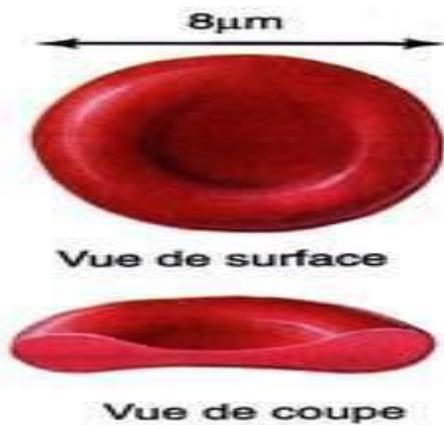


Figure 17: la structure du globule rouge

III.1.2 La membrane plasmique :

membrane associée a un cytosquelette bicouche phospholipidique avec enchâssement des protéines.

III.1.2.1 La structure de la membrane :

la membrane est constitué d'une bicouche lipidique sous laquelle est ancré un réseau bidimensionnel hautement organisé de protéines : le squelette. Ce squelette tapisse la face interne de la bicouche lipidique il est constitué de longs filaments de spectrine reliés entre eux par des complexes de jonction .ces complexes sont principalement composés d'actine filamenteuse, de protéines 4.1 et de trompomyosines.¹⁰⁰⁻¹⁰¹⁻¹⁰²

III.1.2.1.1 les lipides de la bicouche'

les lipides membranaires sont pour l'essentiel amphiphiles (une tête hydrophile et une queue hydrophobe composé d'une double chaine carbonée).la bicouche est composé de 55% de phospholipides, de 25% de cholestérols, de 18% de glycolipides (sphingoglycolipides) et 2% d'acides gras. Ces glycolipides sont essentiellement localisés dans le feuillet externe de la bicouche¹⁰³⁻¹⁰⁴

Les membranes sont constituées de trois espèces chimiques majeures¹⁰³ :

- Les phospholipides
- Le cholestérol
- Les protéines

III.1.2.1.1.1 .les phospholipides :

Les phospholipides forment une double couche d'environ 4,5 nm d'épaisseur enveloppant la cellule.

Leurs têtes polaires hydrophiles de structure variée liée à un squelette glycérol par une liaison phosphoester sont tournées vers l'extérieur de la membrane et leurs chaînes hydrocarbonées hydrophobes, comprenant 2 esters d'acide gras (les chaînes latérales).fixés aux 2 autres fonctions du glycérol, vers l'intérieur. Ils constituent avec les sphingolipides et les stérols l'une des 3 principales classes de lipides présents dans les biomembranes. Les acides gras composant les phospholipides naturels présentent de nombreuses positions possibles d'instauration et des longueurs de chaînes variables.¹⁰⁵

III.1.2.1.1.2 Le cholestérol :

le cholestérol qui est le principal rigidifiant des membranes en condition physiologique. Il augmente micro viscosité et le degré d'ordre. Il s'associe de préférence à certains phospholipides tels que la sphingomyéline.

III.1.2.1.1.3 les protéines membranaire :

La protéine bande 3 est le canal des anions mais comporte deux segments distincts : un segment dit cytoplasmique qui baigne dans le cytosol, porte l'extrémité NH₂ terminale et les sites de liaison avec le squelette membranaire via une protéine d'attache : l'ankyrine. L'autre segment qui porte l'extrémité C terminale est transmembranaire et constitue à lui seul le canal. Les deux segments sont indépendants l'un de l'autre . La bande 3 érythrocytaire fait partie d'une famille de protéines homologues trouvées dans d'autres cellules et dépendantes d'une famille de gènes, celui responsable de la synthèse de la bande 3 érythrocytaire étant situé sur le chromosome 17 . Les protéines homologues de la bande 3 érythrocytaire sont localisées dans les membranes cellulaires ou elles jouent le même rôle fonctionnel de canal anionique et de liens avec le cytosquelette. Elles existent notamment dans le tissu cérébral.¹⁰⁶

Ces protéines se caractérisent par leur position au sein de la bicouche lipidique .elles sont dites transmembranaires, c'est à dire qu'elles traversent la bicouche lipidique de part en part. elles possèdent donc une partie extracellulaire et une partie intracellulaire . ces protéines intégrales, dont les deux plus importants en nombre sont la protéine de la bande 3 et les sialoglycoprotéines, servent de point d'ancrage au squelette.

III.1.3 Squelette du globule rouge :

Le squelette du globule rouge est constitué de long filament de spectrine (200nm de longueur de contenu :longueur total d'un polymère définie comme la somme de la longueur de chacun des élément le constituant) reliés entre eux par de l'actine.la faible épaisseur du squelette,de l'ordre de 10 nm,fait qu'il peut être considéré comme bidimensionnel .¹⁰⁷

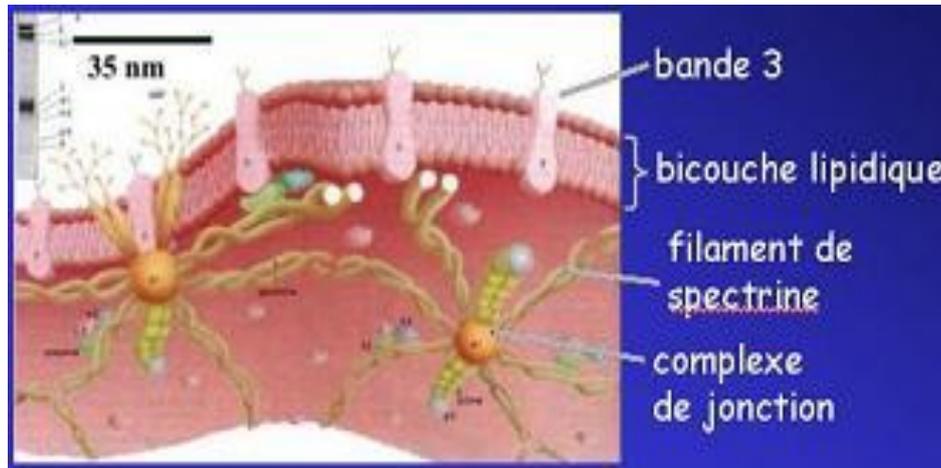


Figure 18: la membrane du globule rouge .

Le squelette du globule rouge a été visualisé par microscopie électronique.les image obtenue ont révélé une structure en réseau grossièrement triangulaire.chaque arête est constituée d'un ou plusieurs filaments de spectrine ,et chaque sommet correspond à un complexe de jonction

Ce squelette est responsable de la forme des globules rouges normaux et pathologiques.

Trois protéines, la spectrine, l'actine et la protéine 4.1 forment l'essentiel du squelette membranaire.

III.1.3.1 La spectrine

est le constituant principale du squelette. elle représente 75% de sa masse et ses propriétés élastiques en font un élément essentiel. la spectrine est une protéine hétérodimérique possédant deux chaînes alpha et beta, enroulées l'une sur l'autre en hélice pour former un dimère alpha et beta. les 2 brins ont un poids moléculaire respectivement de 240 KDa et de 220 KDa. ils sont formés par la répétition d'une sous-unité constituée de 106 acides aminés, répétée 22 fois dans la chaîne alpha et 17 fois dans la chaîne beta. chaque sous-unité est formée de trois hélices alpha, antiparallèles enroulées (triple-hélice antiparallèle coiled-coil). un dimère a une longueur de contour d'environ 100 nm et un diamètre de 5 nm. de plus, la spectrine au pH physiologique, est une protéine chargée négativement.¹⁰⁸

III.1.3.2 L'actine:

est un des trois constituants du cytosquelette de toute cellule et un élément essentiel de la contraction musculaire. Il existe plusieurs isoformes de l'actine. l'actine érythrocytaire est de type beta- nom musculaire. elle se présente sous forme de courts filaments formés par polymérisation de 12 à 17 monomères d'actine. ces filaments présentent une structure en double hélice et ont une longueur totale de 30 à 40 nm. la manière dont est régulée la longueur de ces filaments n'est pas comprise, mais la tropomyosine et la tropomoduline semblent y avoir un rôle. la F-actine est directement reliée aux filaments de spectrine, avec en moyenne six filaments de spectrine par complexe de jonction.¹⁰⁹

III.1.3.3 La protéine 4-1

ne se lie pas directement à la F-actine, mais sert de promoteur à l'association spectrine /actine, son rôle serait de stabiliser cette liaison après sa formation.

III.1.4 Les propriétés de la membrane plasmique :

III.1.4.1 La fluidité :

Les membranes plasmiques demeurent des structures fluides (les molécules ont si peu d'adhérence entre¹¹⁰

Elles qu'elles glissent les unes sur les autres) et la maintenance de la fluidité est un pré requis pour la fonction, la viabilité, la croissance et la reproduction des cellules. La fluidité membranaire est la réciproque (l'inverse) de la microviscosité membranaire qui est à son tour inversement

proportionnelle aux taux de diffusions latérales et de rotations des composants membranaires. En absence de contraintes, la plupart des lipides et des protéines non liés et non impliqués

dans les microdomaines diffusent librement dans le plan de la membrane avec des coefficients de diffusion élevés.

III.1.4.2 échange transmembranaire:

Les échanges à travers la membrane sont essentiellement de deux ordres : par diffusion simple, et par un processus actif agissant contre un gradient de concentration.

a) La diffusion simple : intéresse l'eau et les anions inorganiques et semble se faire à travers des pores de la membrane, dont le diamètre serait de l'ordre de 3,5 à 4,5 Å[°].¹¹¹⁻¹¹²⁻¹¹³

Le transport passif se à travers des «pores» de la membrane suivant le gradient de concentration des ions.

b) **Transport actifs:** différents types de transporteurs actifs primaires sont décrits dans la membrane du globule rouge. La pompe Na⁺/K⁺ permet le maintien d'une forte concentration intracellulaire en potassium (environ 140 mM) et d'une faible concentration en sodium (environ 10 mM).¹¹²

Les échanges des cations se font pour leur plus grande part, par mécanisme actif.

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 demande un apport énergétique fourni essentiellement par l'ATP, il agirait par une modification conformationnelle exposant alternativement des sites d'affinité pour le Na⁺ et le K⁺ vers les deux faces de la membrane, modification s'accompagnant d'un changement d'affinité des sites, tels que trois Na⁺ sont rejetés vers l'extérieur en échange de deux K⁺ maintenus dans l'intérieur.

Un second système d'échange constitue le cotransport Na⁺ K⁺. Ce système est bidirectionnel et transporte Na⁺ et K⁺ vers et en dehors de la cellule. Le passage d'un ion à travers la membrane est obligatoirement dépendant de la présence du second ion du même côté de la membrane.¹¹³

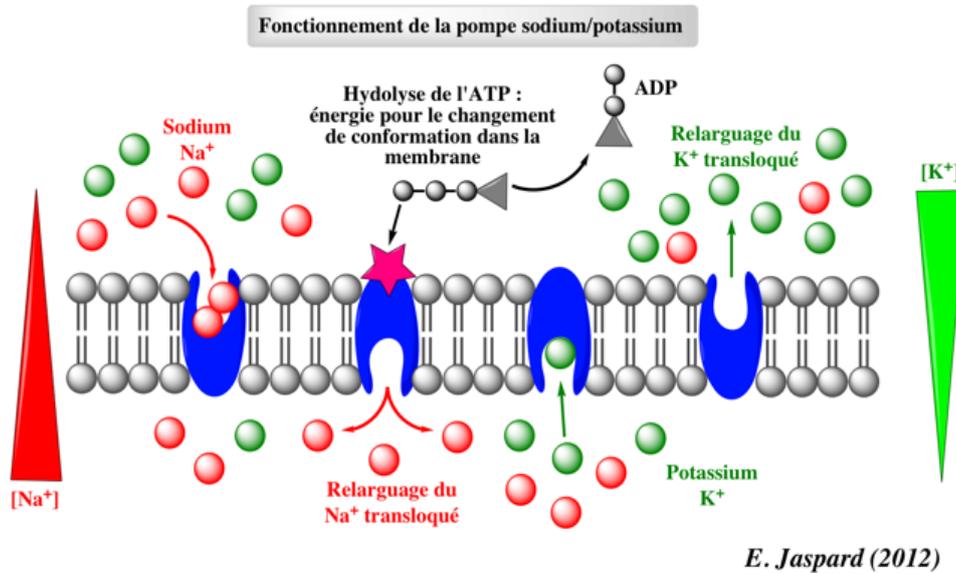


Figure 19 : les échanges transmembranaires

III.2 L'hémoglobine:

Il s'agit d'un tétramère composé de deux chaînes de type alpha et deux chaînes de type beta . Chaque sous-unité de globine est repliée dans une structure composée de 7 ou 8 hélices notées de A à H. Chaque sous-unité est associée à une molécule d'hème , site de liaison réversible de l'oxygène .¹¹⁴⁻¹¹⁵

Depuis longtemps, il était admis que les sous-unités alpha et beta s'associaient spontanément pour former le tétramère d'Hb. Cependant, il est connu que les sous-unités alpha sont produites en léger excès

L'hémoglobine est une protéine de poids moléculaire 69.000 daltons, pigment respiratoire contenu dans les hématies ; majeur constituant du Globule Rouge, elle est une chromoprotéine dont la principale fonction est le transport respiratoire . Elle assure le transport de l'oxygène des poumons plus précisément au niveau des alvéoles pulmonaires vers les tissus et du gaz carbonique des tissus vers les poumons. Elle est constituée de l'hème et de globine. La globine est constituée de l'association de quatre chaînes d'acides aminés et l'hème est constitué d'une molécule de porphyrine et d'un atome de fer qui est à l'état ferreux ce qui permet la fixation de l'oxygène.

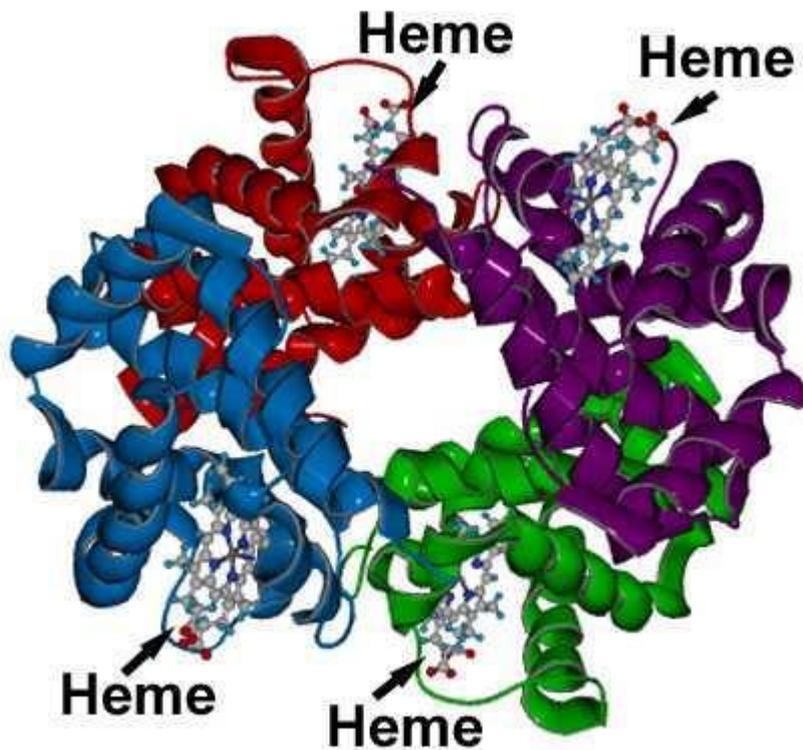


Figure 20: paires de chaînes polypeptidiques Contenant une porphyrine contenant un atome de FER

Les substances nécessaires à la formation de l'hémoglobine sont :

- Le fer ;
- Le cuivre ;
- La vitamine B 12 ;
- La pyridoxine (appelée également vitamine B6) ;
- La vitamine C ;
- L'acide folique ;
- Des protéines.

7/Données quantitatives: la numération globulaire :¹¹⁶

Tableau 4 : la numérotation globulaire

	Nb de GR	Hte	Hb
Homme	4.5 – 6.2 téra/l	40 – 54 %	13 – 18 g/dl
Femme	4 – 5.4 téra/l	35 – 48 %	12 – 16 g/dl
Enfant (1 an)	3.6 – 5 T/l	35 – 44 %	11 – 15 g/dl
Nouveau-né	5 – 6 T/l	44 – 62 %	16 – 22 g/dl

VGM de l'adulte = 80 - 100 fl (10 x Ht / Nb de GR)

TCMH = 27 - 32 pg (10 x Hb/ Nb de GR); correspond à la teneur ou masse d'Hb contenue dans un GR (peu utilisée).

CCMH = 32 - 36 g/dl (100 x Hb / Ht); correspond à la concentration de la solution d'Hb à l'intérieur du GR.

NB: Les valeurs normales de l'hémogramme sont toujours à interpréter selon l'âge et le sexe du patient.

Réticulocytes = 0.5 - 2% des GR, restent 02 à 03j après deviennent GR matures, et contiennent encore quelques organites. Leur taux va définir les capacités de régénération de la moelle osseuse.

III.3 L'hémolyse:

III.3.1.1 Définition :

L'hémolyse désigne le processus visant la destruction des globules rouges, ou hématies, par les macrophages. Ces derniers sont des globules blancs spécifiques, localisés au niveau du foie et de la moelle osseuse. Avec une durée de vie moyenne de 100 jours, l'hématie est ensuite recyclée pour produire de nouveaux globules rouges. Si elle est généralement normale, l'hémolyse peut devenir pathologique et entraîner la destruction prématurée des globules rouges. Certaines pathologies peuvent engendrer ce type de phénomène : un déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase, drépanocytose, thalassémie, coagulopathies, paludismemaladies auto-immunes...¹¹⁷

III.3.1.1.11. L'hémolyse intratissulaire :

Les globules rouges âgés, après une durée de vie normale de 120 jours, sont phagocytés par les macrophages de système de phagocytes mononucléés. Chez le sujet normal, la majorité des globules rouges sont détruits dans les macrophages de la moelle osseuse (minimum 50%).

Le reste de l'hémolyse se répartit dans l'organisme, en particulier dans la rate et le foie

Cette phagocytose porte sur des globules rouges dont le vieillissement s'est traduit par :
Des modifications biochimiques : diminution du contenu enzymatique, ralentissement métabolique, perte des lipides membranaire, phénomènes oxydatifs.

Des modifications morphologiques (tendance à la sphéricité par réduction de la surface membranaire et/ou hyperhydratation).

Des modifications de la plasticité (diminution de la déformabilité des globules rouges entraînant une stagnation dans les capillaires):

III.3.1.1.22. L'hémolyse intra vasculaire :

Une faible partie de l'hémolyse physiologique se déroule au sein même de la circulation sanguine. Dans ce cas l'hémolyse est libérée dans le plasma où elle forme un complexe avec l'haptoglobine, synthétisée par le foie. Ce complexe est capté par l'hépatocyte au niveau duquel l'hémoglobine est dégradée.¹¹⁸

III.3.1.2 Les hémolyses d'origine médicamenteuse:

Plusieurs médicaments d'usage courant sont capables de causer une anémie hémolytique par l'intermédiaire de l'un ou l'autre des mécanismes énumérés précédemment.

Les médicaments tels la phénacétine, sulfamides antihistaminiques et dans notre cas le Glucantime ont une toxicité directe sur le GR.¹¹⁹

III.3.1.3 4. LES MARQUEURS BIOLOGIQUES DE L'HEMOLYSE

Bilan biochimique. •

Au cours des hémolyses intra tissulaires : Augmentation des produits du catabolisme des GR:¹²⁰

- Bilirubine libre élevée.
- Augmentation du fer sérique.

- Augmentation de l'urobilinurie et stercobilinogène fécal.

Au cours des hémolyses intra vasculaires:

- hémoglobininémie plasmatique.
- Hémoglobininurie.
- Haptoglobine effondrée.
- Hémosidérinurie.
- la méthémalbumine est augmentée.

III.3.1.4 5. PARAMETRES BIOLOGIQUES AU COURS DE NOTRE ETUDE SONT POTASSIUM :

Au cours d'une hémolyse on a recouru à une augmentation des concentrations plasmatique du potassium due à la lyse membranaire du globule rouge¹²¹.

➤ LACTATE DESHYDROGENASE :

Le lactate déshydrogénase (LDH) est présente dans de nombreux organes, coeur, foie, muscle, rein. Elle catalyse la réaction suivante:

Acide pyruvique + NADH, H LDH acide lactique + NAD.

-Valeurs usuelles:

200 à 600 VU (cinétique UV à 37 oc par la méthode des plaques LDI-1 Vitros, lecture à 340 nm). De très nombreuses méthodes donnent des valeurs physiologiques des LDI-I inférieures à 250 U/l, tout en utilisant aussi des cinétiques à 37 oc avec lecture à 340 nm.

Variations pathologique

-Affections cardiaques

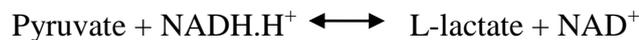
-Affections hépatiques

- Anémies: L'anémie pernicieuse présente des valeurs extrêmement élevées de LDH pouvant atteindre 8 000 à 10 000 U/l.

- Les anémies hémolytiques présentent des taux de LDH moins élevés de 1000 à 2 000 U/l.

Détermination de l'activité enzymatique du lactate déshydrogénase :

La réaction est directe:



La vitesse initiale d'oxydation du NADH est proportionnelle à l'activité catalytique de la LDH. Elle est déterminée par mesure de la diminution d'absorbance à 340 nra. .

Isoenzymes des LDH:

Le lactate déshydrogénase sérique possède Cinq variétés d'isoenzymes différentes qui peuvent être séparées par électrophorèse du sérum sur acétate de cellulose.

Ces isoenzymes résultent de l'association quatre par quatre de deux types de protomères (A et B).

LDH1 = B4 (20 %).

LDH2 = A1B3 (40 %).

LDH3 = A2B2 (20 %)

LDH4=A3B1(10%).

LDH5 =A4.(10%).

III.3.1.5 6. L'hémolyse pathologique :

Elle peut être due à deux mécanismes principaux :¹²²

Soit une anomalie du globule rouge : hémolyses corpusculaires ou globulaires.

Soit à une agression extrinsèque des hématies : hémolyse extra corpusculaires

III.3.1.6 7. Diagnostique de l'hémolyse:

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

Taux sérique accru 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) ¹²²

Chapitre IV:
Albumine

IV Introduction :

L'albumine est sans doute l'une des premières protéines découvertes, puisque ses propriétés physiologiques ont été reconnues à l'époque d'Hippocrate vers l'an + 400 .¹²³

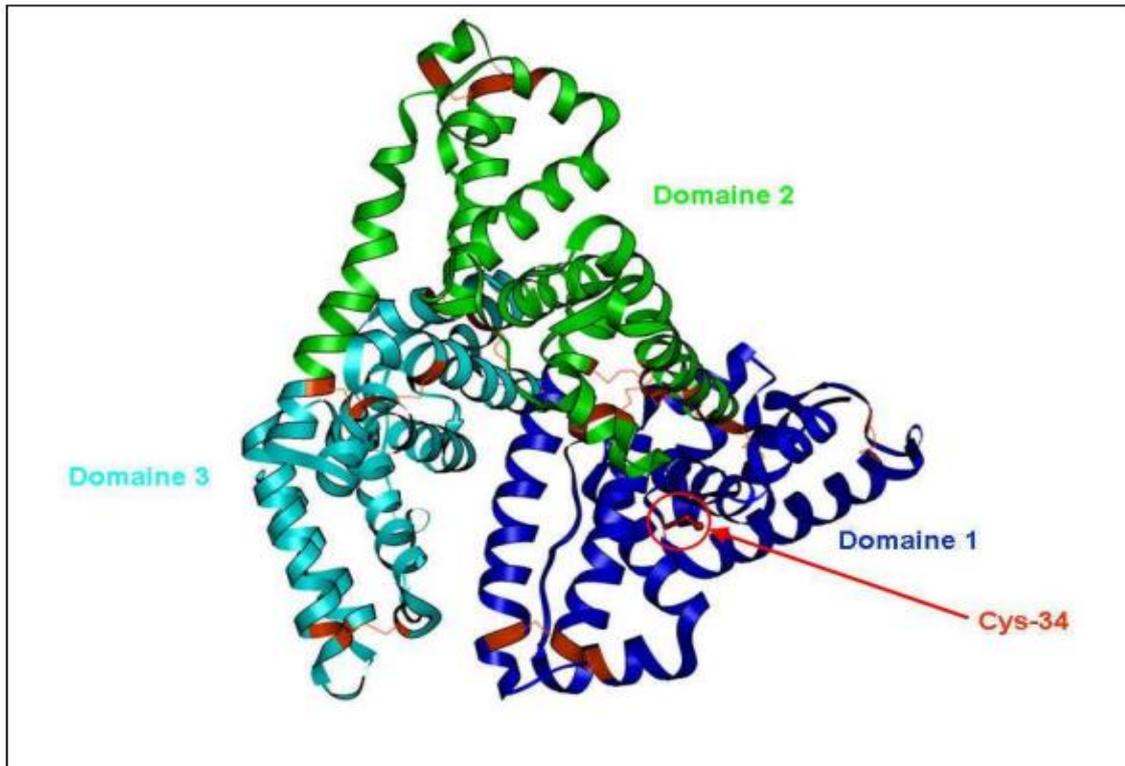
C'est probablement la protéine la plus étudiée, dans la mesure où ses multiples fonctions ont intéressé des générations de biologistes, biochimistes, chimistes, physiciens et pharmacologistes depuis plus de 150 ans, à commencer par C. Denis qui fut le premier à isoler cette protéine par dialyse en 1840. C'est la protéine soluble la plus abondante chez les vertébrés et la plus importante dans le plasma avec une concentration se situant entre 35 et 50 g/L.¹²⁴

IV.1 Structure

La structure de l'albumine permet d'expliquer ses fonctions multiples et son rôle dans l'organisme. Cette structure est identique chez tous les individus de l'espèce humaine mais présente des différences de séquence avec celles des autres espèces animales. Ainsi, la sérum albumine bovine (SAB) et humaine (SAH) ont une étroite homologie dans la séquence polypeptidique ainsi que dans leur structure.

La structure primaire consiste en une chaîne polypeptidique de 585 et 583 acides aminés respectivement pour la SAH et la SAB. Les seules différences résident dans la substitution de plusieurs résidus ayant cependant des propriétés hydrophobes identiques n'affectant en rien la structure tridimensionnelle de la protéine .¹²⁵ Parmi leurs 35 résidus cystéine, un seul d'entre eux (Cys34) se trouve à l'état réduit et n'est donc pas impliqué dans l'édification de liaisons disulfures.

La structure, constituée de 3 domaines homologues divisés en 9 boucles (sous domaine) dont la stabilité est assurée par les 17 ponts disulfures, confère à la protéine une certaine flexibilité . La forme hélicoïdale (hélice α) représente 67% de la structure secondaire, tandis que la forme en feuillet β est totalement absente à l'état natif.



1Figure 21: Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures

Les 17 ponts disulfures qui assurent la stabilité de la structure tertiaire de la protéine à température ambiante et à pH neutre, n'empêchent pas des modifications significatives de taille et de forme en fonction de la variation de ces deux paramètres physiques.¹²⁵ Par exemple, la SAB présente des changements de conformation spatiale (isomérisation) en fonction du pH, qui peuvent être attribués à des ruptures d'interactions de type ionique suite au changement de pH (Figure 16). En particulier, un pH de 4,5 marque une transition entre la forme native (N) de la protéine et la forme « fast » (F) pour laquelle une diminution des structures en hélice est observée avec la diminution du pH, la structure est de plus en plus étirée.¹²⁵

Comme la plupart des protéines globulaires, l'albumine présente une tendance à s'agréger sous forme de complexes macromoléculaires lorsque la protéine est soumise à une augmentation de température¹²⁶. L'agrégation thermique de la SAB se caractérise par des changements conformationnels de sa forme native constituée majoritairement par des hélices α vers une structure enrichie en feuillet β .

Ces changements peuvent être modulés par la concentration de la protéine, la valeur du pH, la température et le temps du traitement thermique, mais également par la présence ou l'absence de métaux de transition tel que le cuivre (Cu^{2+}) ou le Zinc (Zn^{2+}). Par exemple, la dénaturation de la SAB par traitement à 80°C est réversible quel que soit le pH, tandis que les modifications sont irréversibles lorsque la protéine est traitée de façon durable à 60°C .¹²⁷

De plus, de nombreux travaux ont pu mettre en avant l'implication du seul résidu cystéine libre (Cys34) dans le processus d'agrégation thermique. En effet, le blocage de ce résidu avec de l'iodoacétamide, ou du glutathion empêche la formation de liaisons intermoléculaires et ainsi la formation d'agrégats.

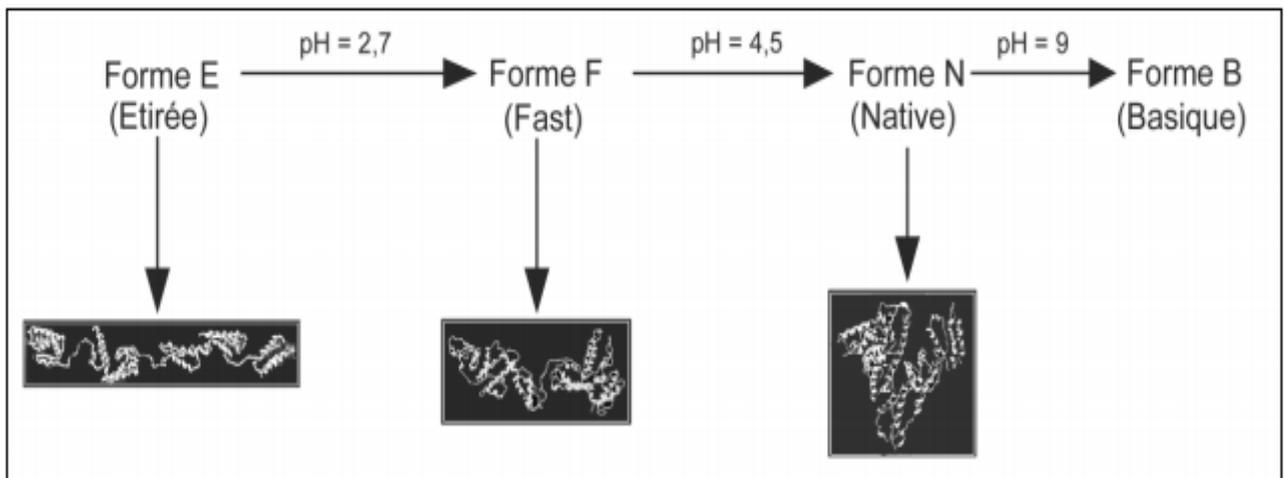


Figure 22: Différents isomères conformationnels de la SAB en fonction du pH

Comme la plupart des protéines du plasma, l'albumine possède un pH isoélectrique (pHi) très acide, dont la valeur est variable en fonction de la nature des molécules qui sont fixées. Il varie de 4,8 lorsque elle est associée aux acides gras, à 5,28 lorsqu'elle est liée à des substances non lipidiques.¹²⁸ Son pHi étant inférieur au pH du plasma cette protéine se comporte in vivo comme un anion.

Contrairement aux autres protéines du plasma (immunoglobulines, transferrine, fibrinogène...), l'albumine présente la plus faible masse moléculaire autour de 66 438 Da et 66 411 Da pour respectivement la SAB et la SAH.¹²⁹

IV.2 Fonction : formation, distribution et rôles

Des travaux sur foies de rats isolés et perfusés ont démontré que la biosynthèse de l'albumine a lieu exclusivement au niveau du foie¹³⁰. D'autres études, utilisant des techniques d'immunocytochimie, ont montré que tous les hépatocytes synthétisaient l'albumine.¹³¹

Chez l'homme, l'albumine a une demi-vie voisine de 3 semaines¹³². La synthèse journalière s'établit à 120 mg.kg-1 soit 8 à 10 g pour un adulte de 70 kg. Cette production correspond à un renouvellement quotidien de 4 à 6 % de la protéine. La quasi-totalité de l'albumine synthétisée (99,9 %) va directement dans le plasma sanguin où elle effectue environ 15 000 passages dans le système circulatoire entre sa synthèse et sa dégradation. L'importance conférée à cette protéine est particulièrement due à la multitude de rôles bénéfiques : au niveau circulatoire, au niveau du transport d'un large éventail de métabolites qui lui a donné la réputation de « tramp steamer » du système circulatoire¹³³ ainsi qu'au niveau de son rôle protecteur.

IV.2.1 Rôles circulatoires

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.

Elle y contribue de façon disproportionnée, à cause de sa faible masse moléculaire (67 kDa) par rapport aux globulines du plasma dont la masse moléculaire moyenne est autour de 170 kDa, mais également à cause de son faible point isoélectrique (pHi = 4,7) qui confère à la protéine une charge nette négative à pH 7.4 (pH sanguin) contribuant ainsi à l'équilibre de Donnan.¹³⁴

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.

C'est le cas chez les enfants atteints par la maladie de kwashiorkor affectant principalement les régions pauvres d'Afrique où les enfants sont victimes de¹³⁵

IV.2.2 « Le transporteur »

La deuxième grande fonction de l'albumine est liée à ses capacités de transport et de fixation de petites molécules de tout type.¹³⁶ 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 dont la liste est détaillée dans le tableau 2. La protéine transporte notamment des molécules endogènes telles que les acides

gras (AG), des ions métalliques (Ca^{2+} , Cu^{2+} ...), des hormones thyroïdiennes (Thyroxine ou T4) et stéroïdes, mais également des acides aminés tels que le tryptophane et la cystéine .

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.

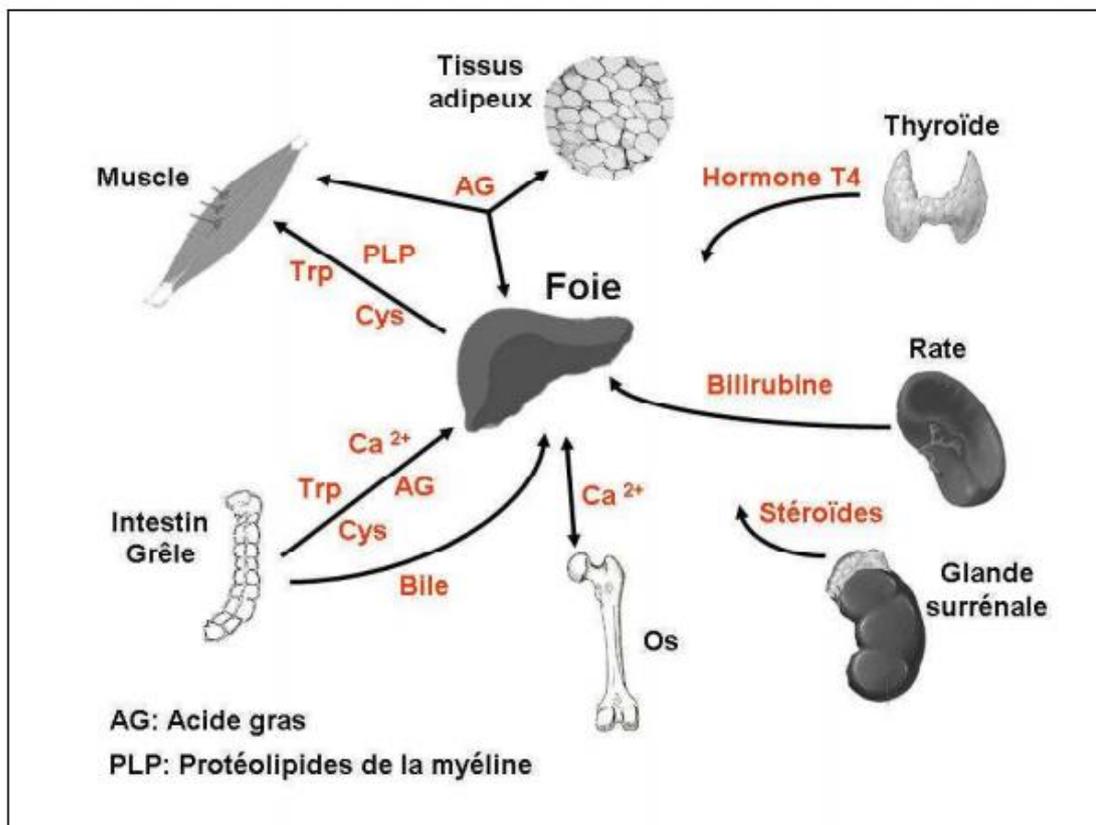


Figure 23: Les voies de transport des métabolites par l'albumine¹⁵⁶

De façon générale, l'albumine sert tout d'abord, à transporter ces différents composés peu ou pas hydrosolubles, ensuite à les protéger d'un catabolisme excessif et ainsi constituer des formes de réserves circulantes, inactives tant que les substances sont liées, mais immédiatement utilisables dès que détachées de l'albumine.¹³⁷

IV.2.3 Le protecteur

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 qui forme un thioéther, le S-phénylcystéine, avec le seul résidu cystéine réduit (Cys34).¹³⁸

Mais également l'aflatoxin G1, un carcinogène largement répandu qui est directement pris en charge par la protéine pour être détruit au niveau du foie. De manière similaire, l'albumine prend en charge la bilirubine, produit de dégradation de l'hémoglobine, qui sous forme libre peut devenir fortement toxique. Mais la protéine assure son transport jusqu'au foie où elle va être conjuguée à l'acide glucoronique et ainsi être inoffensive.

Enfin, de nombreuses drogues à visées thérapeutiques sont séquestrées par l'albumine afin de contrôler à la fois leur libération et leur concentration et faire ainsi office de réservoir pour une action durable.

IV.2.4 Les propriétés antioxydantes

L'albumine représente l'antioxydant majoritaire du plasma, un compartiment du corps fortement sollicité par le stress oxydatif. La plupart de ses propriétés antioxydantes est attribuée à sa capacité de fixation de nombreux ligands, par l'adaptabilité de sa structure.

De plus le seul groupement thiol libre au niveau du résidu Cys34 de l'albumine lui confère des capacités supplémentaires de fixation et la possibilité de piéger des radicaux libres

IV.2.4.1 Fixation de ligands

Parmi les ligands de type cationique, les métaux de transition tels que le cuivre (Cu^{2+}) et le fer (Fe^{2+}) méritent une attention particulière dans la mesure où ils participent à la formation de radicaux peroxydes qui ont des effets délétères dans l'organisme. En effet les ions (Cu^{2+}) et (Fe^{2+}) peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon la réaction de Fenton qui en présence de composés organiques (R-H) génère des ROS selon les réactions suivantes:

Même si les ions (Fe^{2+}) sont à une concentration physiologique plus importante, les ions (Cu^{2+}) réagissent plus rapidement (60 fois) avec H_2O_2 pour former des radicaux hydroxyle (OH^\cdot)¹³⁹ Fixés à l'albumine, ces ions métalliques sont moins susceptibles de participer à la réaction de Fenton et ainsi générer des radicaux oxygénés. En effet, la protéine est capable de

neutraliser les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) produits par cette réaction¹⁴⁰. Le radical OH^\bullet est une espèce très réactive, de courte demi vie et avec un faible rayon d'action, mais capable d'oxyder les protéines, l'ADN ainsi que les lipides.

Dans le plasma, ces métaux sont également fixés par d'autres protéines comme la transferrine, la lactoferrine pour le fer et la céruplasmine pour le cuivre et le fer. Mais une grande partie de ces métaux est liée à l'albumine, notamment dans le cas de la maladie du métabolisme du fer comme l'hémochromatose ou la thalassémie conduisant à une surcharge en fer.¹⁴¹

Certaines albumines comme la SAH et la SAB contiennent un site spécifique de forte affinité pour le Cu (II) endogène, ainsi que pour le Nickel Ni (II). Les 4 premiers acides aminés de la partie N-terminale de la protéine, AspAla-His-Lys (DAHK) forment ce site de liaison. De nombreux travaux ont d'ailleurs mis en avant l'importance de ce site (DAHK) dans la prévention de la formation de radicaux hydroxyles induite par le cuivre. En effet, parmi ces études, Bar-Or a montré que des polypeptides ayant la partie N-terminale analogue à la SAH (DAHK), ont également la capacité de séquestrer le Cu (II) et d'empêcher ainsi la formation de ROS ou bien la coupure oxydante de l'ADN double brin.

Il faut noter que certaines études ont montré le rôle chélateur de métal des résidus méthionine. En effet, le blocage de ces résidus par du N-ethylmaleimide (NEM) ou par de lachloramine T induisent une diminution des propriétés protectrices de l'albumine et de sa capacité de fixation des ions cuivre.¹⁴² Pour d'autres albumines (porc, chien, poulet...), la substitution, dans le site DAHK, de l'histidine His3 par une tyrosine empêche la fixation de ces métaux sur ce site terminal



Un second site de fixation du Cu (II) a été caractérisé dans la forme bovine et humaine de l'albumine, et a été localisé dans la région de contact entre les domaines I et II de la protéine. Ce second site n'est pas spécifique au Cu (II) puisque de nombreux métaux comme Ni (II), Zn (II) ou Cd (II) peuvent s'y lier avec des affinités comparables.¹⁴³

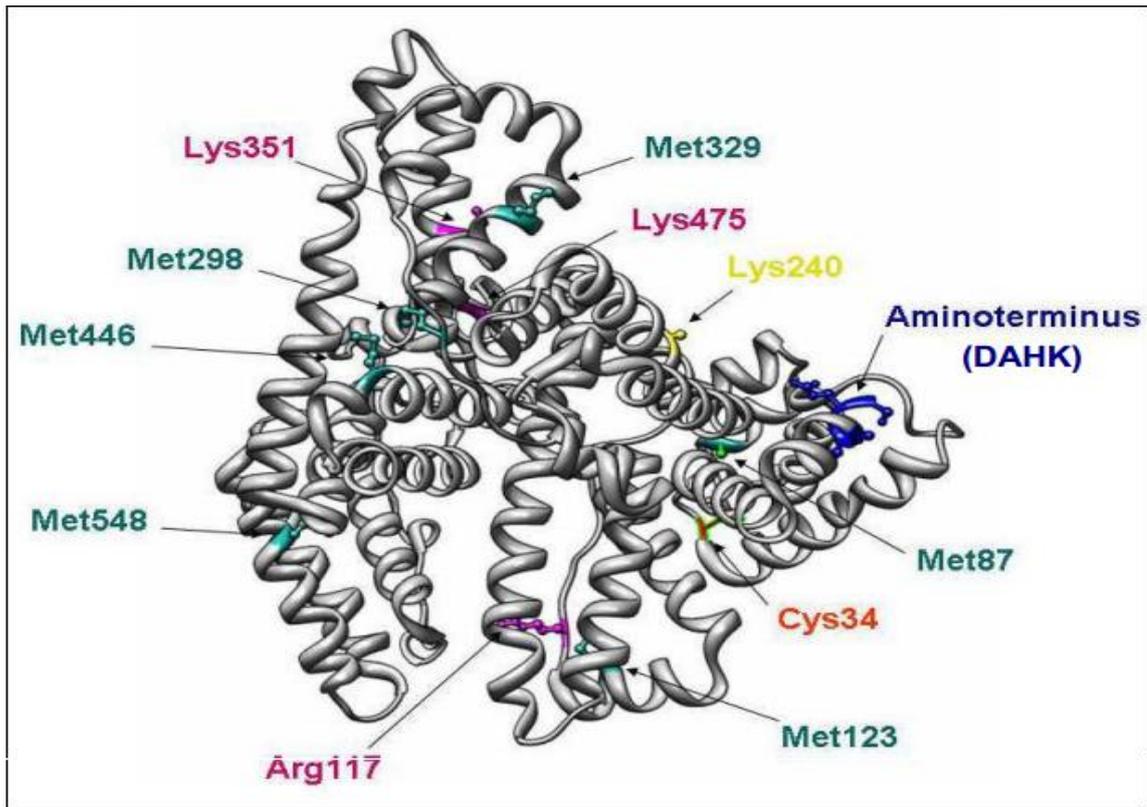


Figure 24 : Principaux sites de l'albumine impliqués dans son activité antioxydante¹⁵⁷

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.¹⁴⁴

Ce pigment rouge est lié à la protéine au niveau du résidu Lys240 et protège à la fois contre l'altération de l' α -tocopherol induit par les radicaux peroxydes et contre la peroxydation lipidique des LDL.¹⁴⁵

Concernant la peroxydation lipidique, celle-ci peut être initiée par un système comprenant des radicaux superoxydes en présence de fer chélaté. L'albumine bovine inhibe cette peroxydation au niveau des membranes des liposomes phosphatidycholine en empêchant l'interaction entre le fer chélaté avec la membrane.¹⁴⁶

Parmi les lipides, les acides gras polyinsaturés (AGPI) constituent une importante partie des composés biologiques oxydables du plasma. Ces AGPI sont des graisses protectrices contre les maladies cardio-vasculaires qui favorisent la baisse du taux de cholestérol porté par les lipoprotéines de basse densité (LDL). L'albumine possède trois principaux sites de forte

affinité pour ces acides gras au niveau des résidus Lys351, Lys475 et Arg117 dans les poches hydrophobes.

Il apparaît que les AGPI liés à l'albumine peuvent être protégés de la peroxydation lipidique par la proximité d'antioxydants (bilirubine) également fixés à la protéine.

La protéine plasmatique a également la capacité de se lier à l'homocystéine, un acide aminé soufré résultant du catabolisme de la méthionine. Un niveau important d'homocystéine dans le plasma sanguin contribue à un stress oxydatif au niveau des tissus avec la formation de ROS fortement impliqués dans le développement de l'athérosclérose. Le piégeage de l'homocystéine par l'albumine permet d'atténuer ces phénomènes délétères.¹⁴⁷

IV.2.4.2 Cys34, piègeur de radicaux libres

Chez un adulte normal, environ 70-80 % du résidu Cys34 de l'albumine est à l'état réduit (S-H), le reste est sous forme de liaison disulfure (S-S) avec plusieurs composés soufrés comme la cystéine, l'homocystéine et le glutathion. Le groupement -SH de l'albumine représente un site de protection antioxydant, contre les radicaux libres hydroxyles OH⁻ et contre des agents oxydants et nitrants puissants comme le peroxy-nitrite NO³⁻ et l'oxyde nitrique NO.¹⁴⁸

En effet l'oxydation du résidu Cys34 (RSH) par le radical hydroxyle ou par le peroxy-nitrite entraîne la formation d'acide sulfénique (RSOH) qui représente le principal intermédiaire dans la modulation du statut redox. Ce dernier est notamment impliqué dans la formation de disulfide (RSSR), attestant du rôle régulateur du résidu Cys34 de l'albumine humaine dans le compartiment extracellulaire. D'autre part, de nombreux travaux ont pu montrer que la présence d'un seul groupement thiol permet la protection totale de l'albumine contre les radicaux peroxydes (ROO⁻) et empêche la formation d'hydroperoxyde au niveau de la protéine.¹⁴⁹

IV.2.4.3 L'albumine, « l'éponge » à oxydants

L'albumine humaine possède six résidus méthionine, particulièrement sensibles à l'oxydation et entraînant la formation de méthionine sulfoxide en présence d'une grande variété d'oxydants. Il a été observé que l'oxydation préférentielle des résidus méthionine (Met) chez des enzymes, comme la glutamine synthétase, n'affecte en rien leur fonction biologique. A partir de ces résultats, Levine et al proposent que les résidus Met des systèmes

biologiques, soumis à des cycles de réduction et d'oxydation, peuvent servir de système de neutralisation des ROS¹⁵⁰..

Au niveau de l'albumine, les résidus Met peuvent servir « d'éponge » à oxydants et protègent ainsi la protéine de modifications plus importantes.

L'acide hypochloreux (HOCl) est un puissant oxydant qui peut inactiver plusieurs cibles biologiques et préférentiellement l' α 1-antiprotease qui régule l'activité élastase pancréatique. L'albumine peut piéger l'acide hypochloreux et ainsi empêcher complètement l'inactivation de l' α 1-antiprotease.¹⁵¹

A travers des études in vivo et in vitro, la protéine plasmatique aurait également d'autres potentialités comme la capacité de se lier à des cellules et induire un changement phénotypique¹⁵² L'albumine joue ainsi un rôle important dans la captation cellulaire des acides gras à longue chaîne¹⁵³ mais inhibe également la différenciation adipocytaire sans en affecter la prolifération .¹⁵⁴

De plus, elle contribue au niveau de ces modèles cellulaires in vitro (3T3-L1, préadipocyte) à la production de cytokines proinflammatoires mais également in vivo au niveau des cellules rénales .¹⁵⁵

Partie pratique

I.Problématique :

Les dérivés pentavalents de l'antimoine, dont le Glucantime®, reste le traitement de première intention de la leishmaniose en Algérie. Toutefois, ce choix thérapeutique expose aux risques d'effets toxiques parfois graves en raison de la marge thérapeutique étroite de cette molécule.

Par ce modeste travail nous voulons savoir si l'albumine diminue la toxicité de la Glucantime.

II.But :

Le but recherché via notre travail est de diminuer la toxicité du Glucantime® en administrant la solution de l'albumine.

III.Objectif :

Etudier et évaluer in vitro l'effet de la sérum-albumine sur la toxicité de l'antimoine de N méthyl de glucamine (Glucantime®) par l'utilisation d'un modèle universel de cellule humaine qui est le globule rouge.

*Matériel et
Méthode*

Pour assurer la faisabilité de l'étude et avoir de l'aide au cours de la réalisation de ce modeste travail, l'équipe médicale et paramédicale du service de biochimie a été suffisamment informée sur notre sujet d'étude.

V.1.Type, lieu et calendrier 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 d'Octobre 2016 jusqu'au Mai de l'année 2017.

V.2.Matériel du laboratoire:

V.2.1 :Appareils : (figure 25)

+ Ionomètre :

sert au dosage des ions K^+ , Ca^{+2} et Na^+



Figure 25 : Ionomètre

+ Spectrophotometre : Appareil qui permet de mesure de l'absorbance d'une solution en fonction de la longueur d'onde à fin de déterminer sa concentration selon la loi de Beer Lambert, l'absorbance est proportionnelle à la concentration des solutions diluées.(figure26)



Figure 26 : spectrophotomètre

✚ Centrifugeuse : (figure 27)



Figure 27 : Centrifugeuse

✚ Vortex : pour homogénéiser les solutions.(figure28)



Figure 28 :vortex

✚ Automate SIEMENS
Dimension Rxl Max®
(figure 29)



Figure 27 : Automate SIEMENS Dimension RxlMax®

✚ **Agitateur magnétique** : L'agitateur magnétique permet l'homogénéisation de la solution de travail (figure 30)



Figure 28 :agitateur mécanique

☞ Autres matériels :

- Des tubes à l'EDTA et à l'Héparinate de sodium;
- Des tubes secs;
- Des pots stériles;
- Des seringues : 10 ml, 5 ml;
- Coton;
- Sparadrap;
- Alcool;
- Un bécher;
- Une fiole jaugée: 200 ml
- Des micropipettes : 1ml, 5ml
- Une éprouvette;
- Des cuves;
- Un chronomètre;
- Une poire;
- Des embouts (bleus et jaunes);
- Des étiquettes pour marquer les tubes.

V.2.2 Réactifs et solution de travail :

1- **L'albumine** : commercialisée sous forme de solution à 20%

2- **Glucantime (dilué 1/10)**

3- **Folin 1N**

4- **Biuret**

5- **Solution de lavage glacée** : 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.

• **Préparation d'une solution NaCl 150 m. mole :**

A partir de La solution mère 1 molaire du NaCl du poids moléculaire 58,44 g/mole on a préparé IL d'une solution NaCl de 150 mmole/l.

• **Préparation d'une solution mère de MgCl₂ à 1 mole/L:**

Pour préparer 50 ml solution du MgCl₂ du poids moléculaire 203,3 g/mole, on a calculé la quantité du MgCl₂ pour 50 ml (203,3/20): 10,165g, alors on a pesé cette quantité puis ajusté avec de l'eau distillée jusqu'à 50ml.

6-**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).

Préparation de solution mère:

On mélange:

$$80,2 \text{ ml de Na}_2\text{HPO}_4 + 19,8 \text{ ml de NaH}_2\text{PO}_4 = 100\text{ml}$$

• On ajoute 100ml de l'eau distillée pour obtenir une solution mère tampon 0,1 molaire.

• Donc le volume est de 200ml à pH 7,4

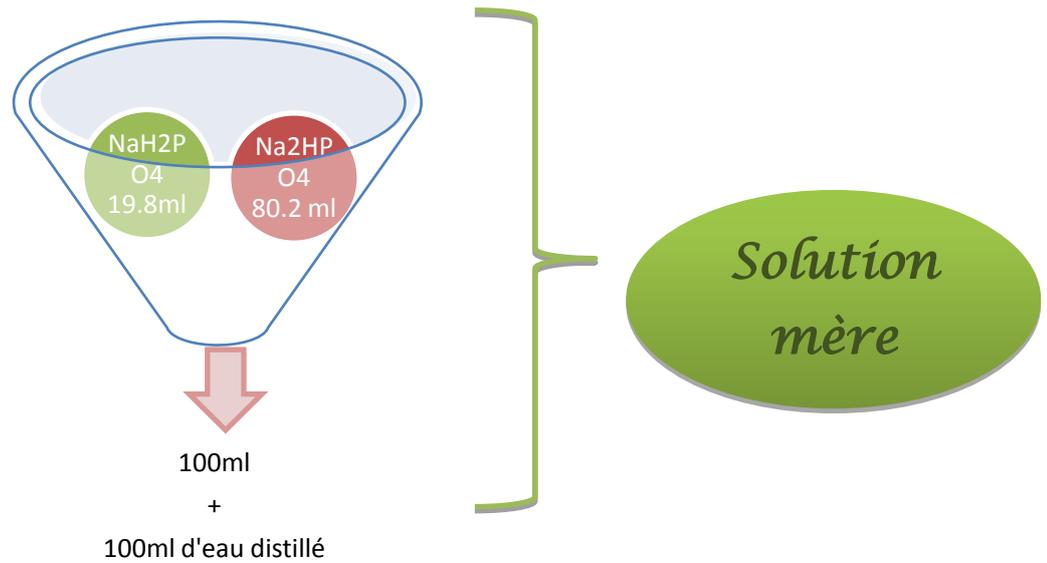


Figure 29 :Préparation de la solution mère

Préparation de la solution fille : on a mélangé 10 ml solution mère avec 14ml NaCl et 2ml MgCl₂ puis on ajuste à 1 00ml avec de l'eau distillée.

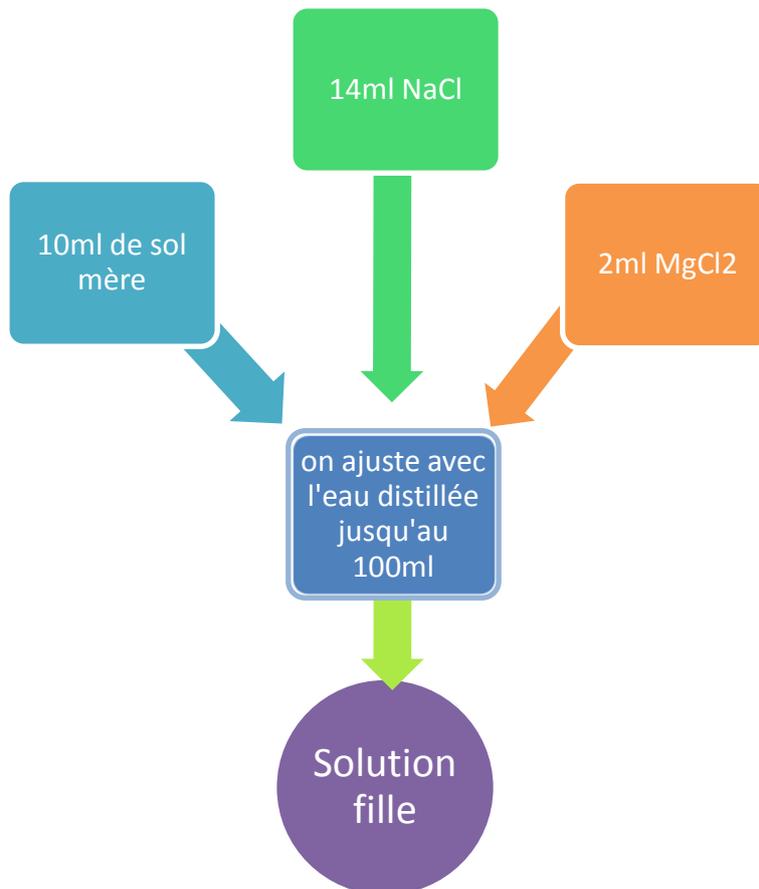


Figure 30:préparation de la solution fille

4.Déroulement de l'étude et recueil des données :

Les tests ont été effectués à partir d'échantillons de sang d'un donneur sain n'ayant pris aucun traitement.

La récolte des données s'est faite d'une manière active après un travail de palliase qui comporte plusieurs manipulations.

5.Les paramètres étudiés sont:

- ✚ Dosage de la concentration du potassium par l'ionomètre,
- ✚ Dosage de l'hémoglobine par méthode spectrophotométrique,
- ✚ Dosage des protéines membranaires par la méthode de Lowry,
- ✚ Dosage de la LDH.

6.Mode opératoire :

6.1 Préparation de l'échantillon :

6.1.1 Prélèvement :

On réalise un prélèvement sanguin sur un volontaire sain à jeun à l'aide d'une seringue de 10 ml.

Cet échantillon de sang ne doit pas être hémolysé pour ne pas fausser les résultats, donc on doit éviter toute manipulation inappropriée, par exemple: l'agitation excessive des tubes, l'aspiration trop rapide du sang au cours du prélèvement, la pose prolongée d'un garrot.

- On partage ce volume de sang (10 ml) en deux parties égales dans :
 - Un tube EDTA: pour faire une FNS (dans le but de s'assurer que les cellules érythrocytaires ne présentent aucune anomalie et qu'elles soient dans les normes).
 - Un tube à l'héparinate de sodium pour effectuer nos tests.

6.1.2 Préparation de suspension du travail:

- Centrifugation du tube hépariné pendant 5 minutes à 4000 tr /min;
- Marquer le niveau du plasma;
- 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 légèrement ; c'est notre échantillon qu'on va étudier ;
- Faire une 2^{ème} FNS pour s'assurer qu'il n'y a pas une hémolyse mécanique.

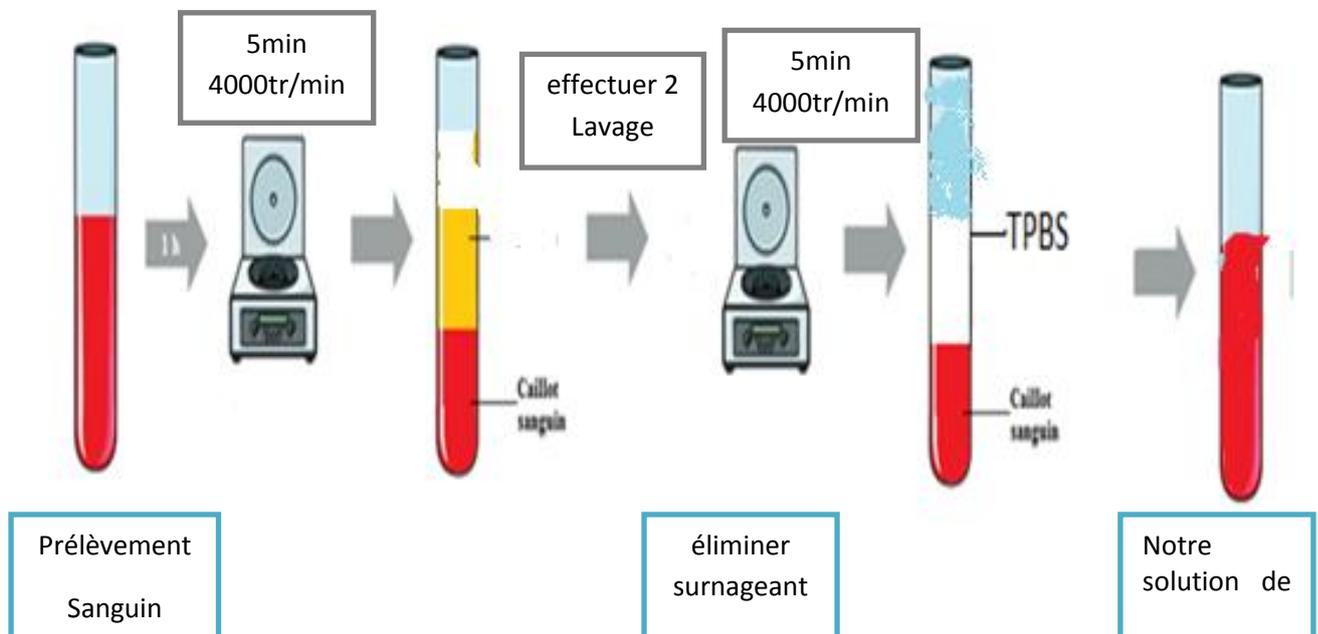


Figure 31 : préparation de la solution de travail.

6.1.3 Préparation des suspensions cellulaires:

nous avons introduit dans un bécher à l'aide d'une pipette:

- 63 ml T.PBS + 3 ml suspension mère.
- Au total on a un volume de 66 ml, c'est la solution fille de travail.
- nous préparons 9 tubes correspondant au 3 temps (TO, T45, T90) de dosage dont nous allons faire nos lectures.
- Dans chaque tube nous mettons 3 ml d'une solution de lavage

Les 13 premiers tests sont effectués avec une dose de 75µl du Glucantime® :

A : 17,8ml de la suspension cellulaire mère + 3ml de sérum albumine humaine + 200µl TPBS.

B : 17,8ml de la suspension cellulaire mère + 3ml TPBS + 75 µl Glucantime®.

C : (3 ml du sérum d'albumine humaine + 75µl de la Glucantime®.) après pré incubation de 10min on rajoute 17,8 ml de la suspension cellulaire mère

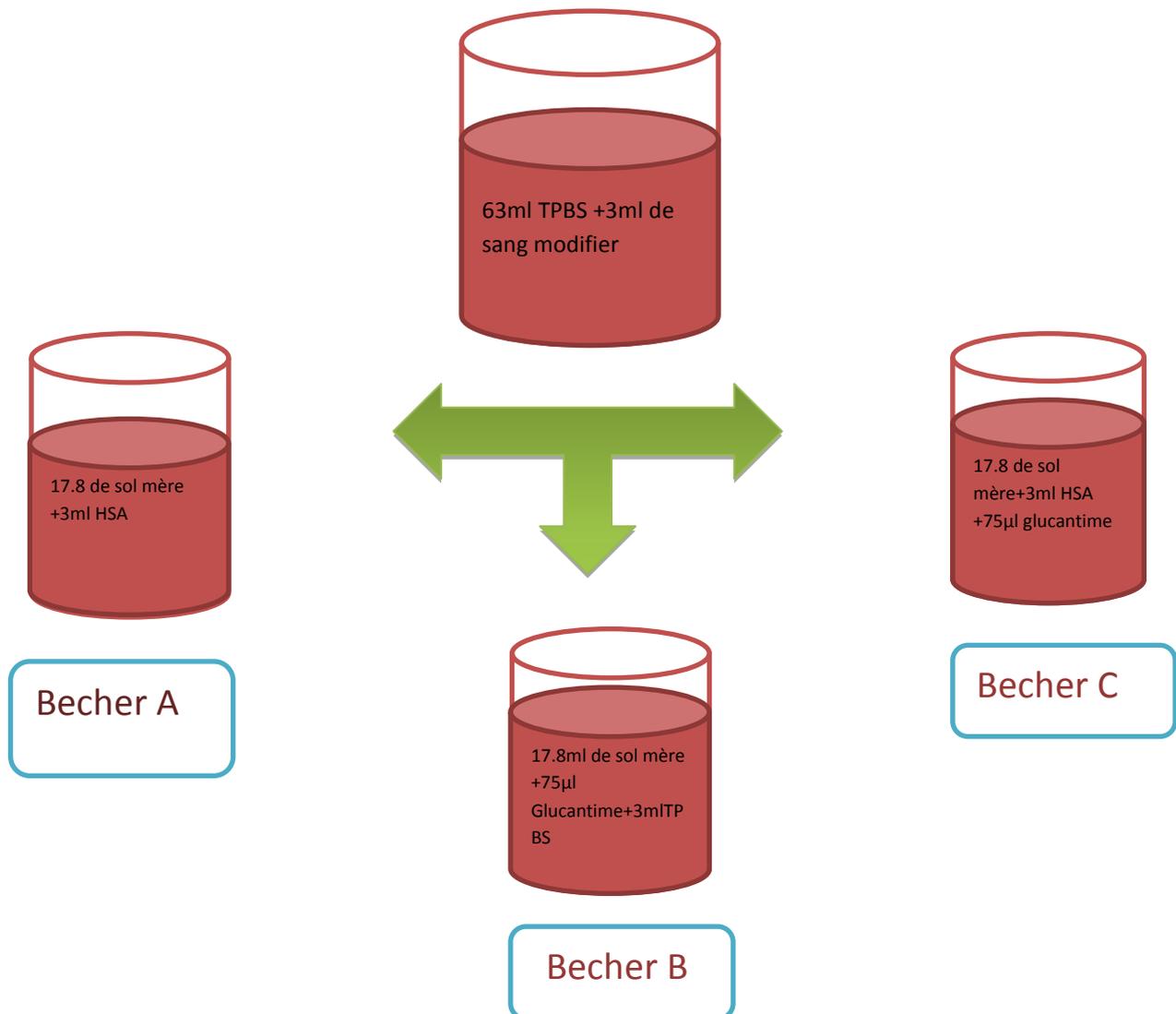


Figure 32 :préparation du suspension

6.1.4 Les tubes à tester :

On prépare à chaque instant T (T0 ; T45 ; T90) 3 tubes : 1,2 et 3 (points test).

Nous avons met dans chaque tube 3ml de la solution de lavage glacée;

- ✓ Nous introduisons dans chaque point test, 2 ml de suspension cellulaire fille, On centrifuge chaque tube au temps précis (4000 tr/min pendant 5 min) pour chaque tube préparé On sépare le surnageant du culot ;
- ❖ Le surnageant pour le dosage de l'Hb par méthode spectrophotométrie
- ❖ le culot : On récupère le culot dans 1 ml d'eau distillée puis on le vortex afin de lyser les cellules pour doser les ions [K⁺] à l'aide d'un ionomètre , LDH et les protéines par méthode de Lowry.

Méthode de Lowry :

Cette méthode a été développée par Lowry et al (1951) qui ont combiné une réaction au biuret et une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, à base de phosphomolybdate et de phosphotungstate, réagit avec les tyrosines et les tryptophanes, pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle du biuret.

Dosage de LDH :

La méthode de la lactate déshydrogénase (LDI) est un test de diagnostic in vitro pour la mesure quantitative de la lactate déshydrogénase totale dans le plasma et le sérum humains sur le système de chimie clinique Dimension®

La méthode Dimension® LDI a été standardisée sur la base de la méthode de référence primaire de la lactate déshydrogénase (LD) de la fédération internationale de chimie clinique (IFCC) à 37°C, adaptée au système de chimie clinique Dimension®

Principe de la méthode :

En guise de substrat, la méthode LDI utilise un tampon de L-lactate d'un pH de 9.4. La lactate déshydrogénase oxyde le substrat en présence de NAD⁺ afin de produire du pyruvate et

du NADH qui absorbe a 340nm. La concentration d'activité de la lactate déshydrogénase est mesurée en tant que réaction cinétique à 340/700nm ,proportionnelle à la quantité de lactate déshydrogénase présente dans l'échantillon .

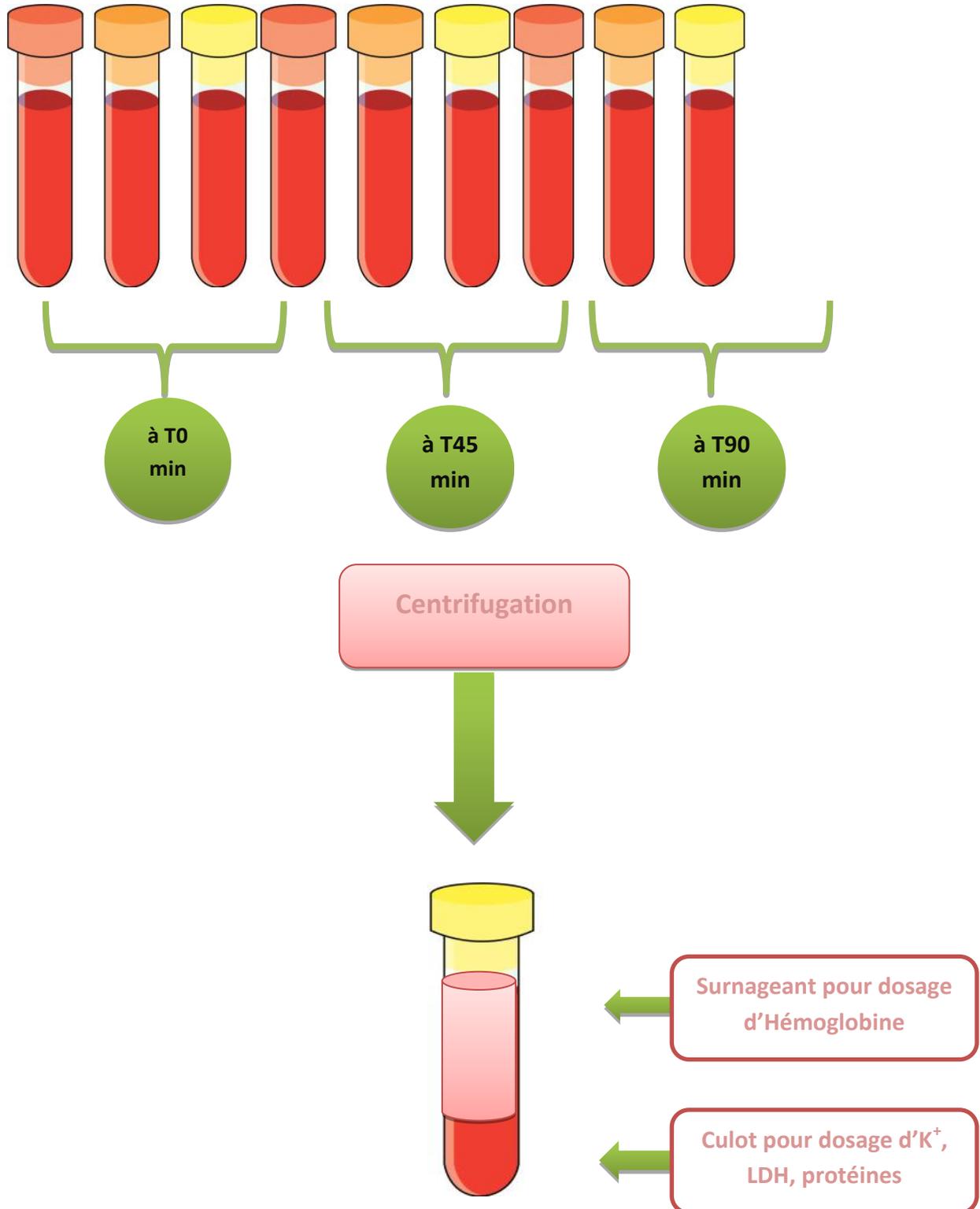


Figure 33 : Préparation des tubes à testée.

7. Nous avons répété les mêmes étapes précédentes pour les 15 derniers tests mais avec une dose de 100µL du Glucantime®

A : 17,8ml de la suspension cellulaire mère+3ml de sérum albumine humaine+200µl TPBS.

B: 17,8ml de la suspension cellulaire mère+3ml TPBS+100 µl de Glucantime®.

C : (3ml de la sérum albumine humaine + 100µl de la Glucantime®) après préincubation de 10 min on rajoute 17,8 ml de la suspension cellulaire mère.

V. Résultats et interprétation :

V.1 Résultats :

Tous les expériences ont été réalisées dans les mêmes conditions de travail; à T° ambiante et à pH de 7,4. L'effet de la sérum albumine sur la toxicité du Glucantime® vis-à-vis des globules rouges a été suivi d'une part par la perturbation de la perméabilité membranaire aux ions K⁺(ion intracellulaire par excellence) et d'autre part par la libération de l'hémoglobine secondaire à l'hémolyse.

Evaluation de l'effet de l'albumine sur la toxicité de Glucantime®

Test n°01 :

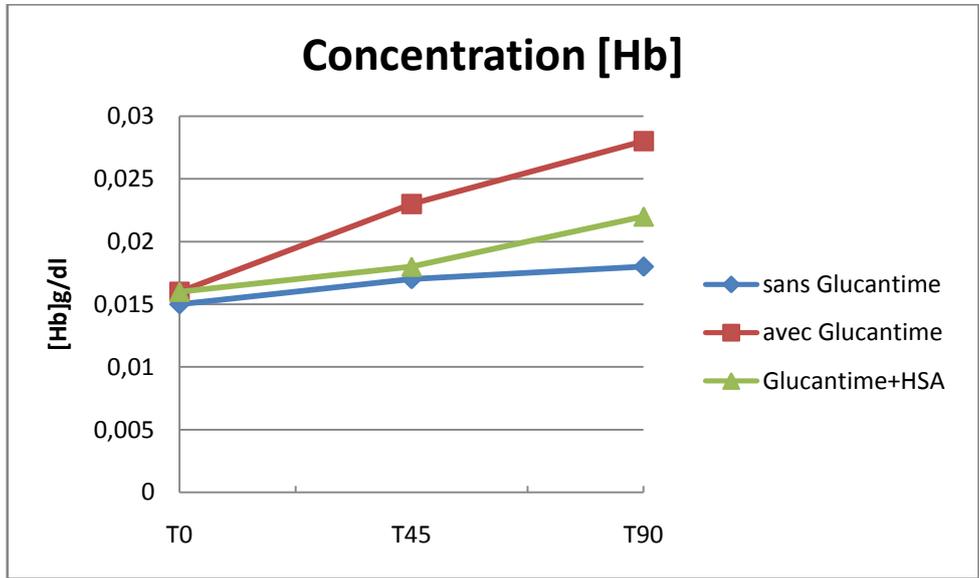


Figure 34: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 01)

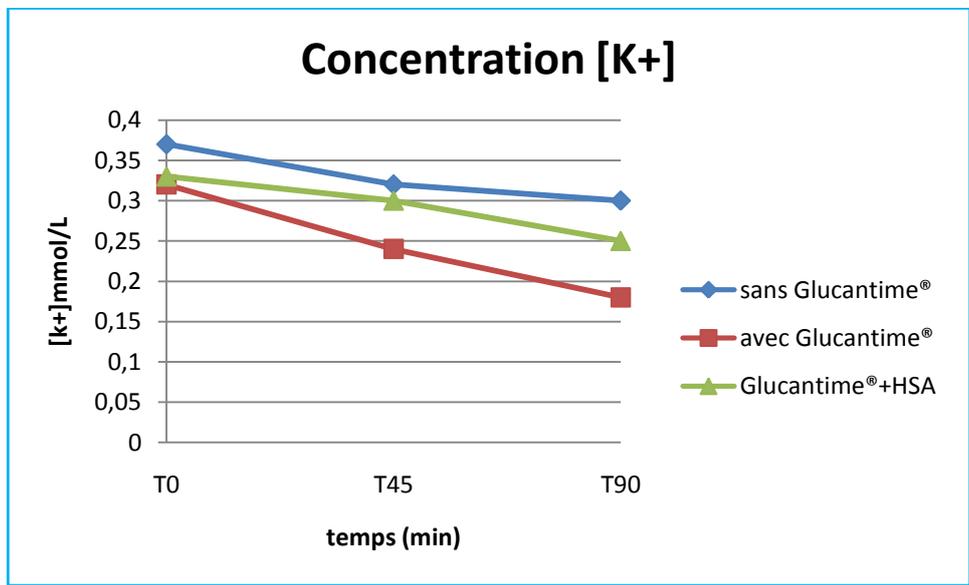


Figure 35: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 01).

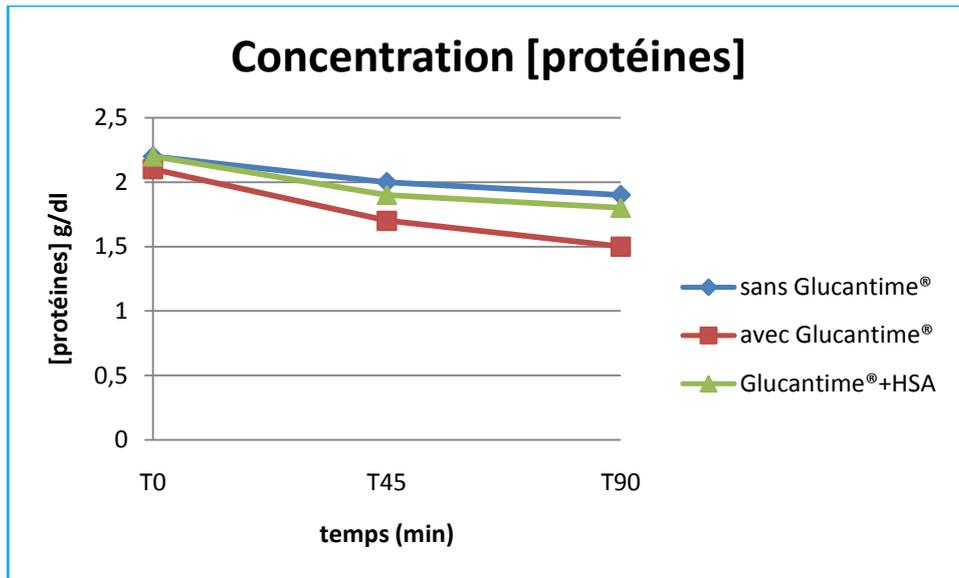


Figure 36: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 01).

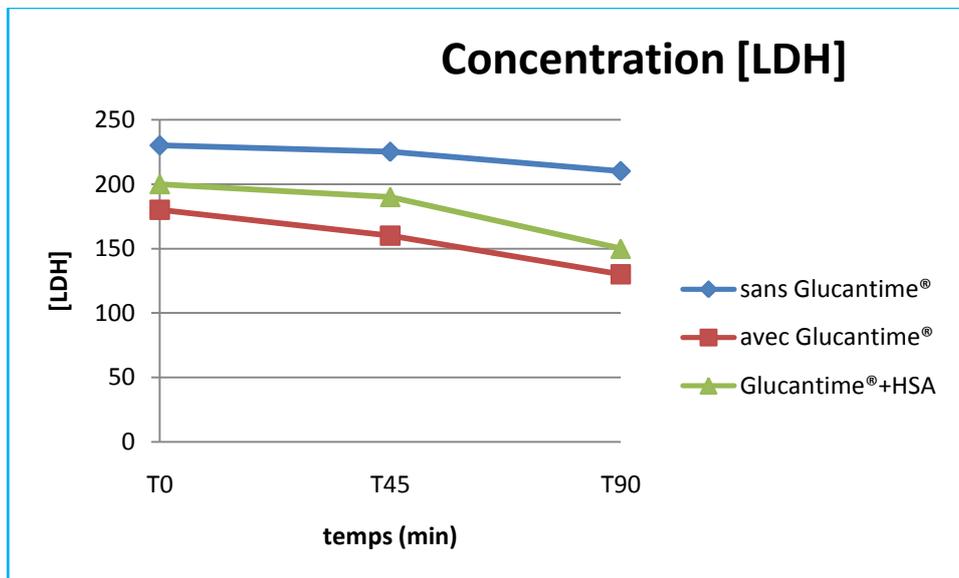


Figure 37: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 01).

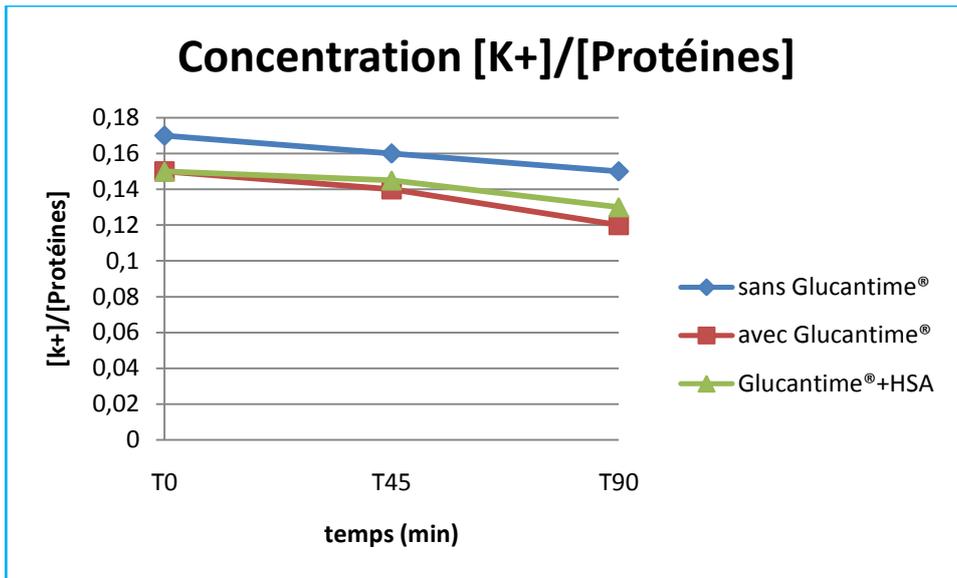


Figure 38: le rapport [K+]/ [protéines] (test 01)

Test n°02 :

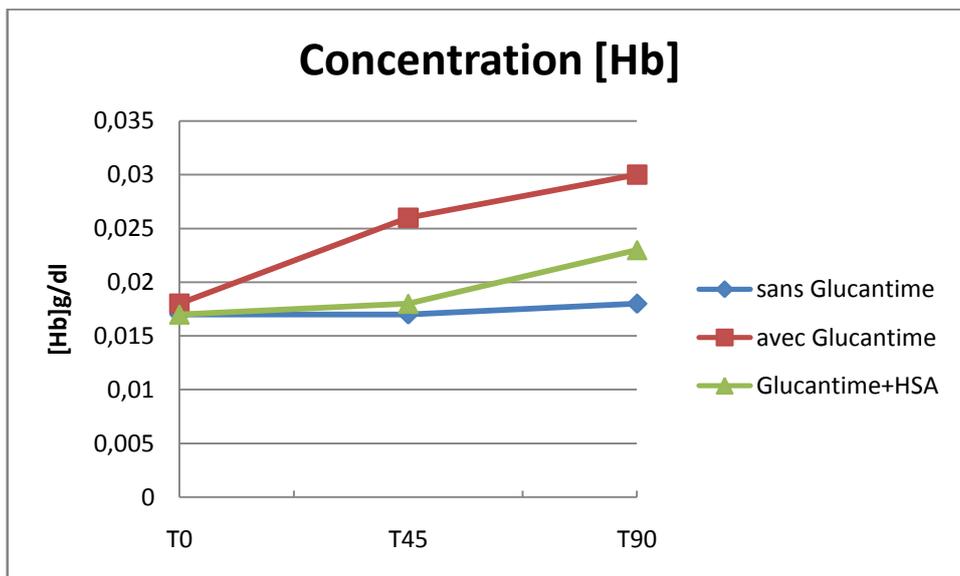


Figure 39: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 02)

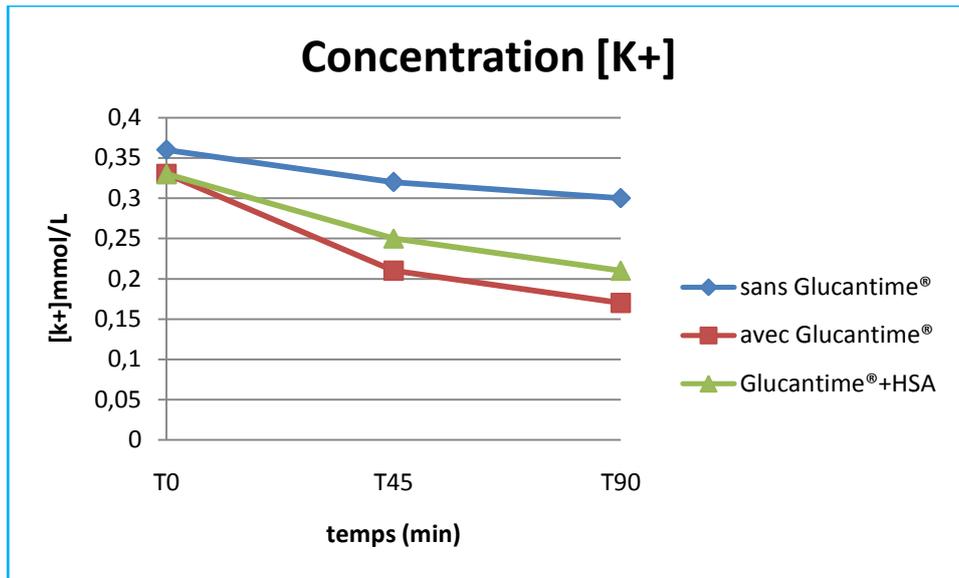


Figure 40: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 02).

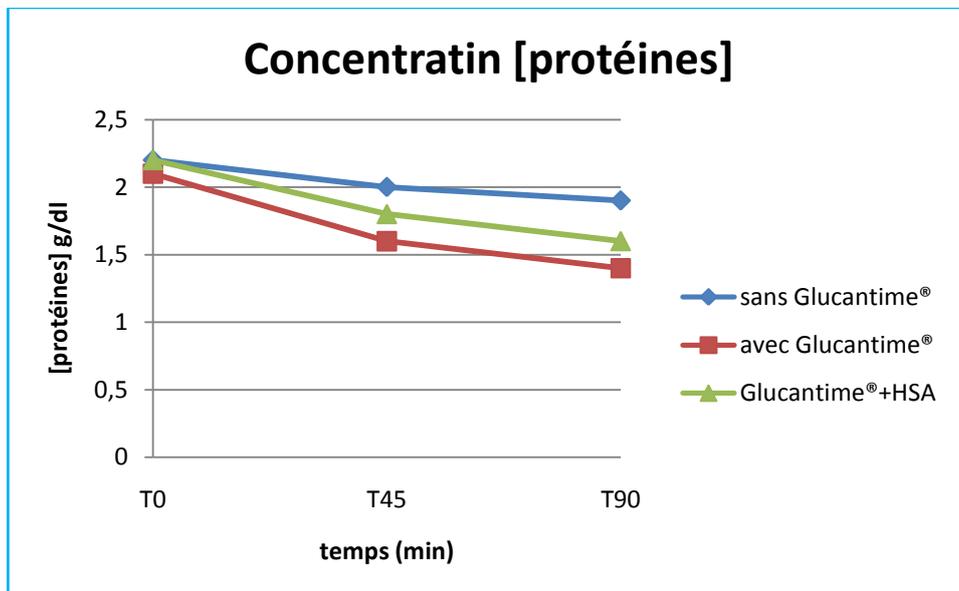


Figure 41: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 02).

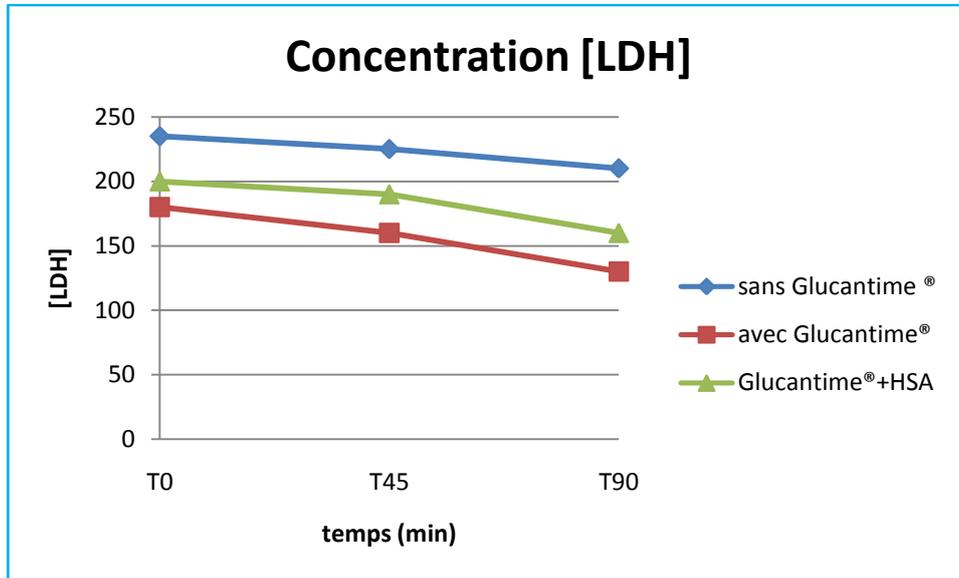


Figure 42: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 02).

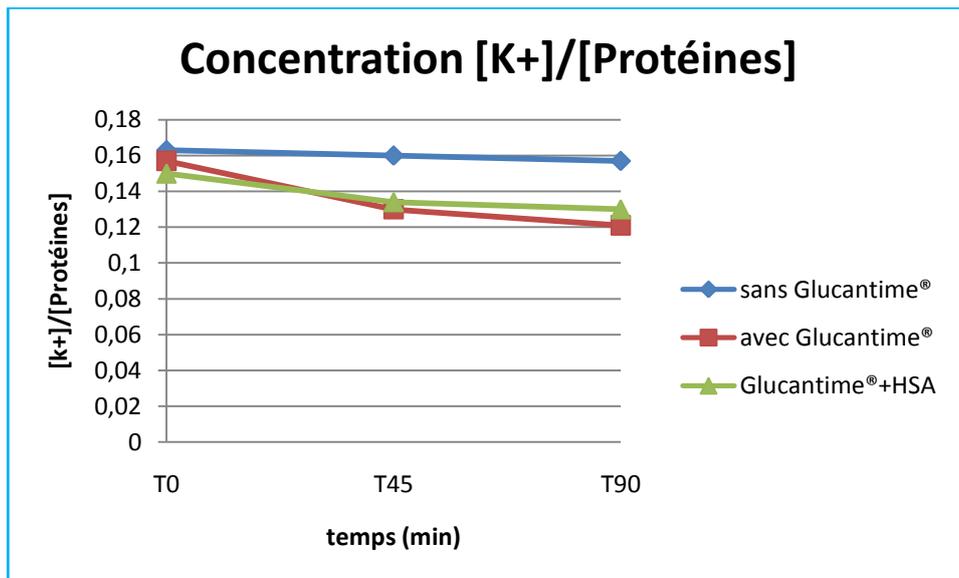


Figure 43: le rapport [K+]/ [protéines] (test 02)

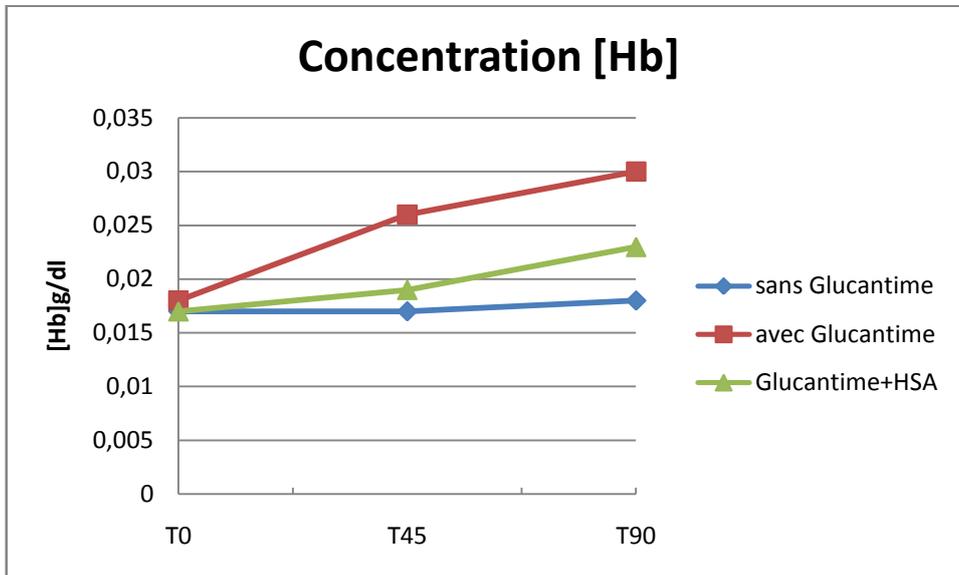


Figure 44: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 03)

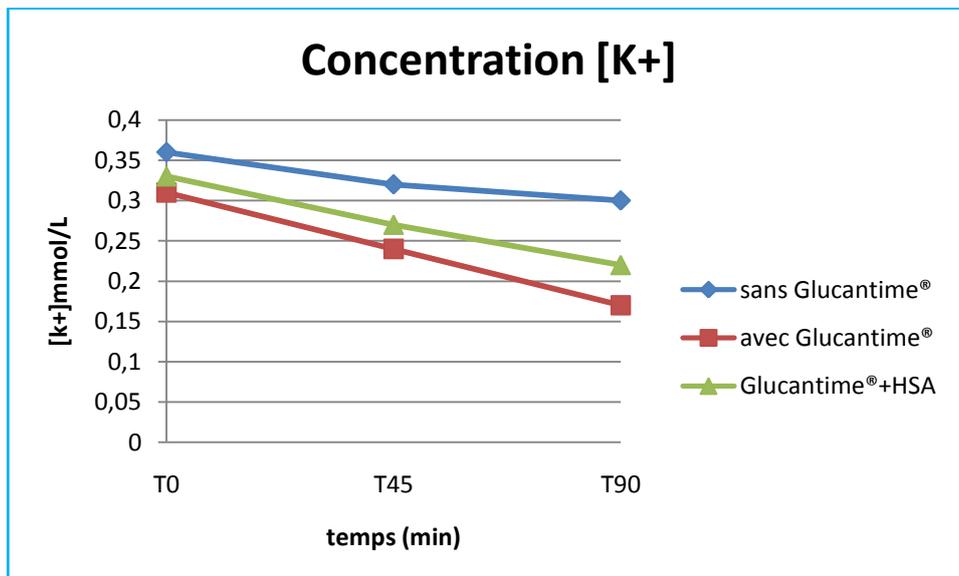


Figure 45: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 03).

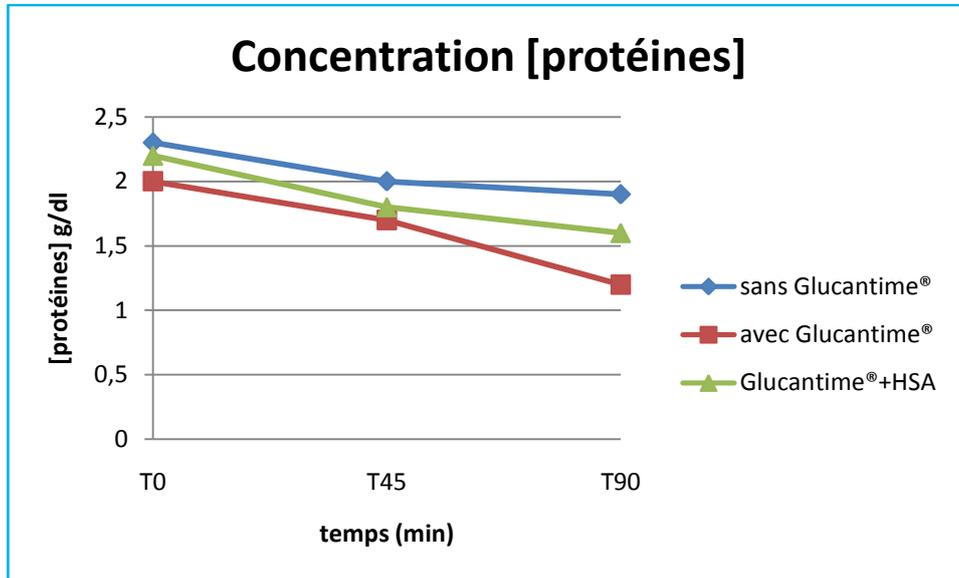


Figure 46: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 03).

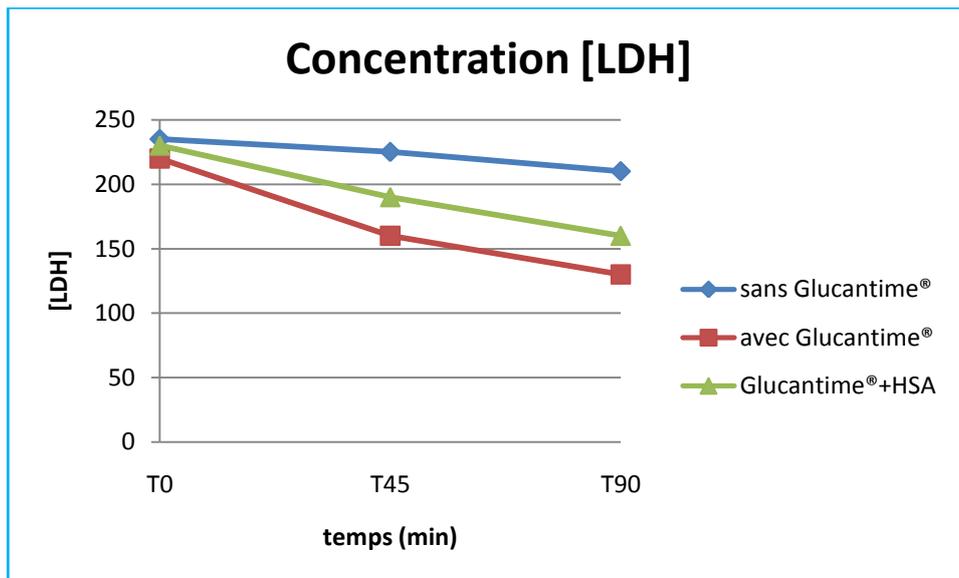


Figure 47: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 03).

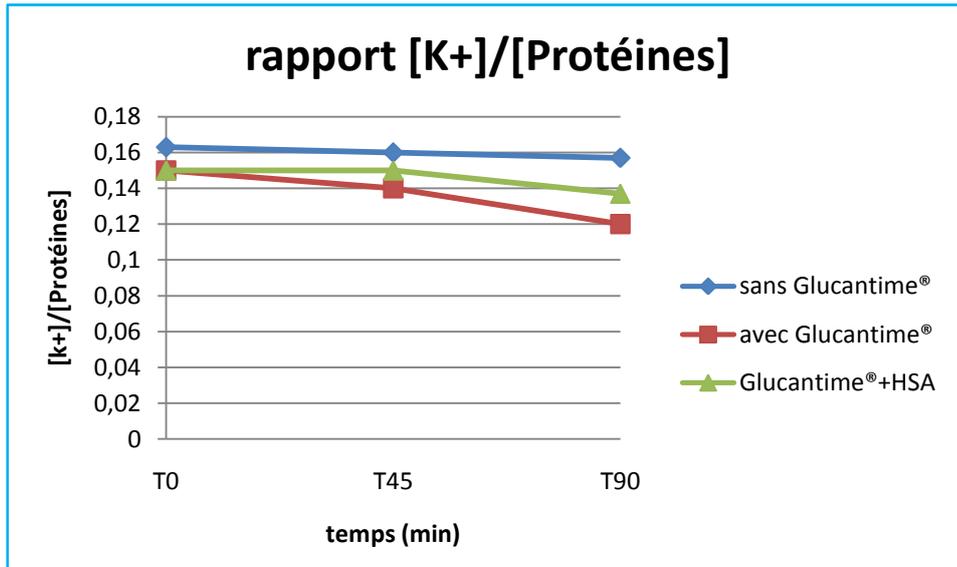


Figure 48: le rapport $[K^+]/[protéines]$ (test 03)

Test n°04 :

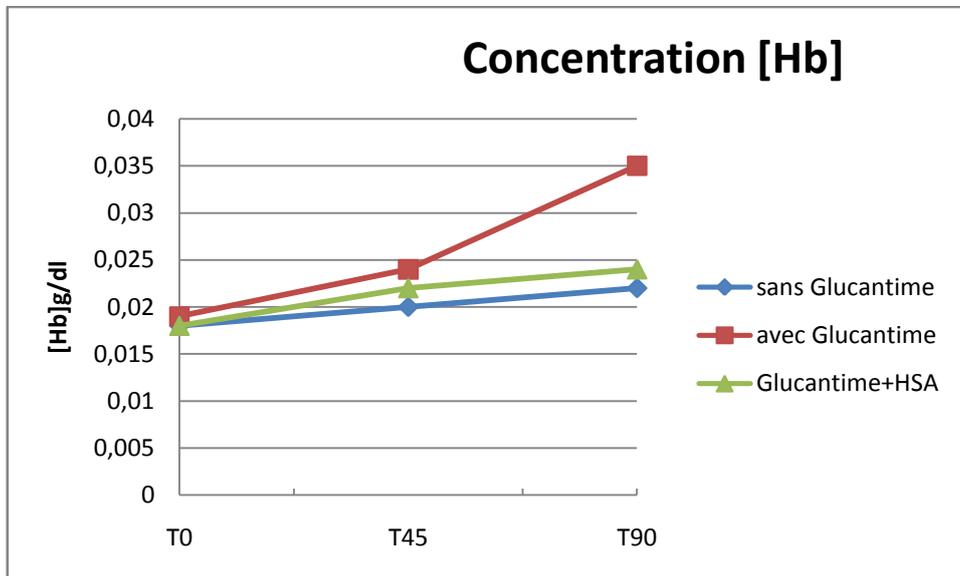


Figure 49: l'effet de la Glucantime® sur la $[Hb]$ en présence et en absence de l'HSA (test 04)

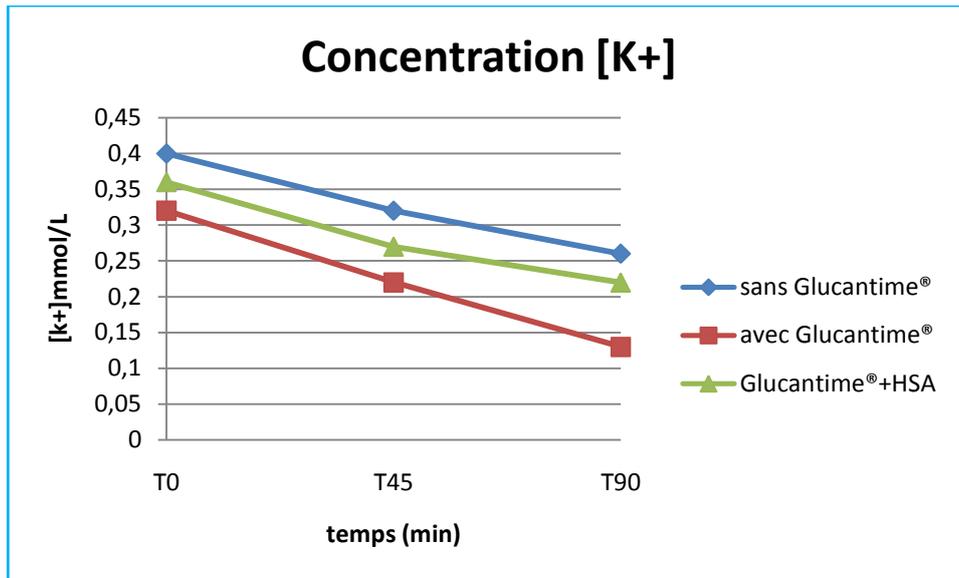


Figure 50: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 04).

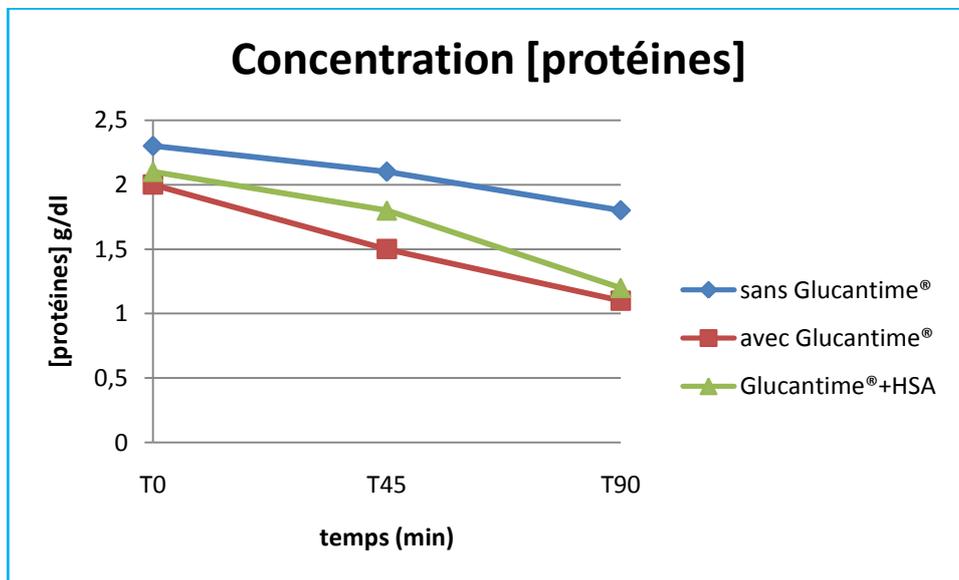


Figure 51: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 04).

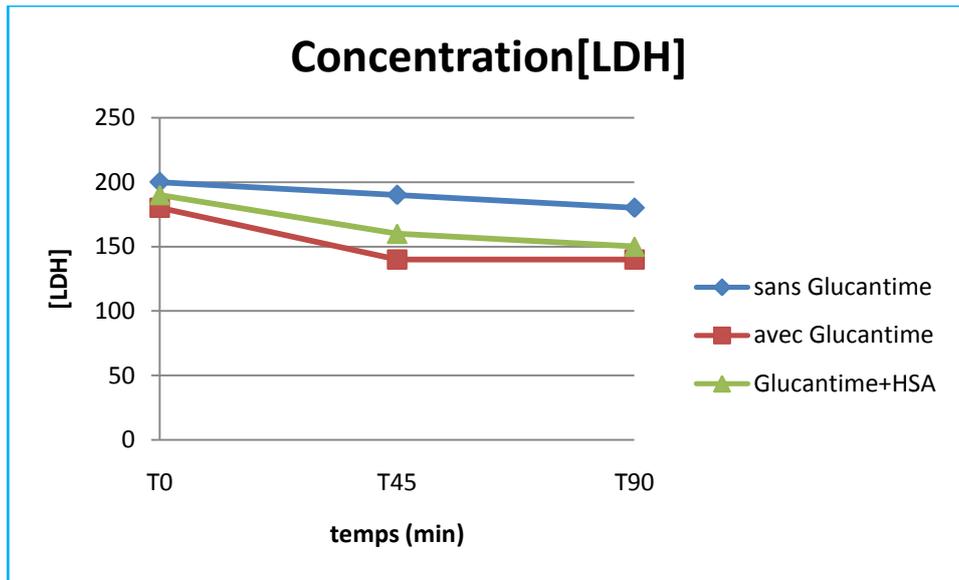


Figure 52: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 04).

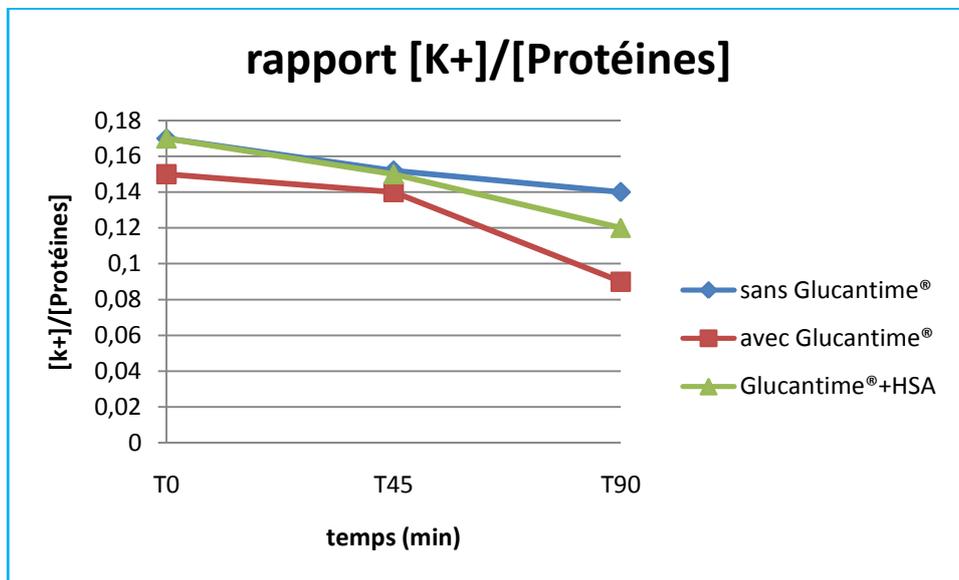


Figure 53: le rapport [K+]/ [protéines] (test 04)

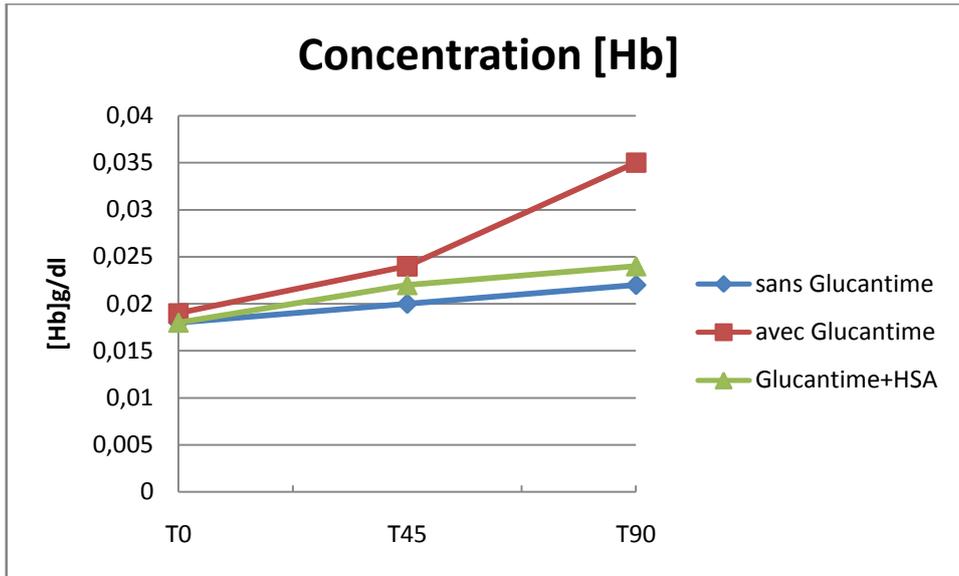


Figure 54: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 05)

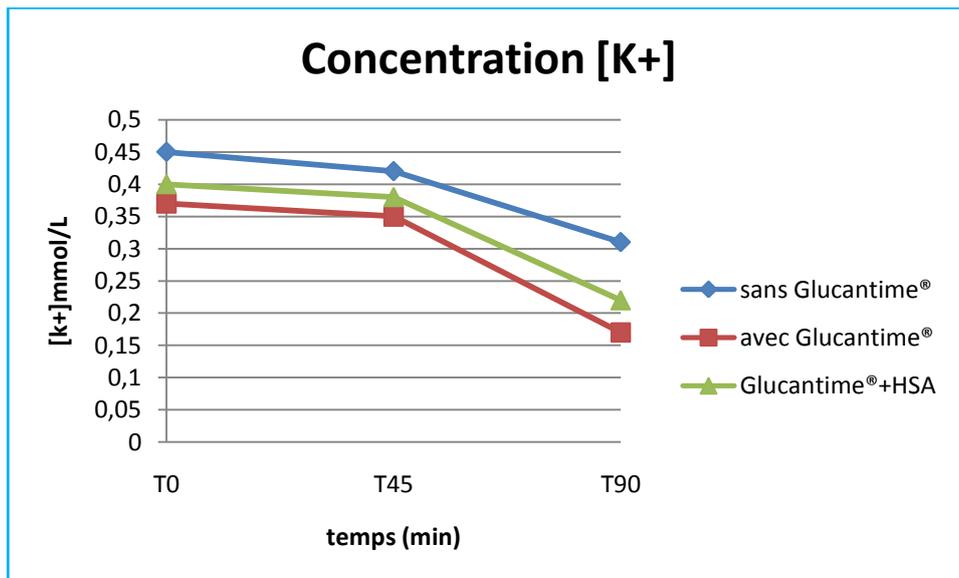


Figure 55: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 05).

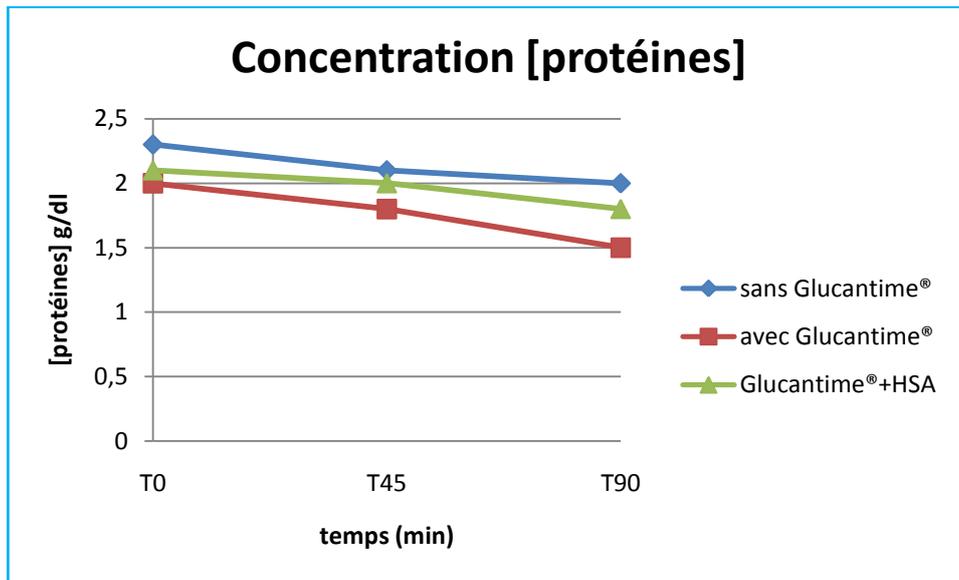


Figure 56: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 05).

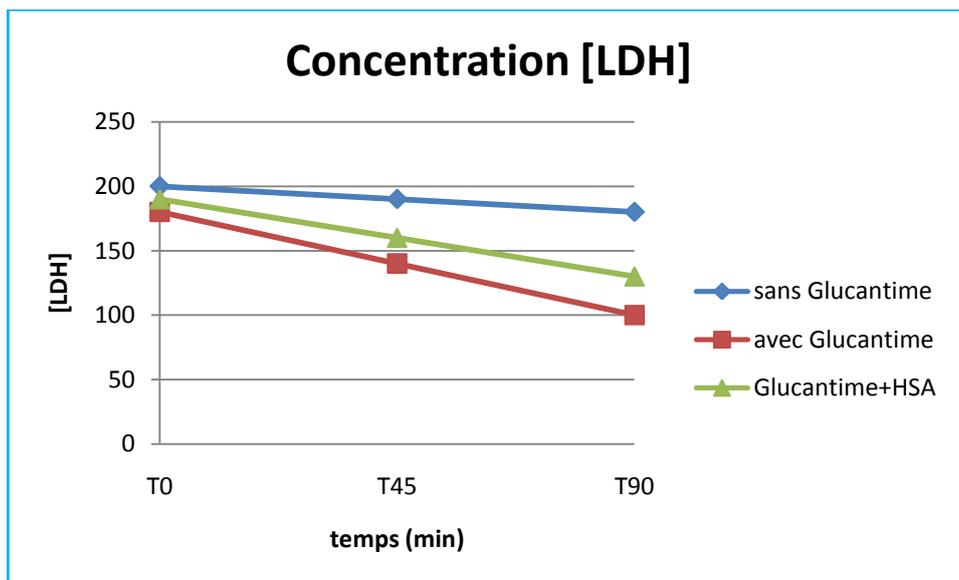


Figure 57: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 05).

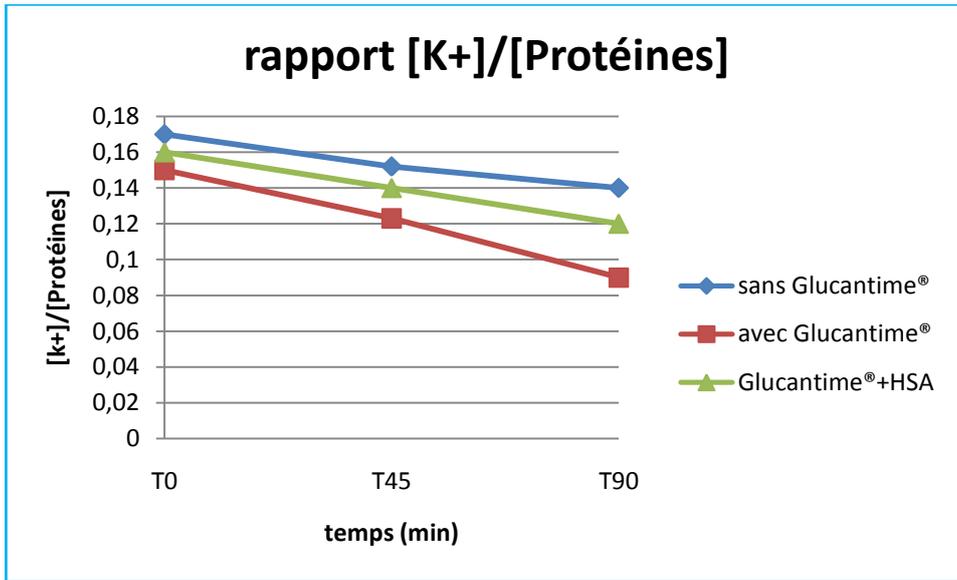


Figure 58: le rapport [K+]/ [protéines] (test 05)

Test n°06 :

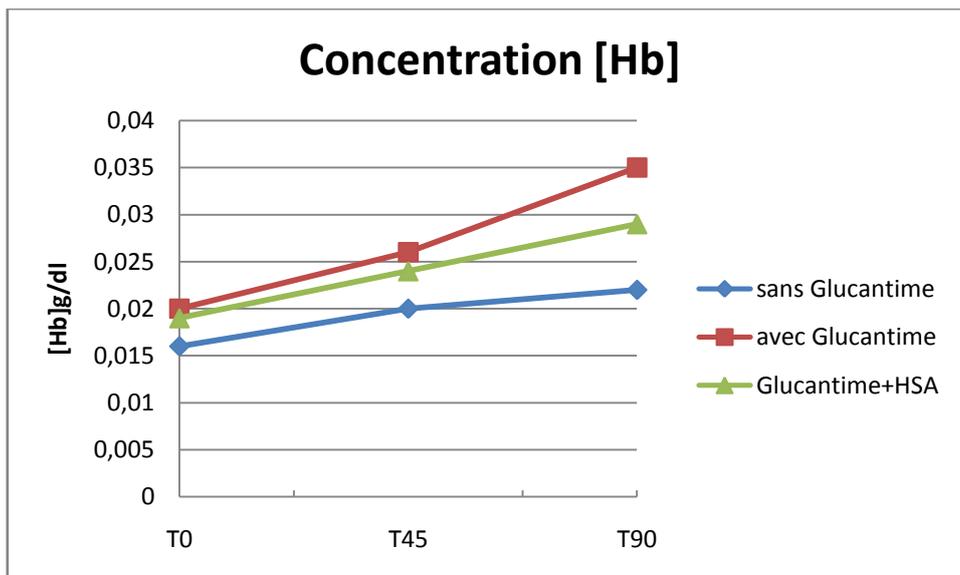


Figure 59: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 06)

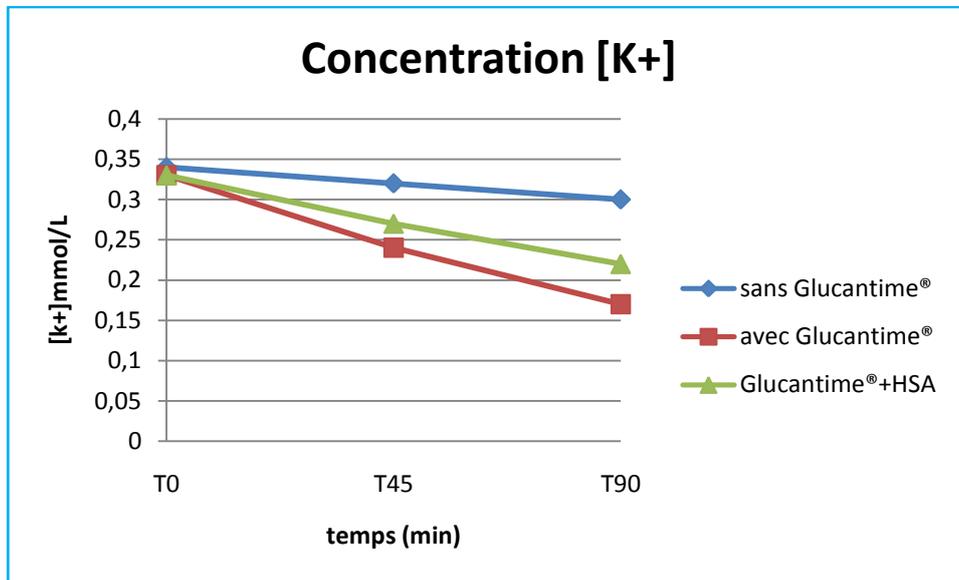


Figure 60: l'effet de la Glucantime® sur la [k⁺] en présence et en absence de l'HSA (test 06).

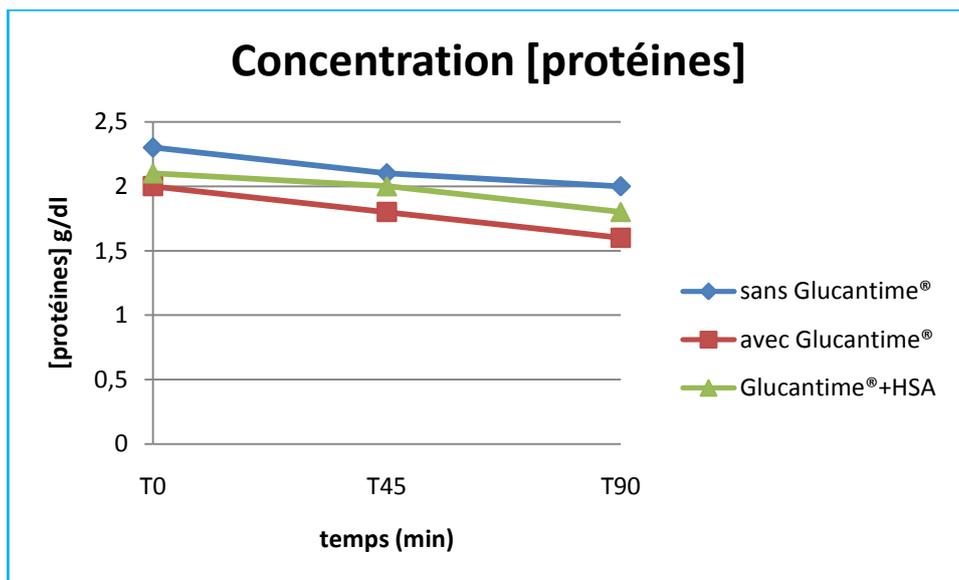


Figure 61: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 06).

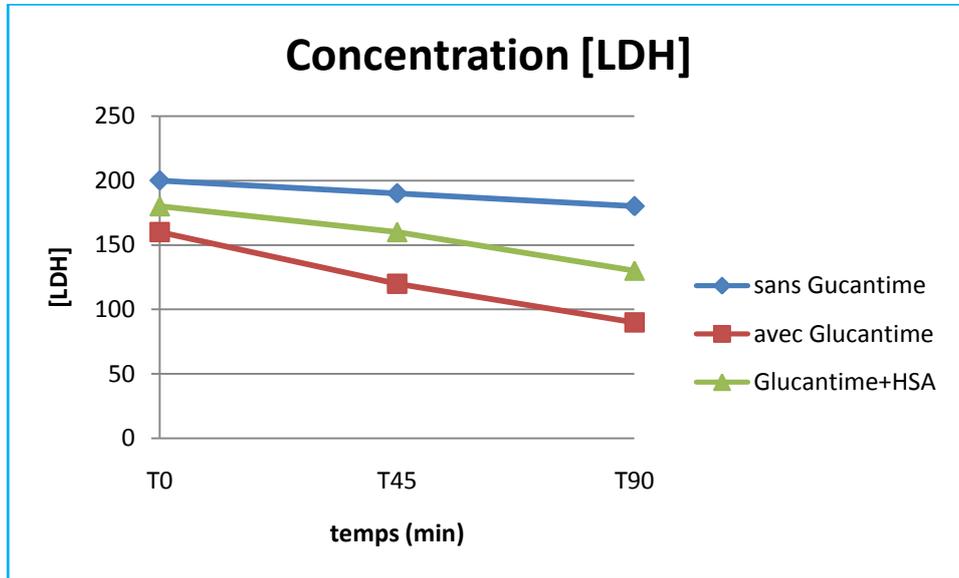


Figure 62: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 06).

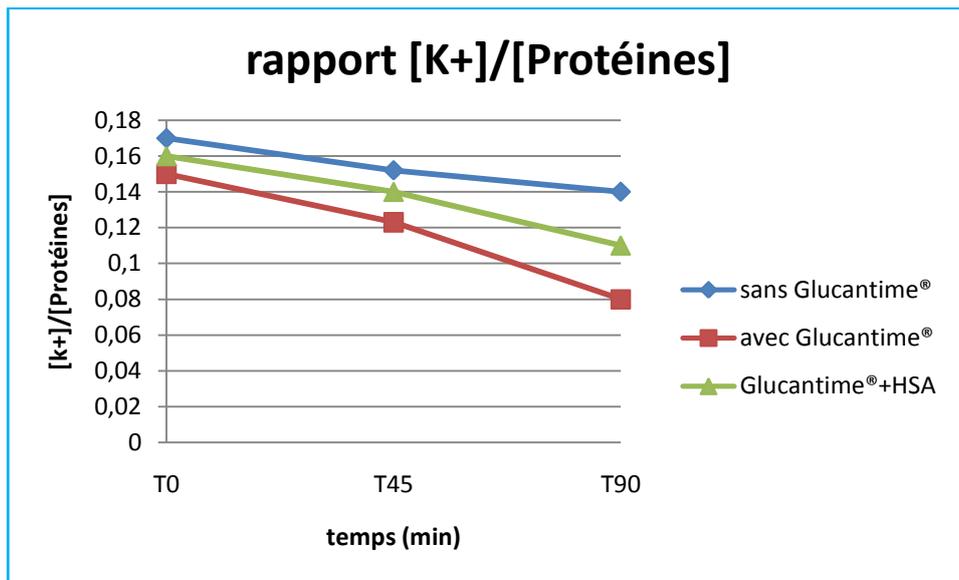


Figure 63: le rapport [K+]/ [protéines] (test 06)

Test n°07 :

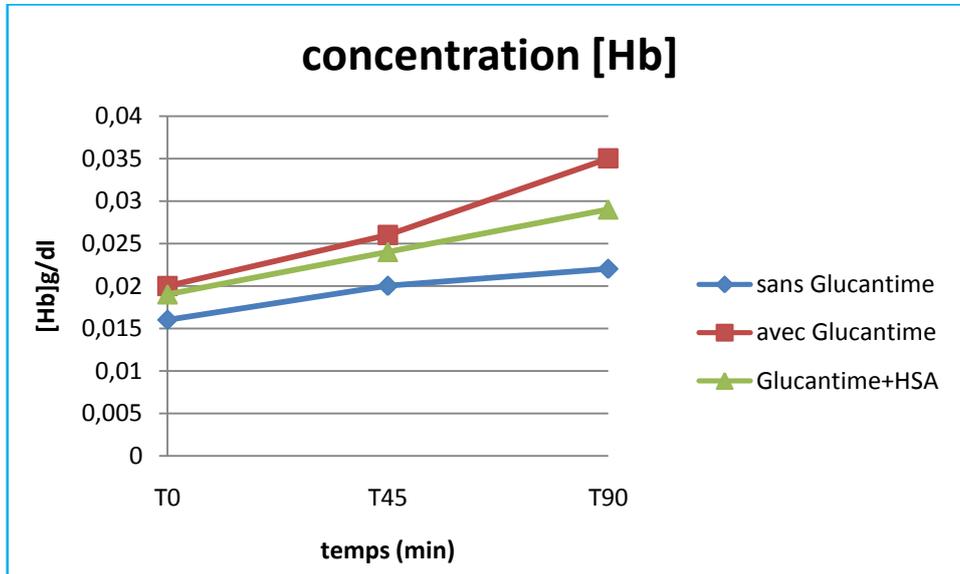


Figure 64: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 07)

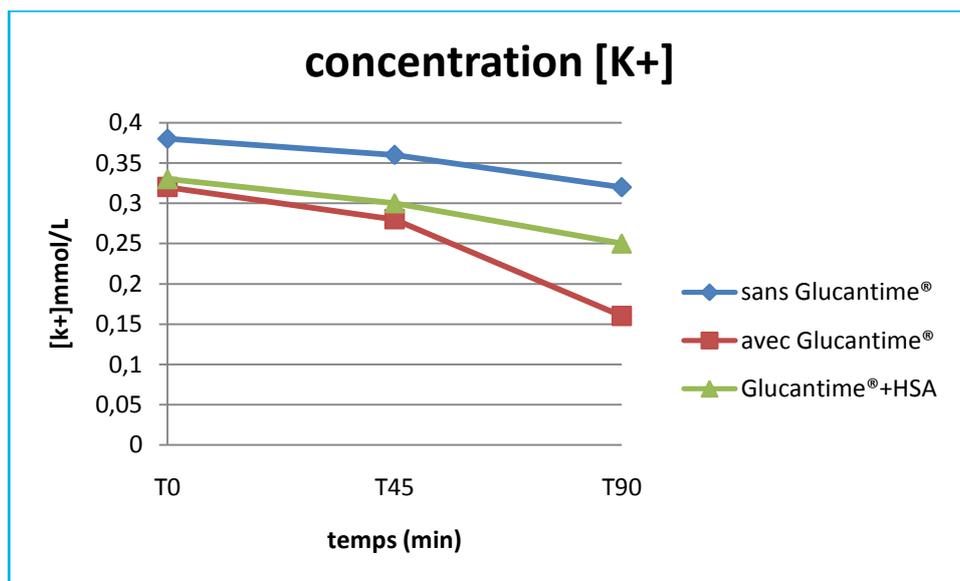


Figure 65: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 07).

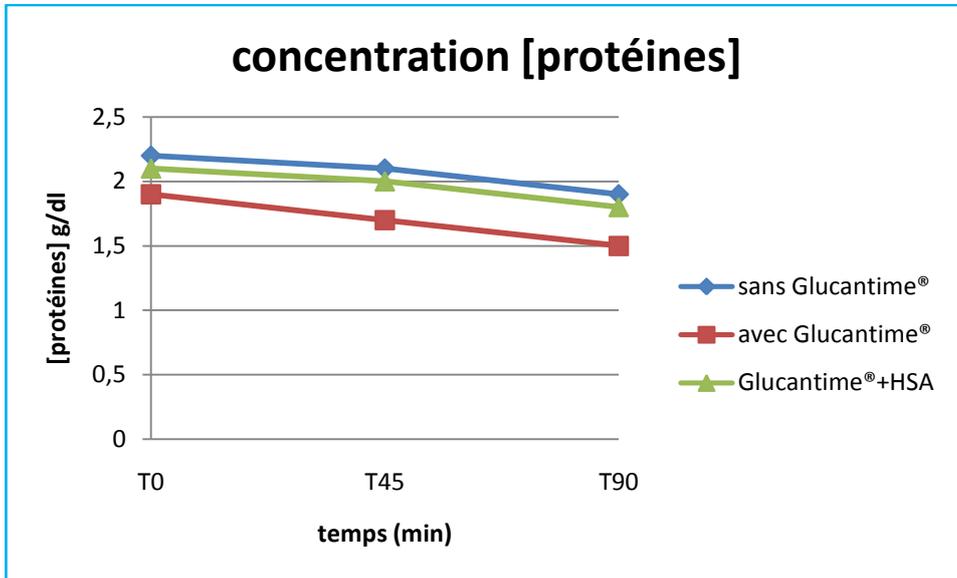


Figure 66: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 07).

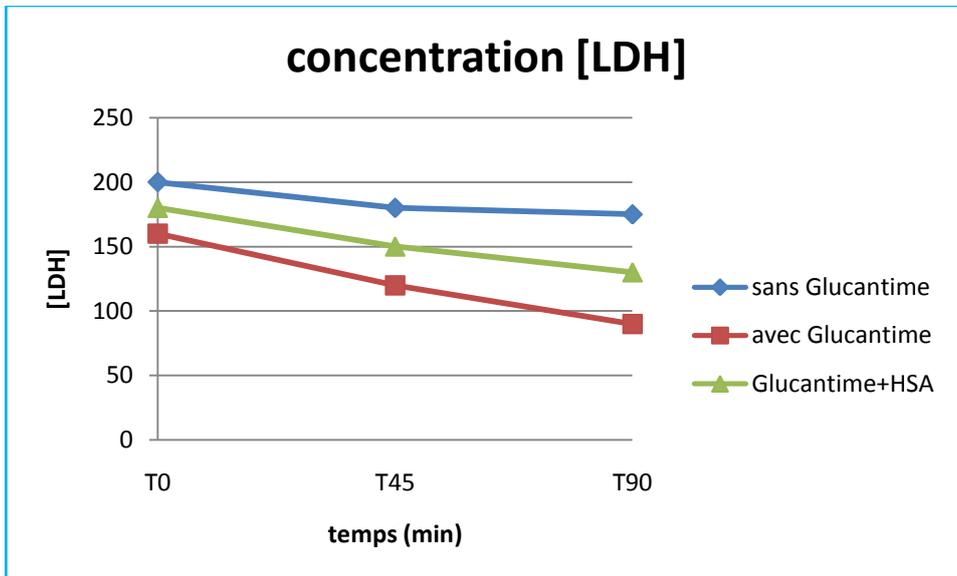


Figure 67: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 07).

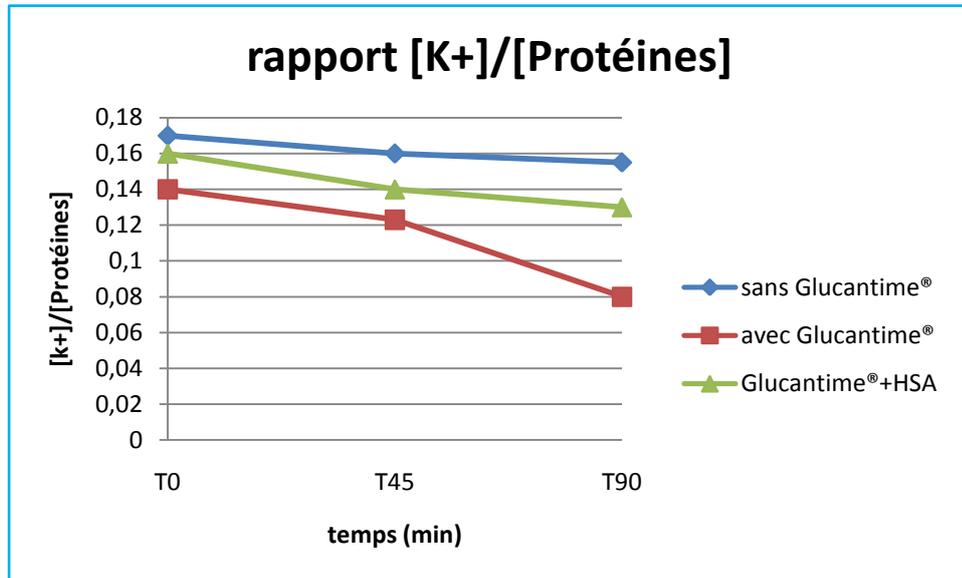


Figure 68: le rapport [K+]/ [protéines] (test 07)

Test n°08 :

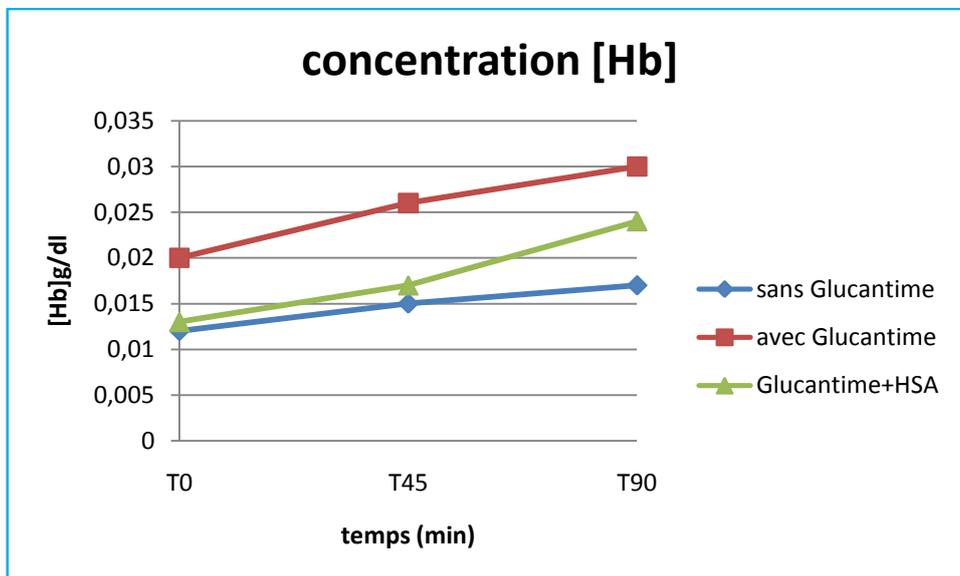


Figure 69: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 08)

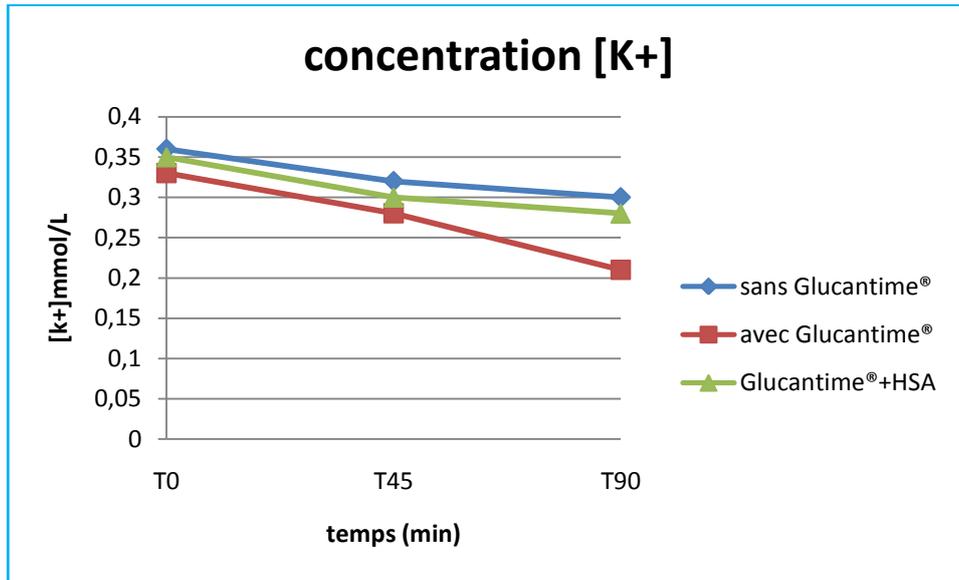


Figure 70: l'effet de la Glucantime® sur la [k⁺] en présence et en absence de l'HSA (test 08).

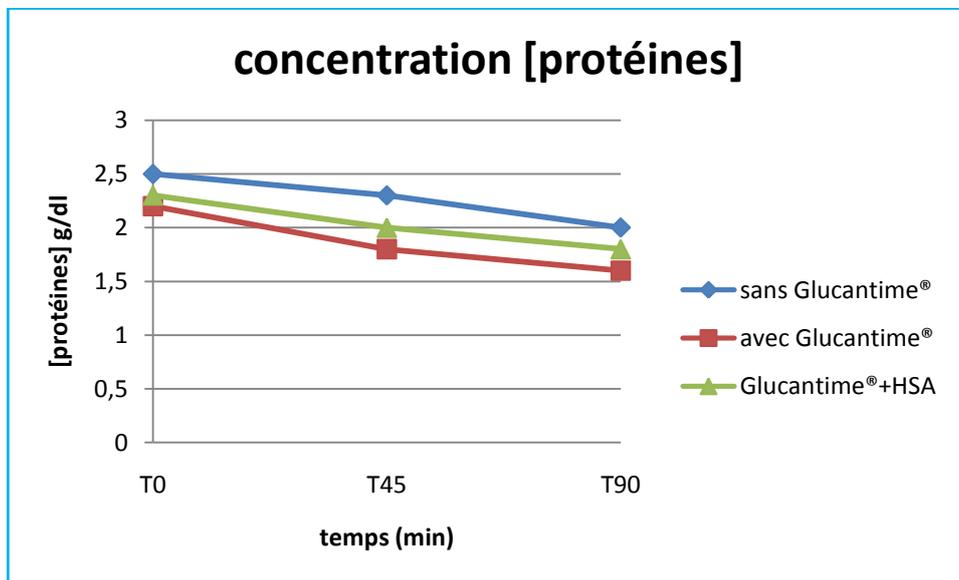


Figure 71: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 08).

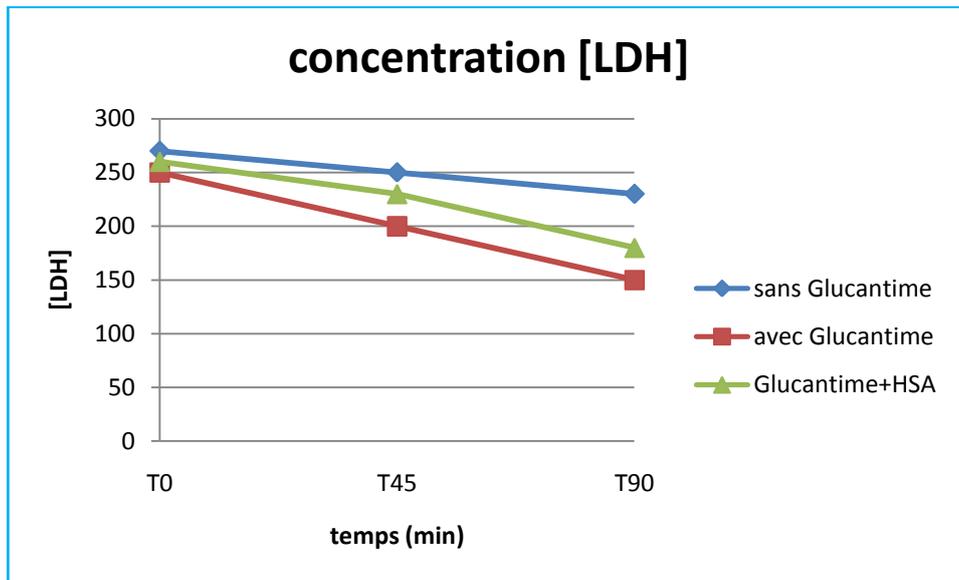


Figure 72: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 08).

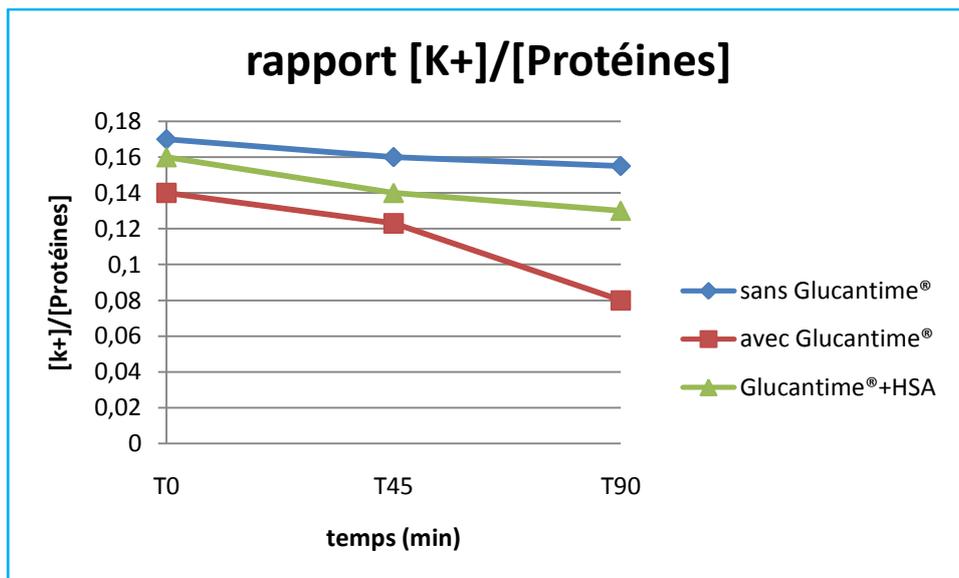


Figure 73: le rapport [K+]/ [protéines] (test 08)

Test n°9 :

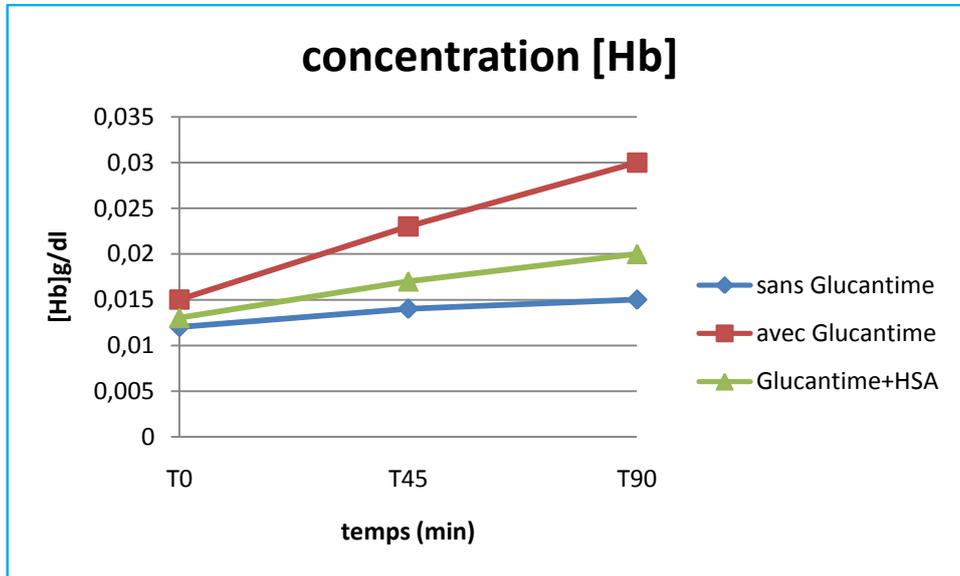


Figure 74: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 09)

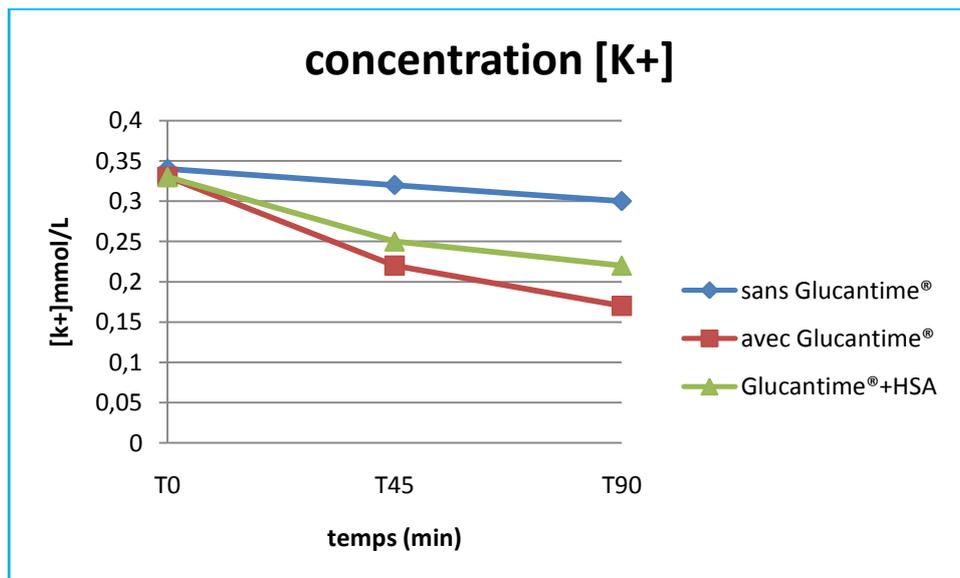


Figure 75: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 09).

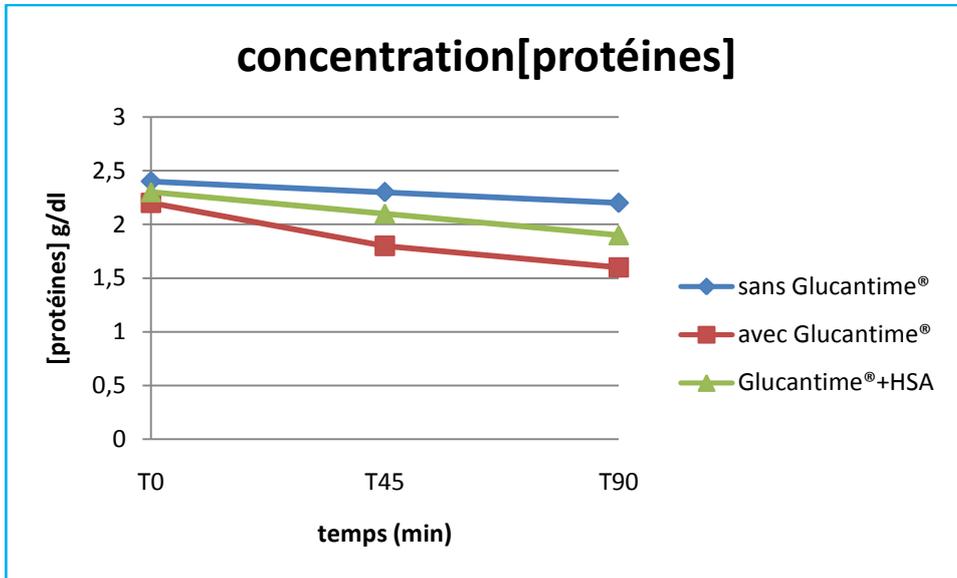


Figure 76: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 08).

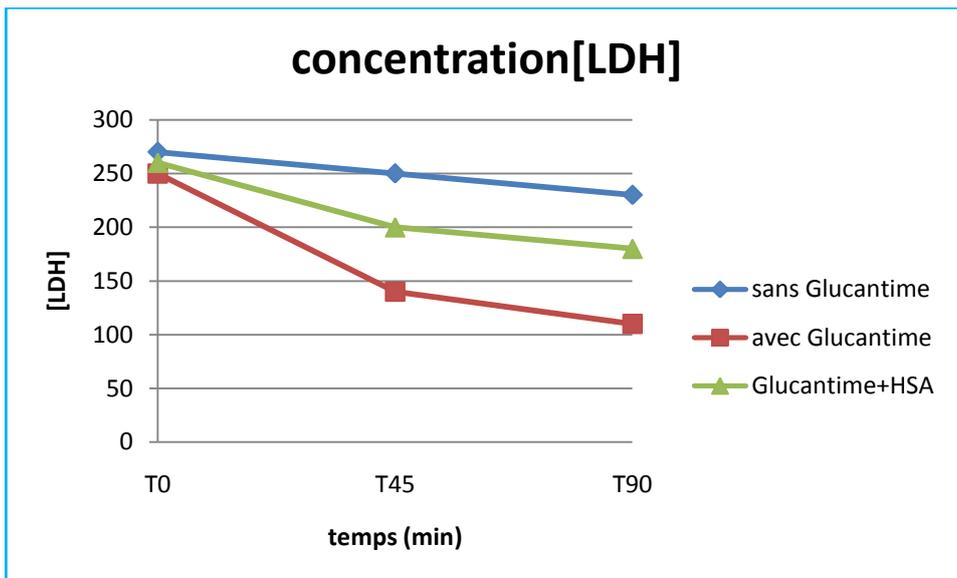


Figure 77: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 09).

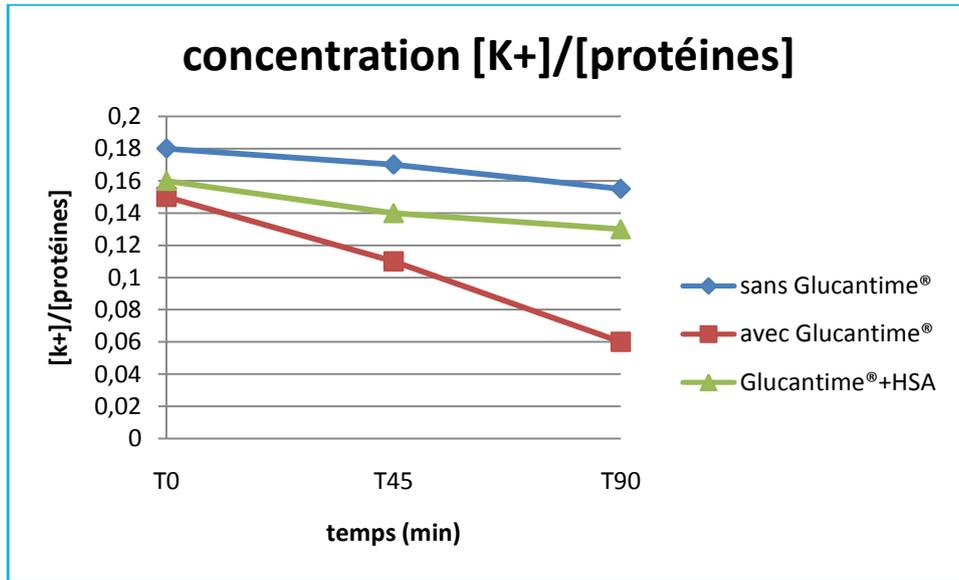


Figure 78: le rapport [K+]/ [protéines] (test 09)

Test n°10 :

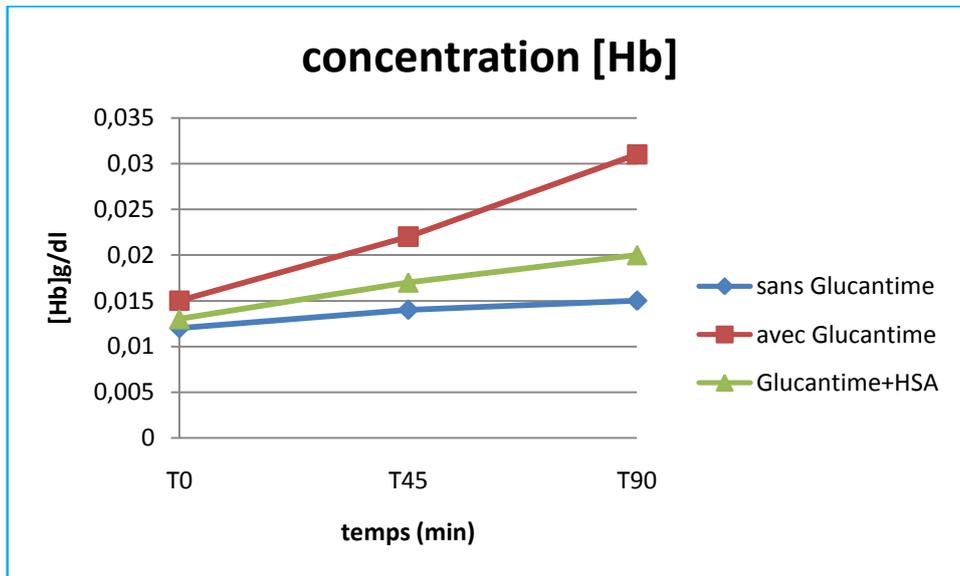


Figure 79: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 10)

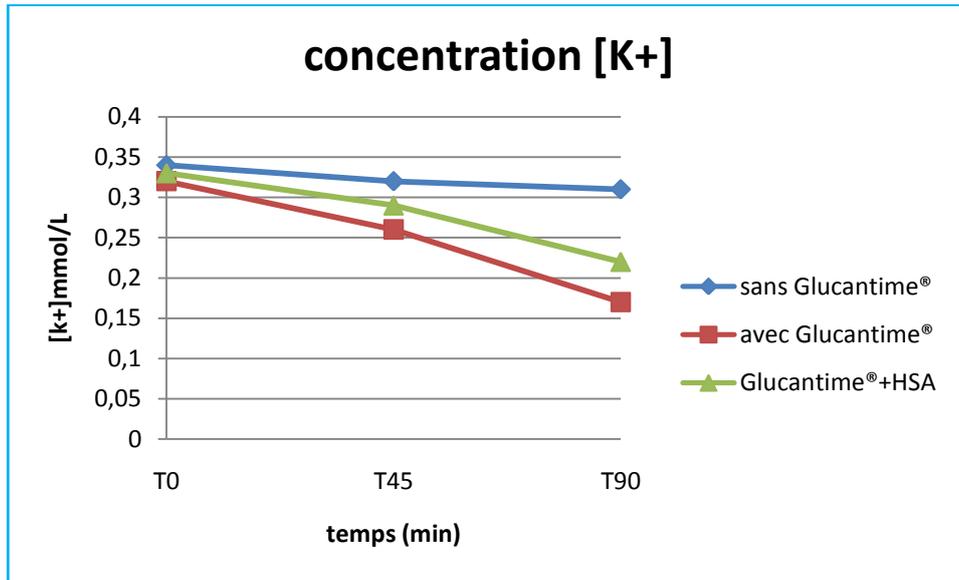


Figure 80: l'effet de la Glucantime® sur la [k⁺] en présence et en absence de l'HSA (test10).

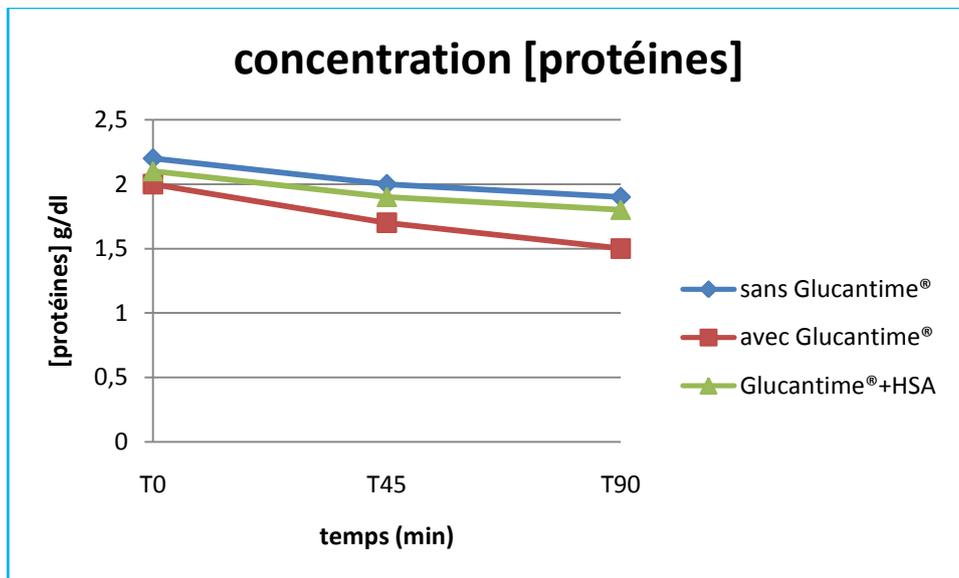


Figure 81: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 10).

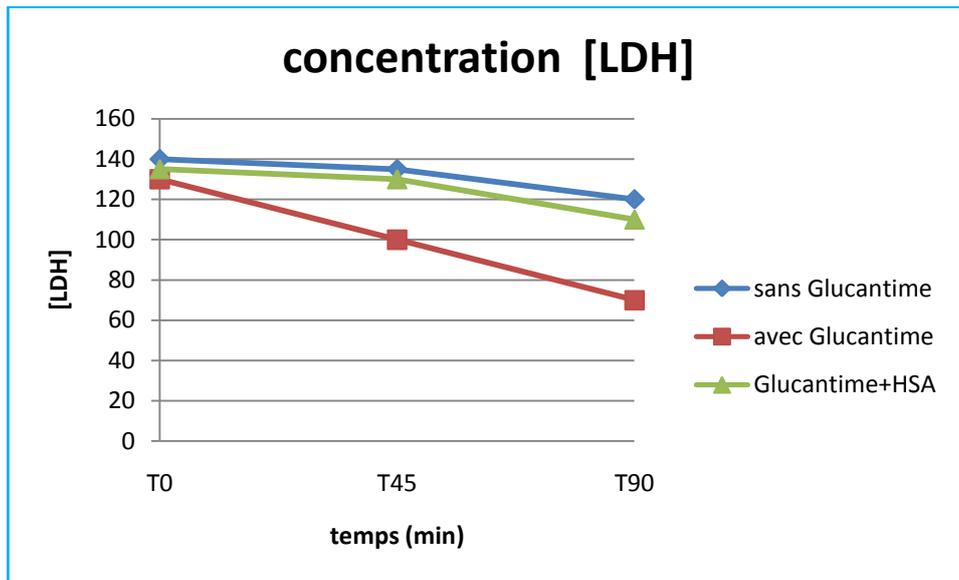


Figure 82: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 10).

Test n°11 :

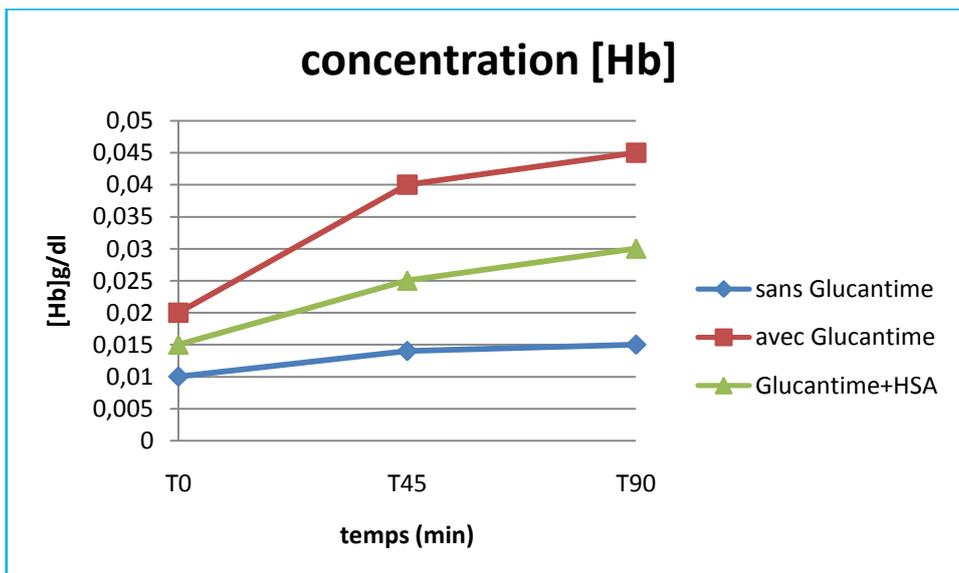


Figure 83: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 11)

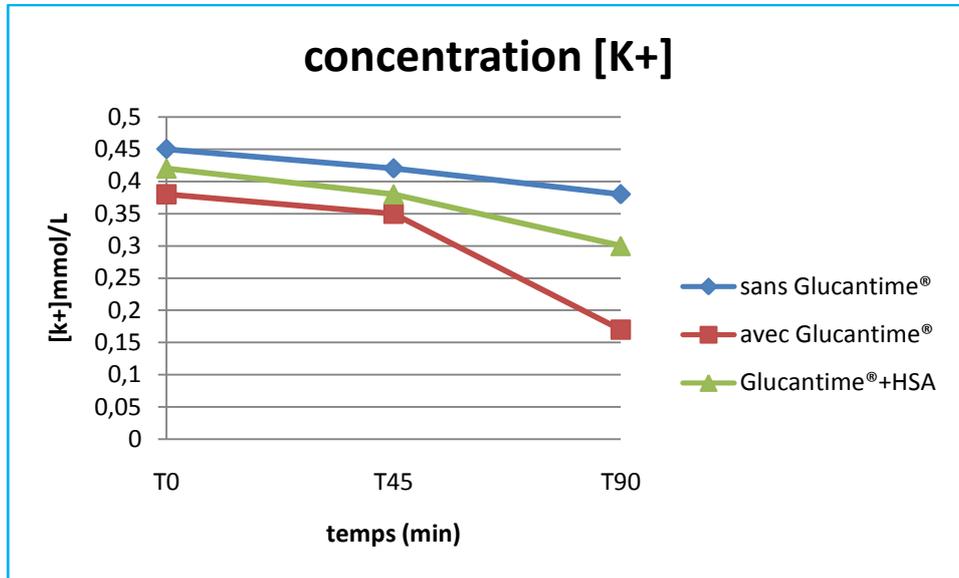


Figure 84: l'effet de la Glucantime® sur la [k⁺] en présence et en absence de l'HSA (test11).

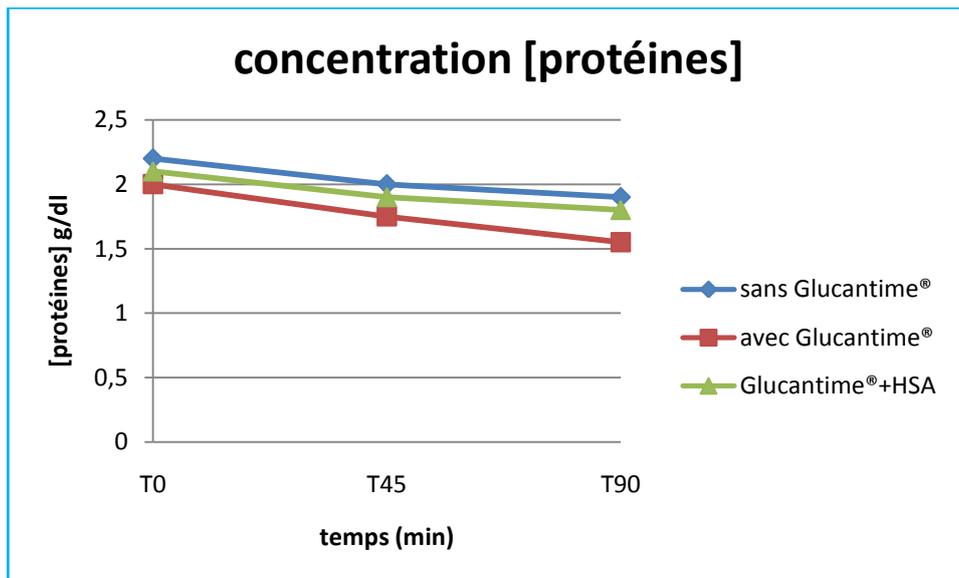


Figure 85: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 11).

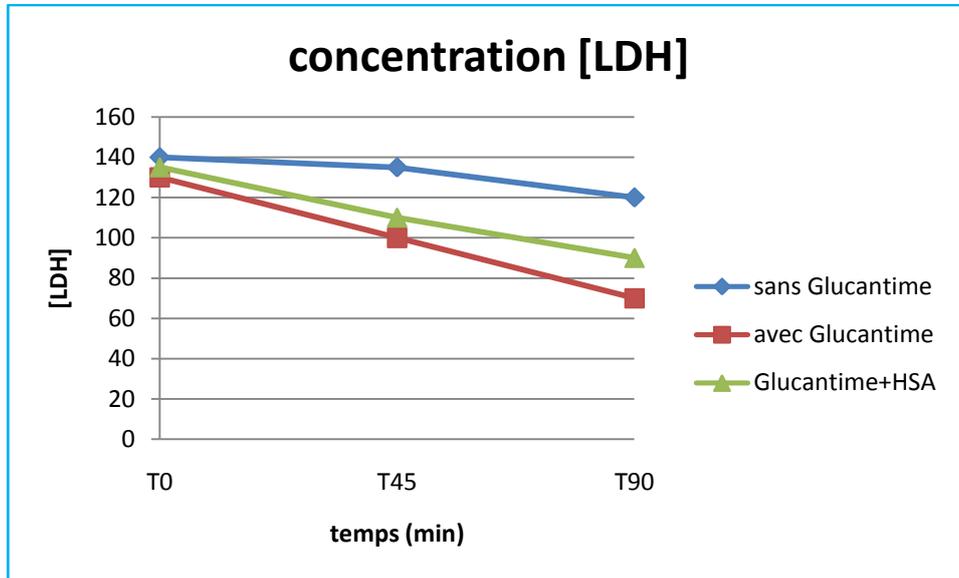


Figure 86: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 11).

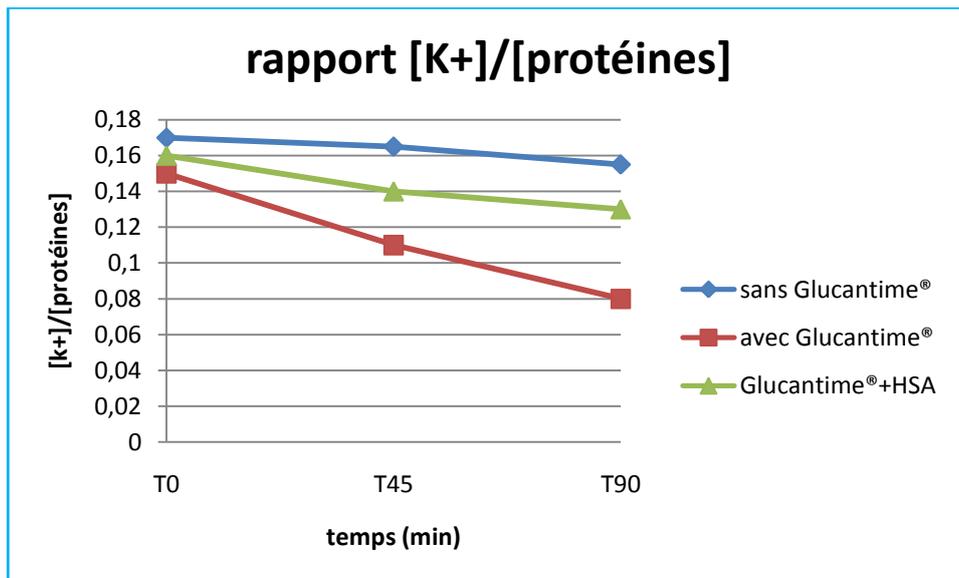


Figure 87: le rapport [K+]/ [protéines] (test 11)

Test n°12 :

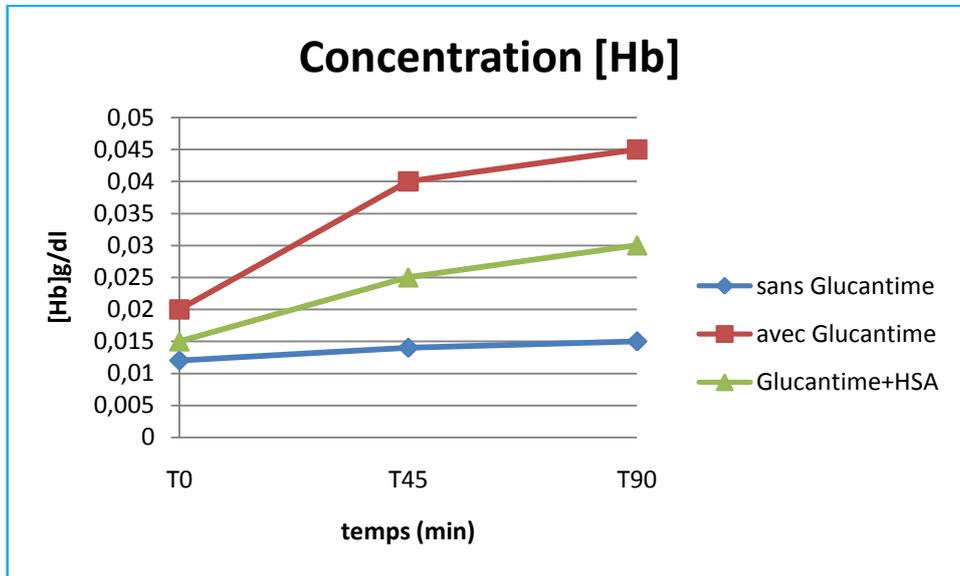


Figure 88: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 12)

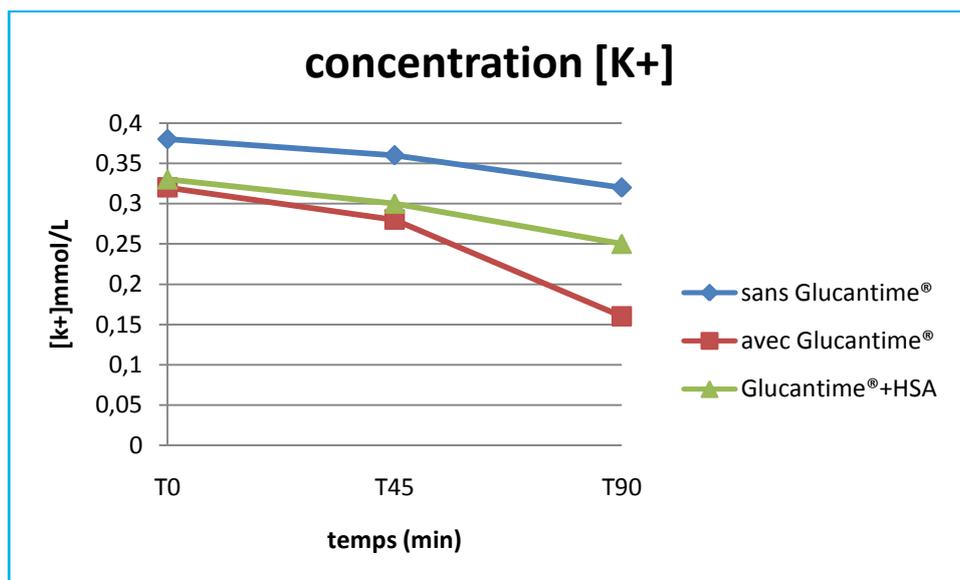


Figure 89: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test12).

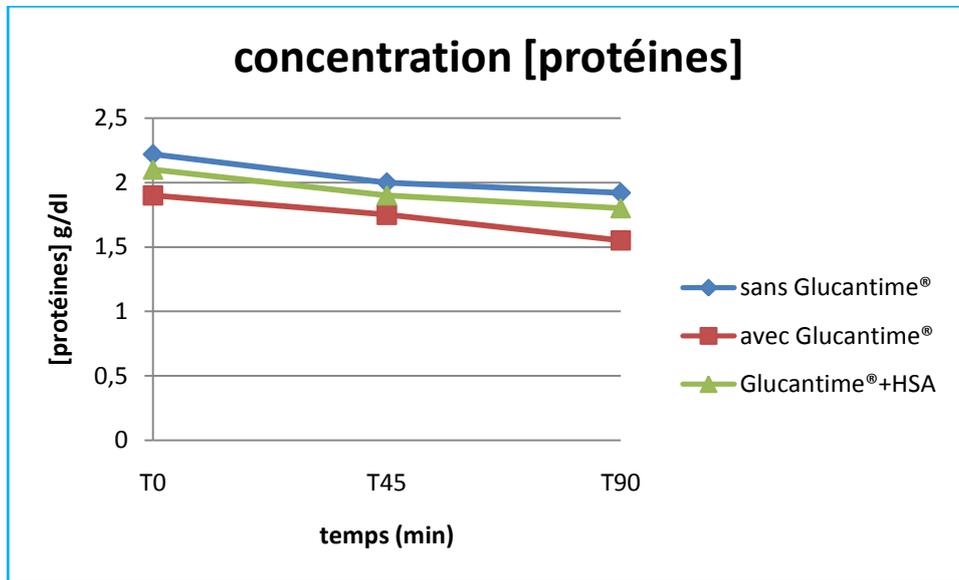


Figure 90: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 12).

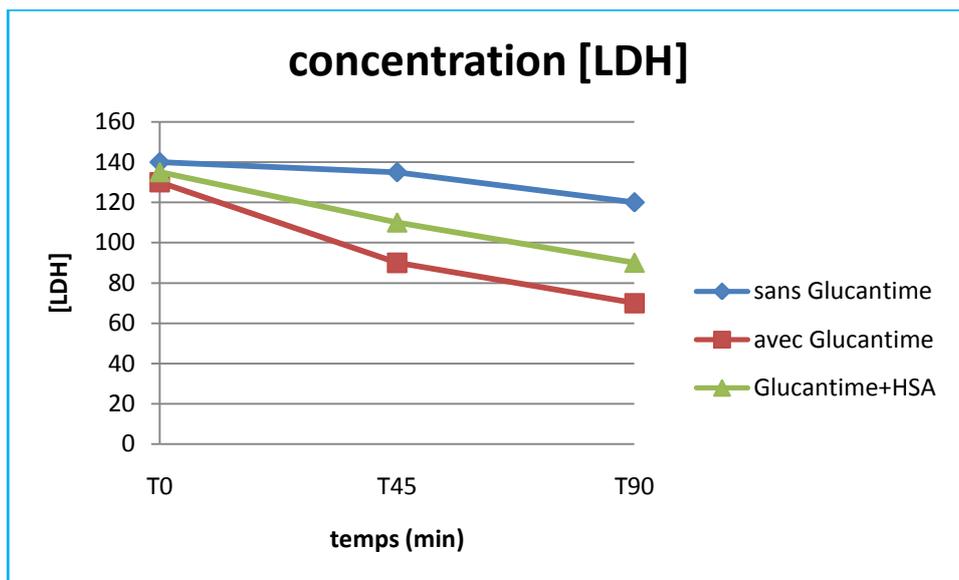


Figure 91: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 11).

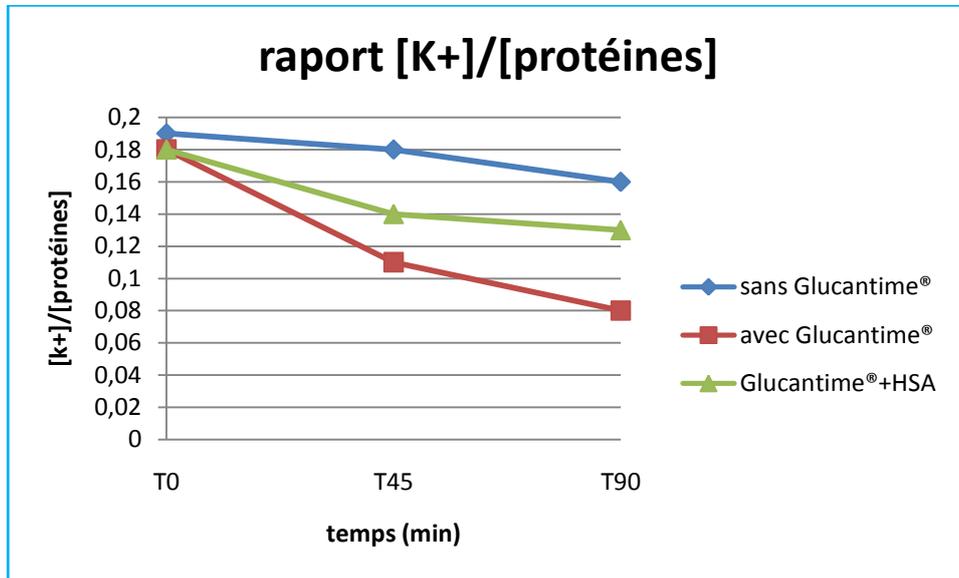


Figure 92: le rapport $[K^+]/[protéines]$ (test 12)

Test n°13 :

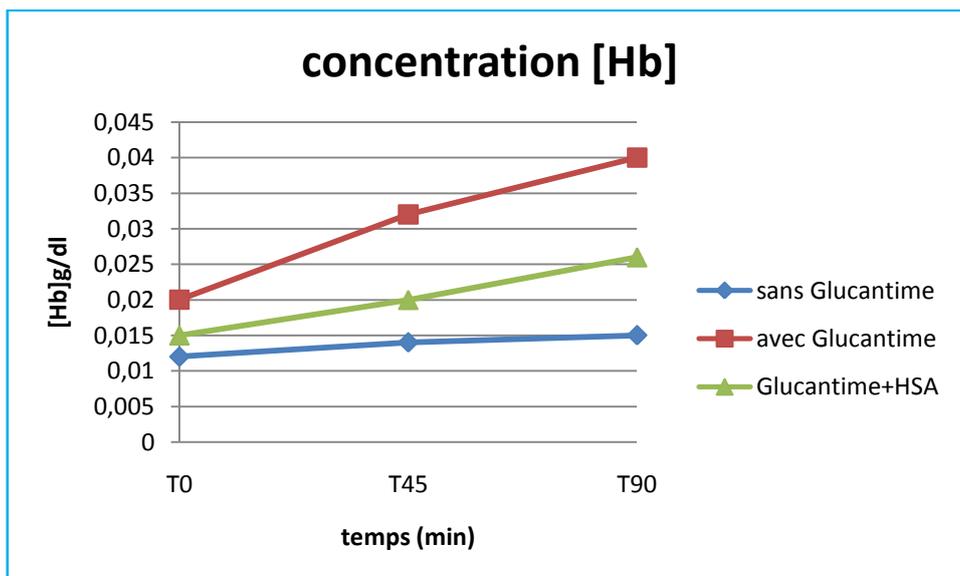


Figure 93: l'effet de la Glucantime® sur la $[Hb]$ en présence et en absence de l'HSA (test 13)

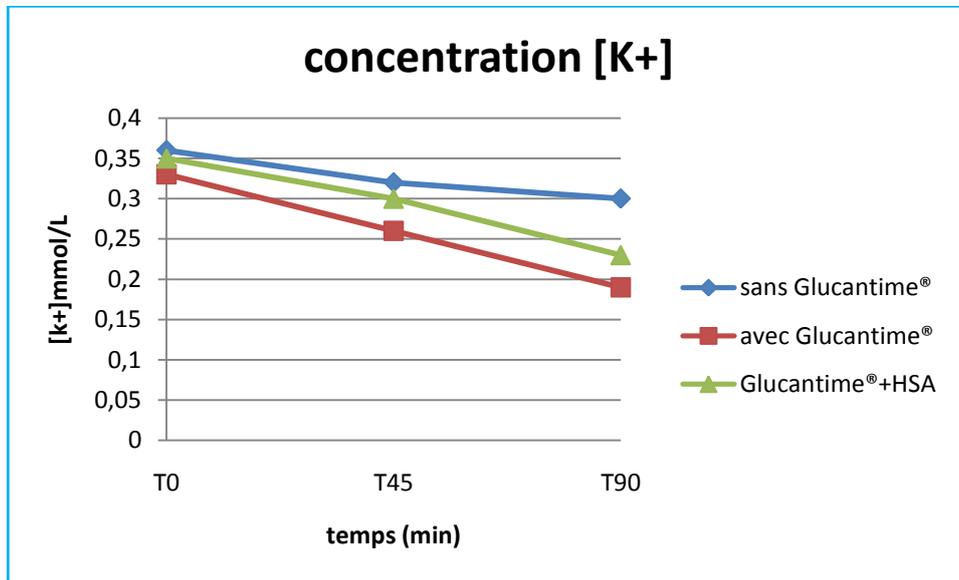


Figure 94: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test13).

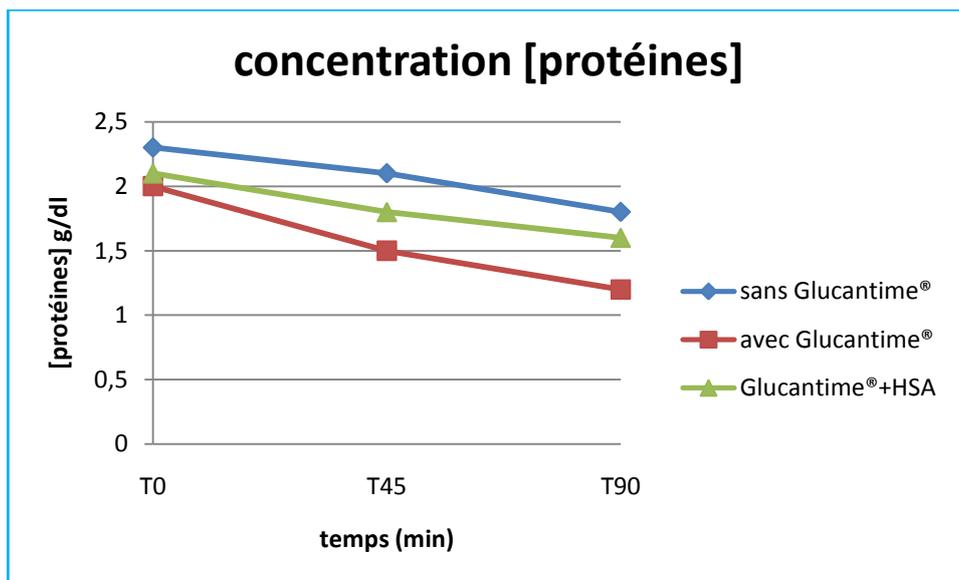


Figure 95: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 13).

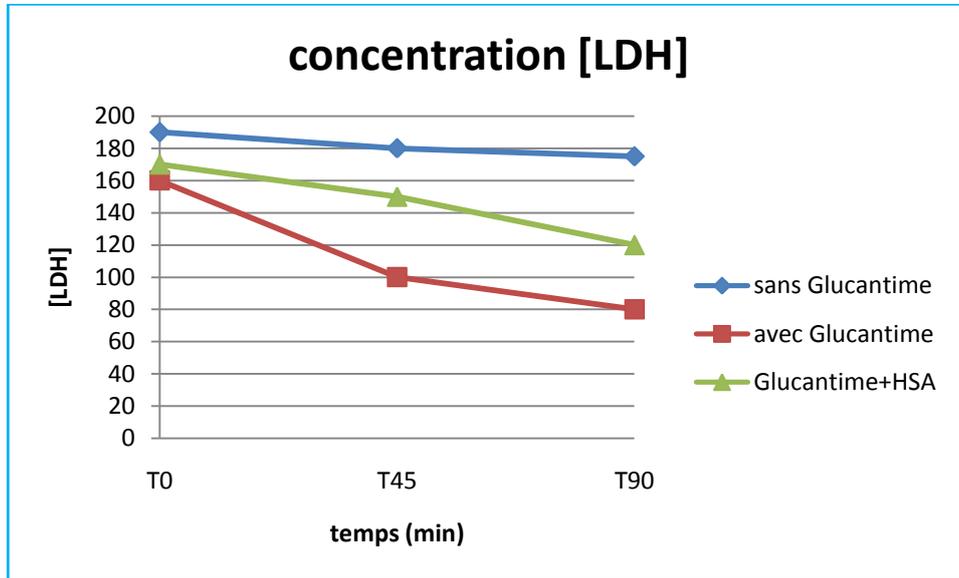


Figure 96: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 13).

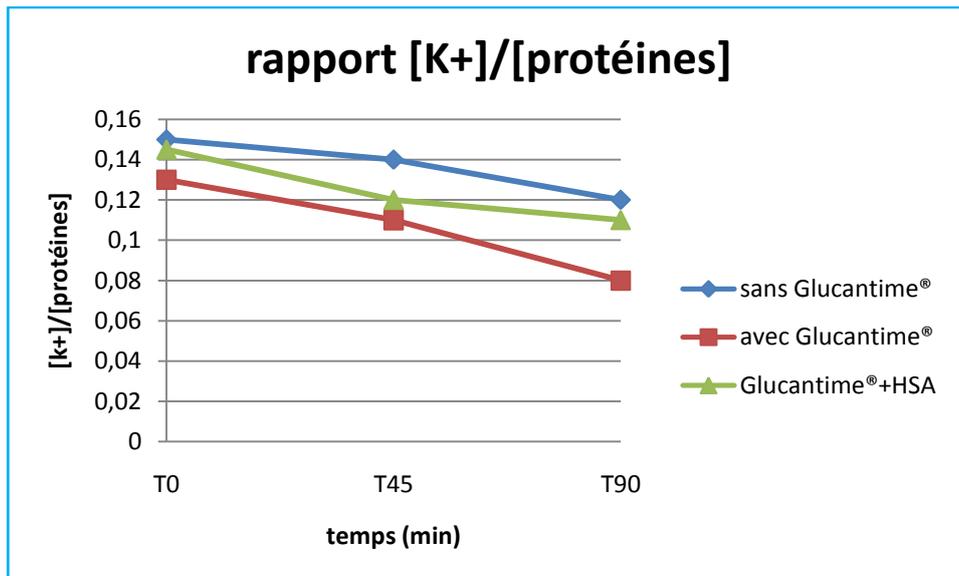


Figure 97: le rapport [K+]/ [protéines] (test 13)

les tests suivant sont effectués avec une dose de 100 µl du Glucantime:

Test n°14 :

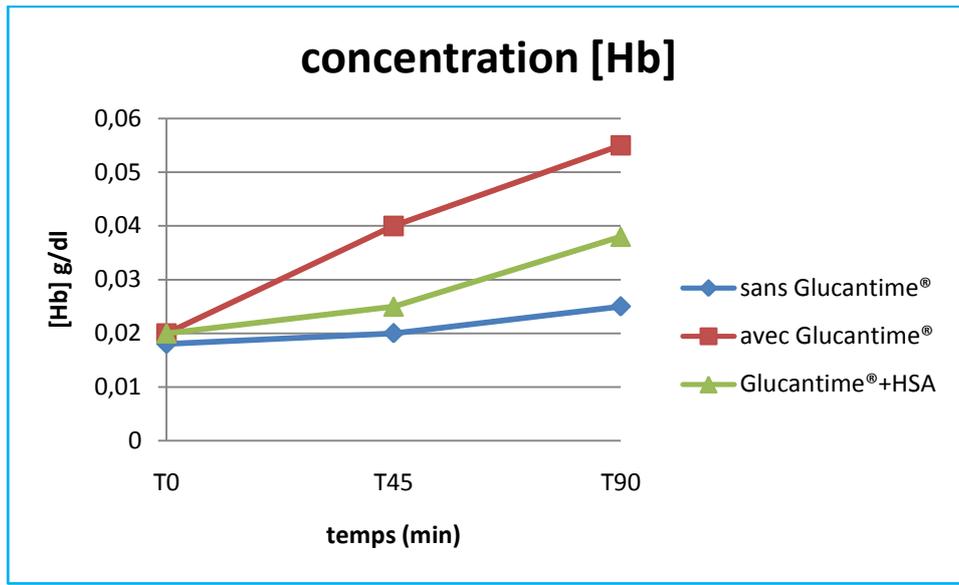


Figure 98: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 14)

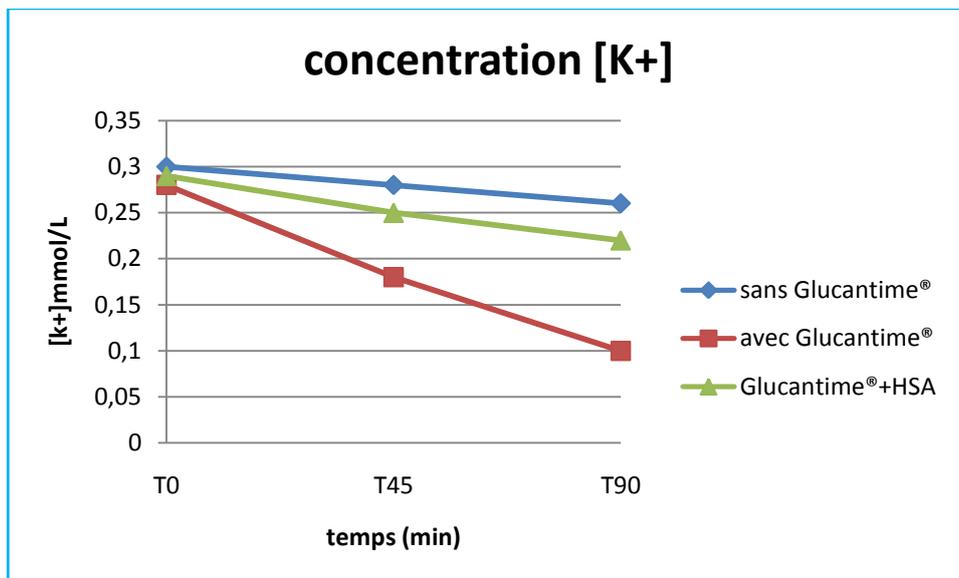


Figure 99: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test14).

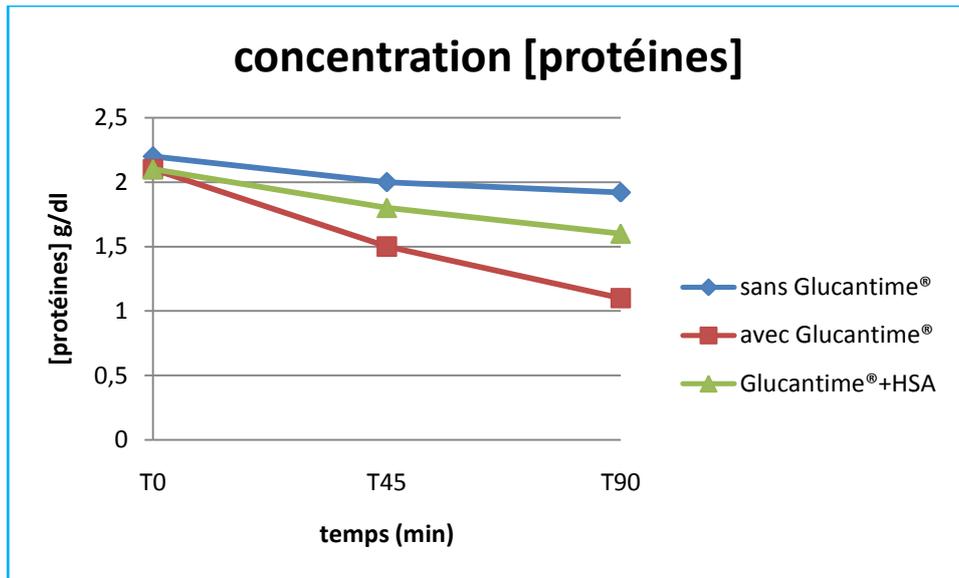


Figure 100: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 13).

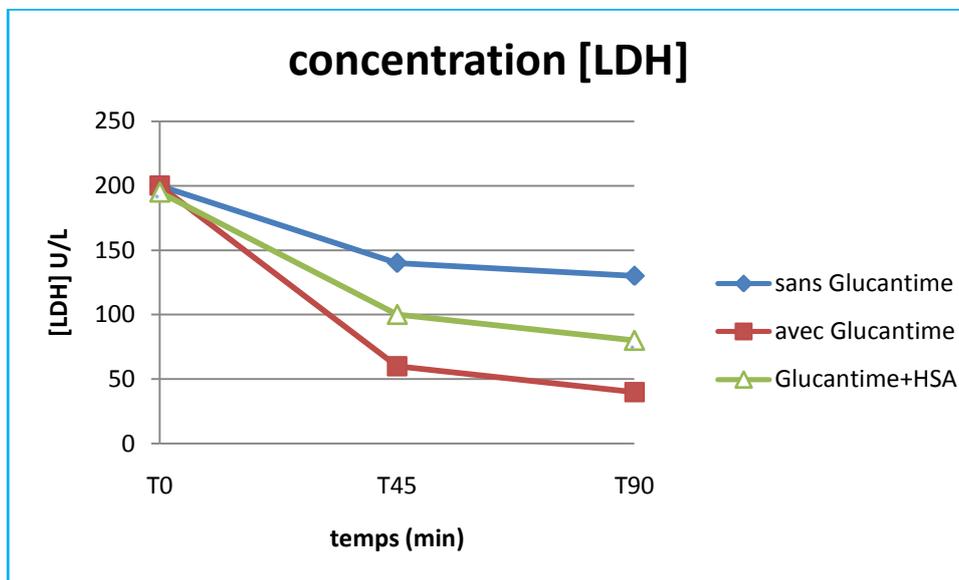


Figure 101: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 14).

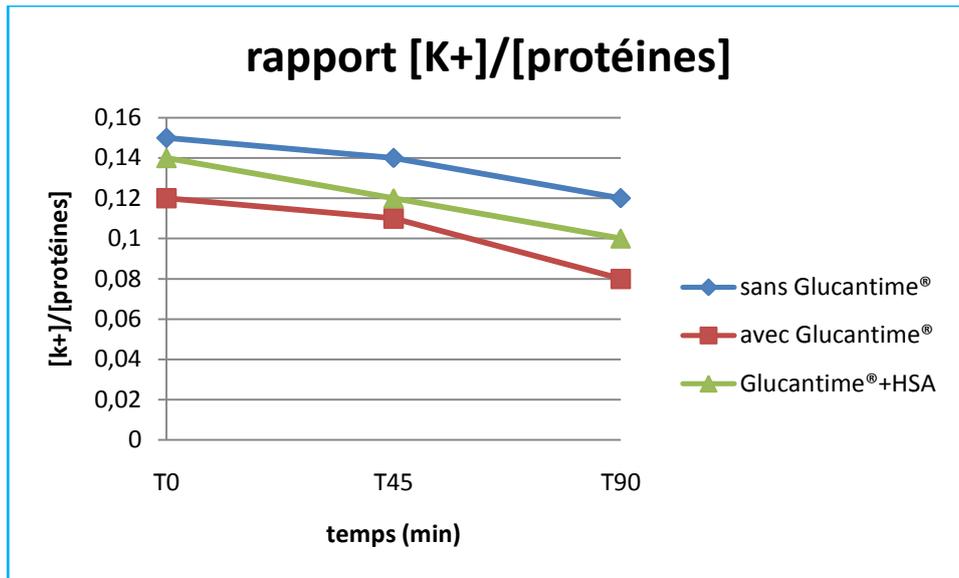


Figure 102: le rapport [K+]/ [protéines] (test 14)

Test n°15 :

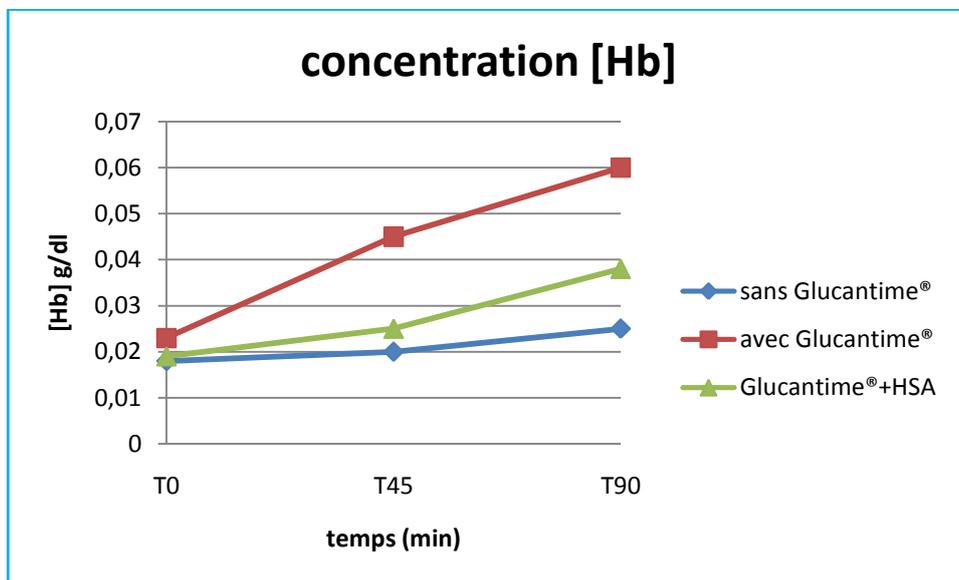


Figure 103 : l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 14)

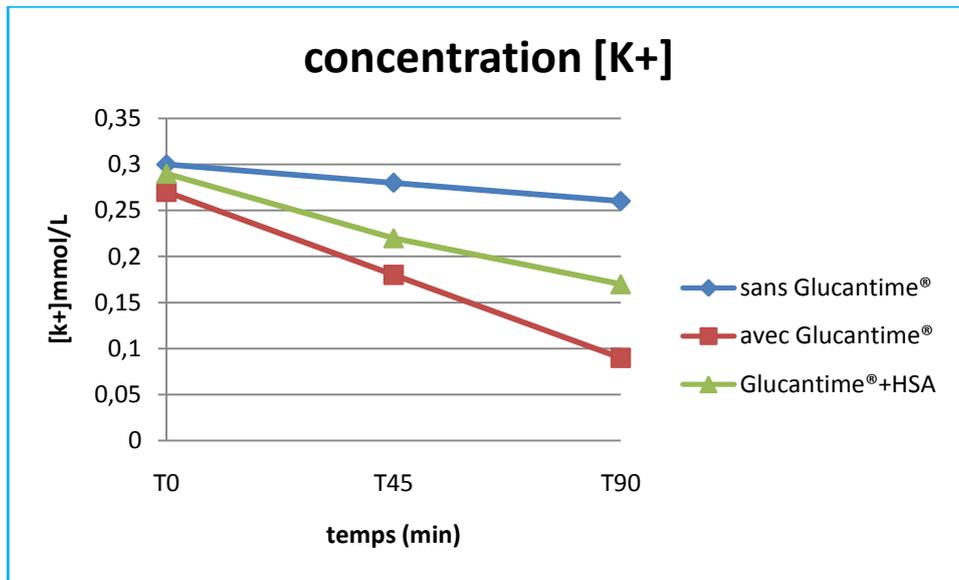


Figure 104: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test15).

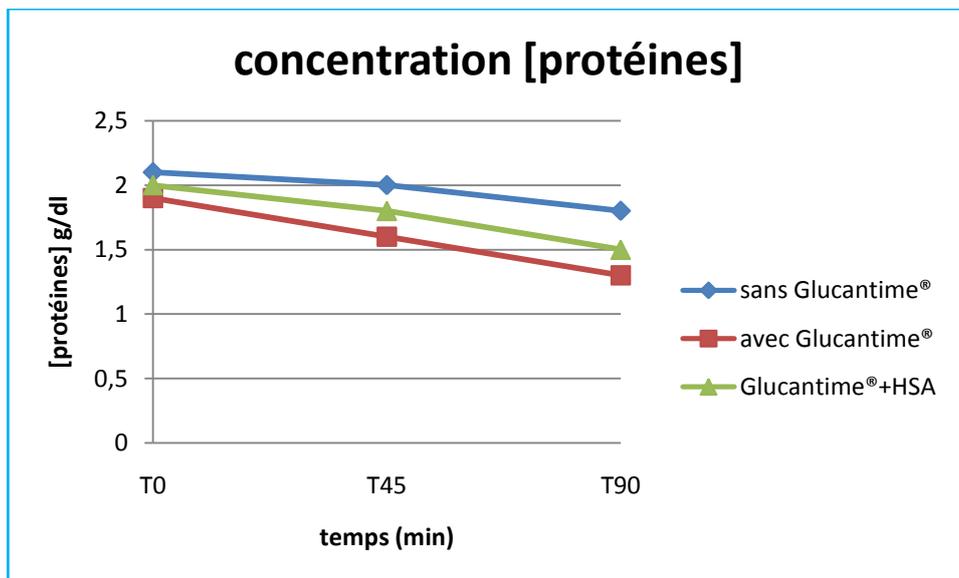


Figure 105: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 15).

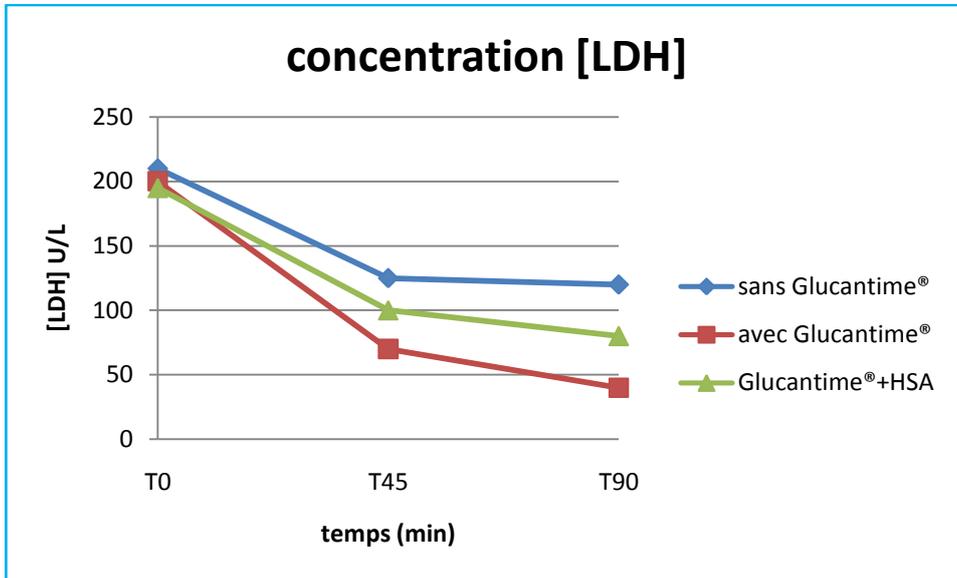


Figure 106: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 15).

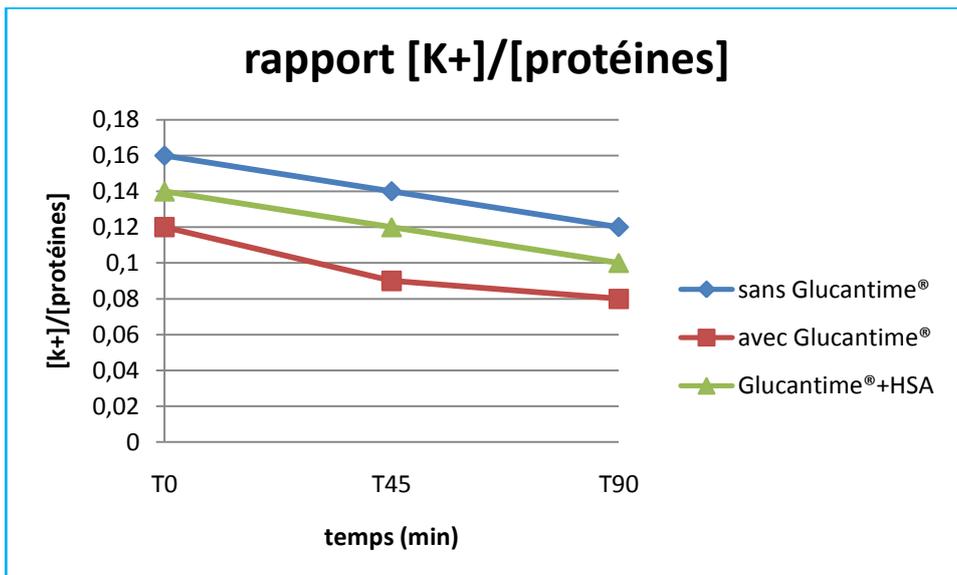


Figure 107: le rapport [K+]/ [protéines] (test 15)

Test n°16 :

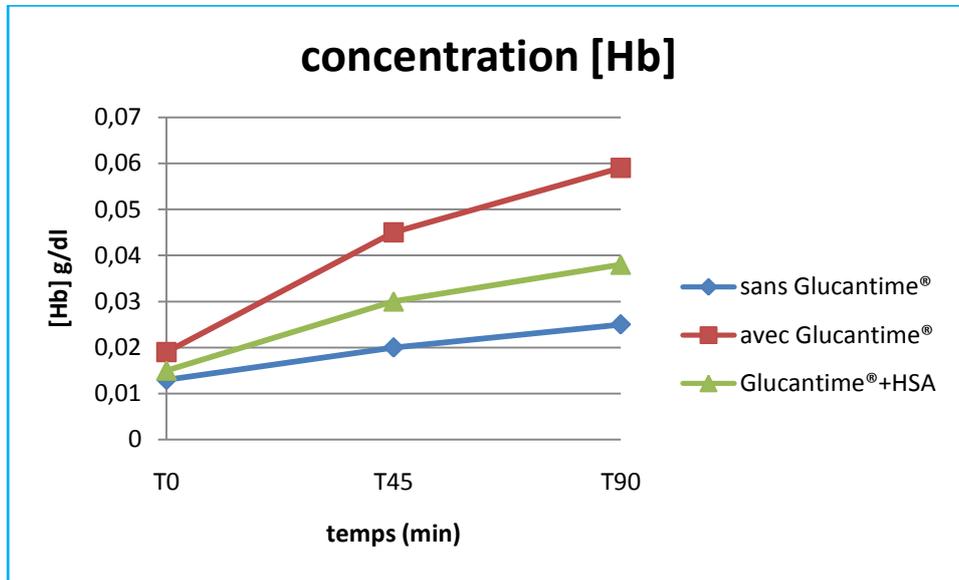


Figure 108: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 16)

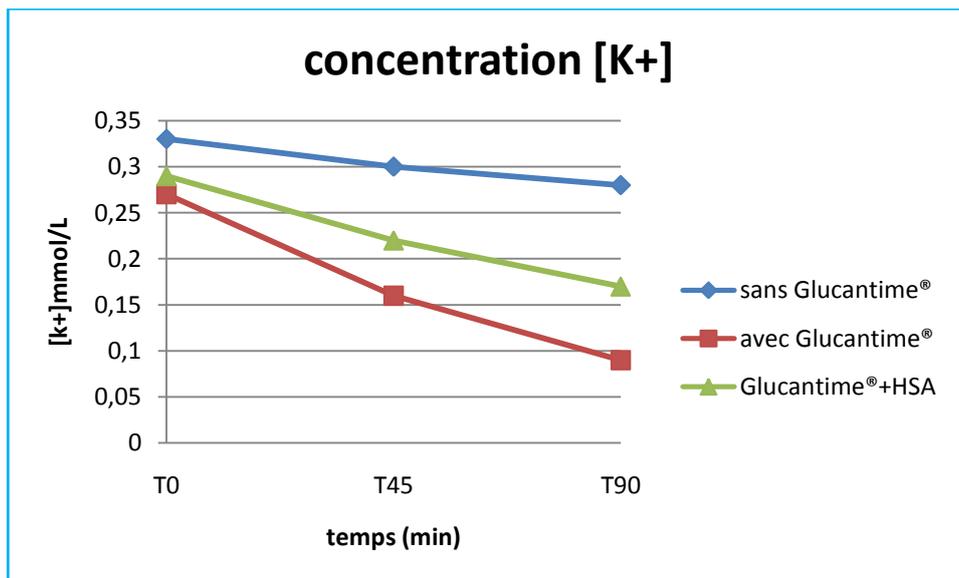


Figure 109: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test16).

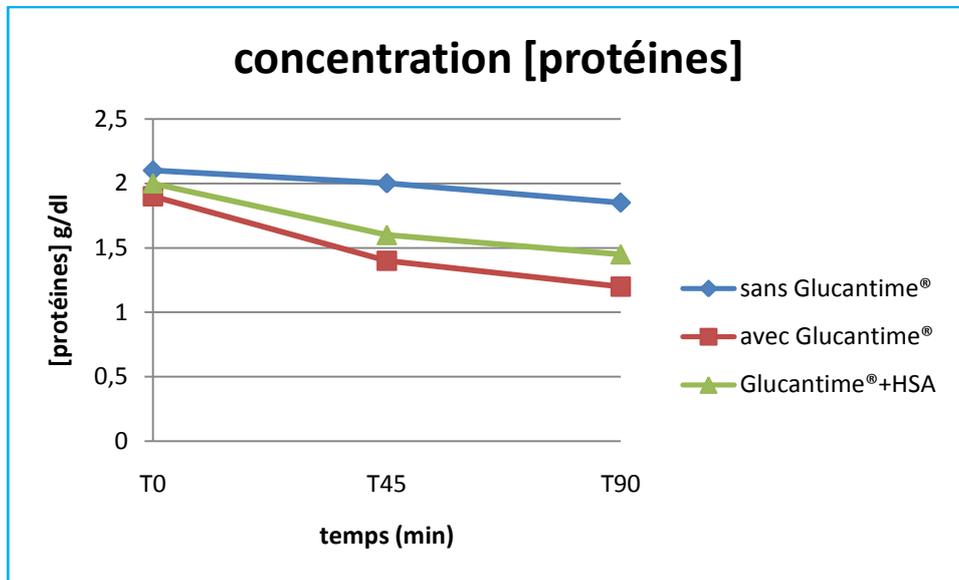


Figure 110: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 16).

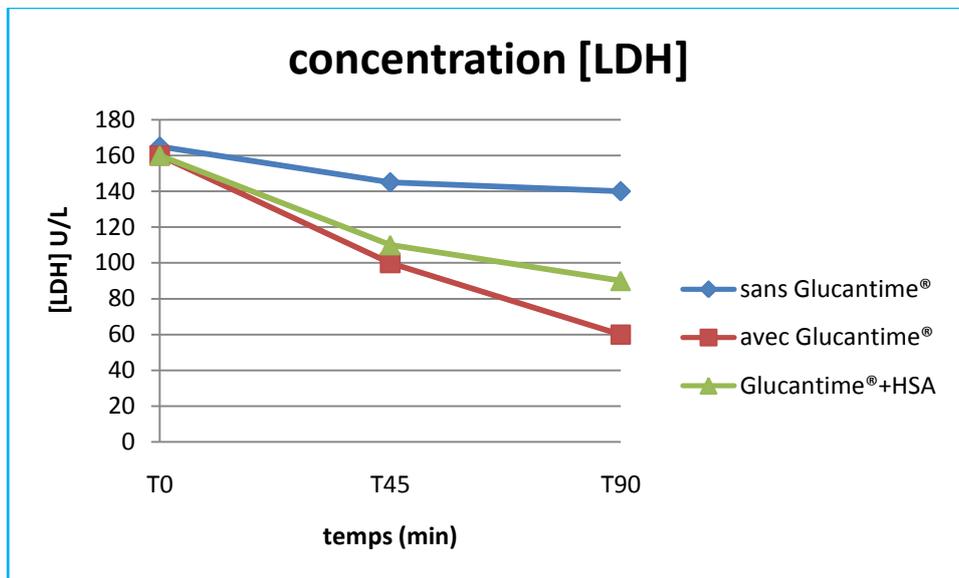


Figure 111: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 16).

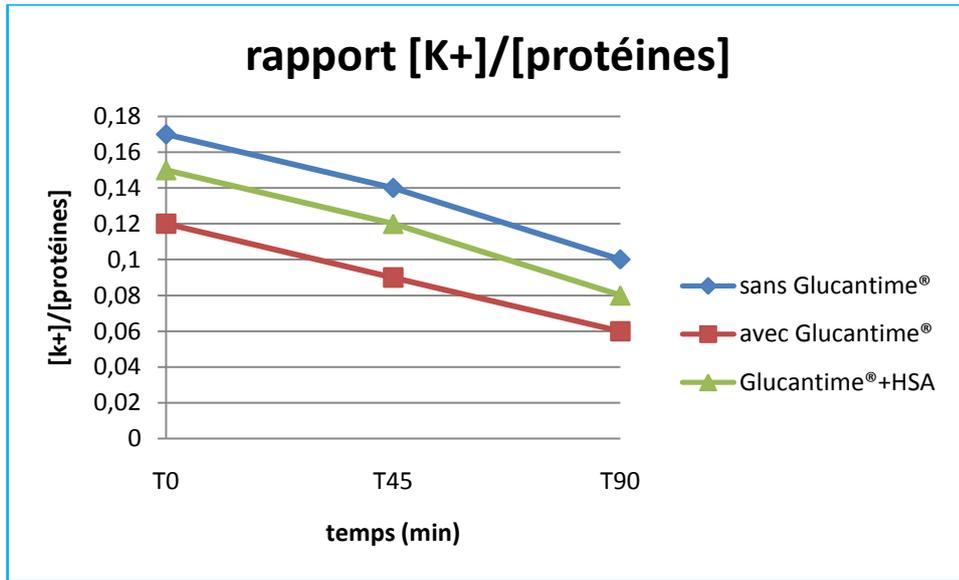


Figure 112: le rapport [K+]/ [protéines] (test 16)

Test n°17 :

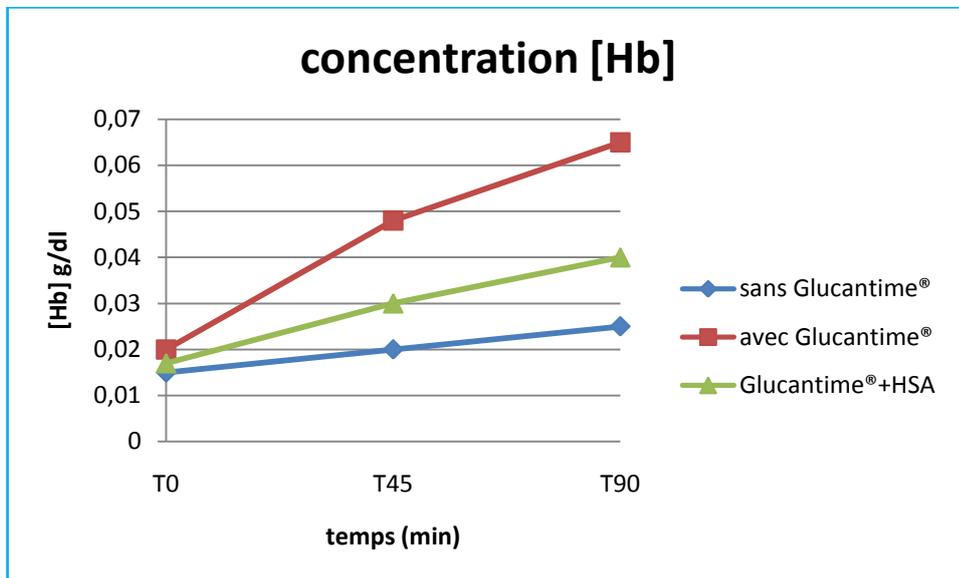


Figure 113: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 17)

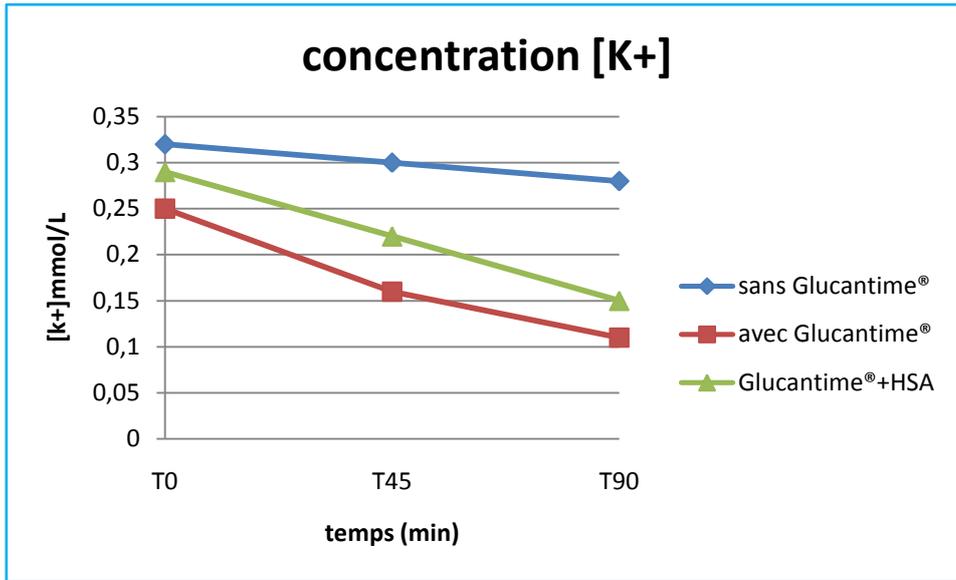


Figure 114: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test17).

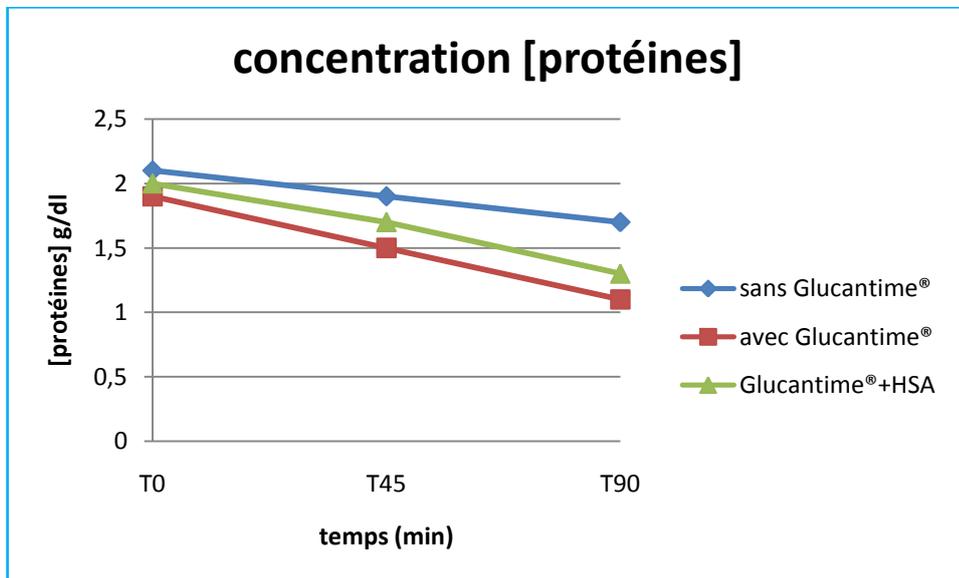


Figure 115: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 17).

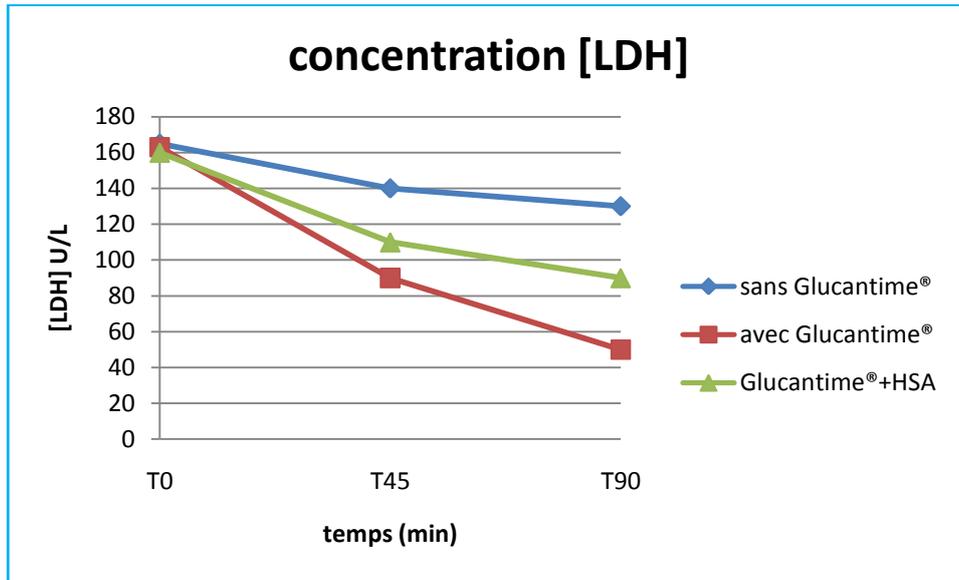


Figure 116: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 17).

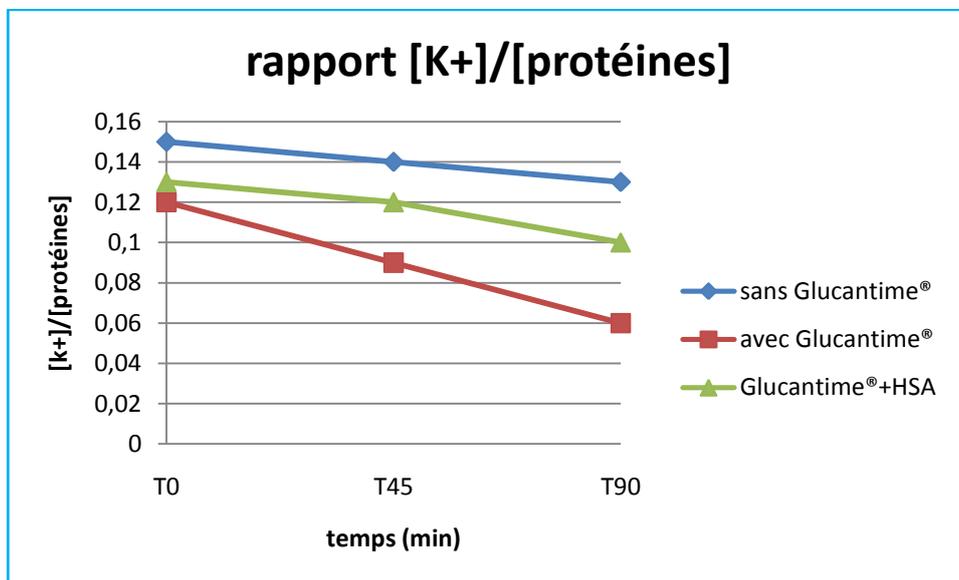


Figure 117: le rapport [K+]/ [protéines] (test 17)

Test n°18 :

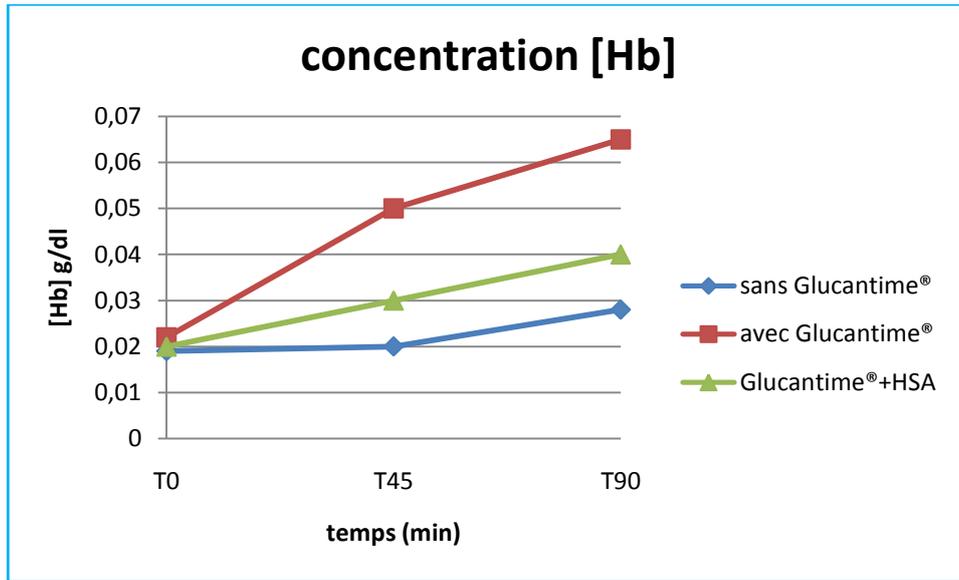


Figure 118: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 18)

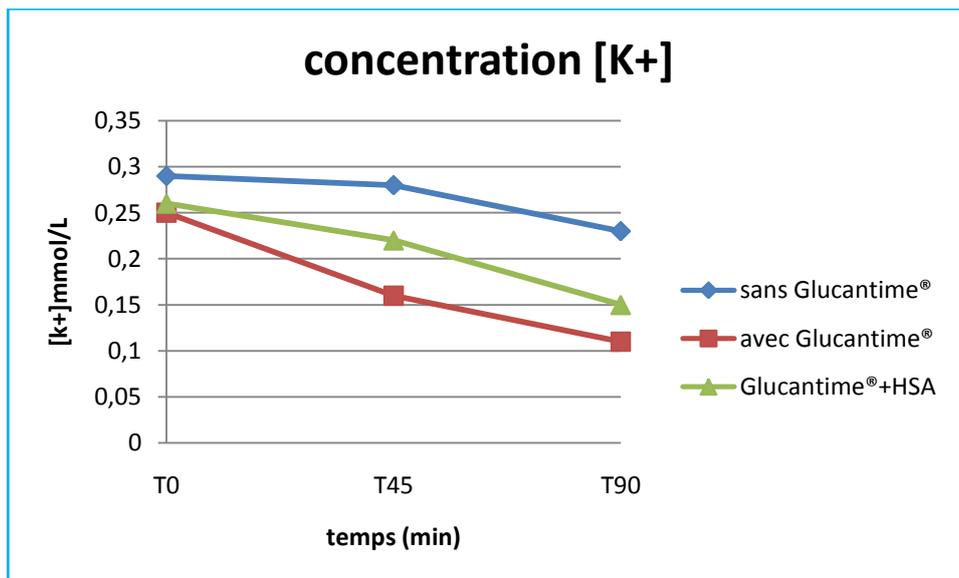


Figure 119: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test18).

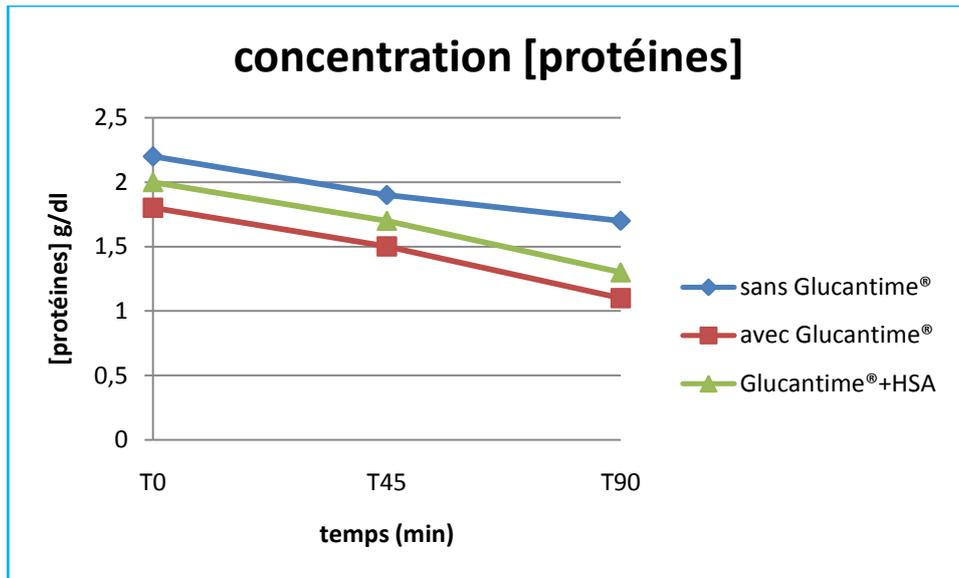


Figure 120: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 18).

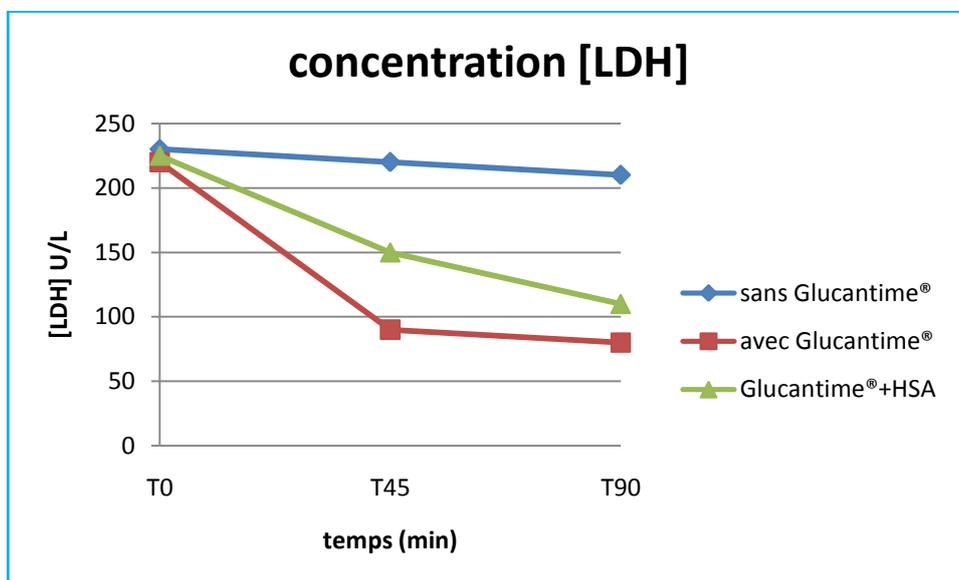


Figure 121: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 18).

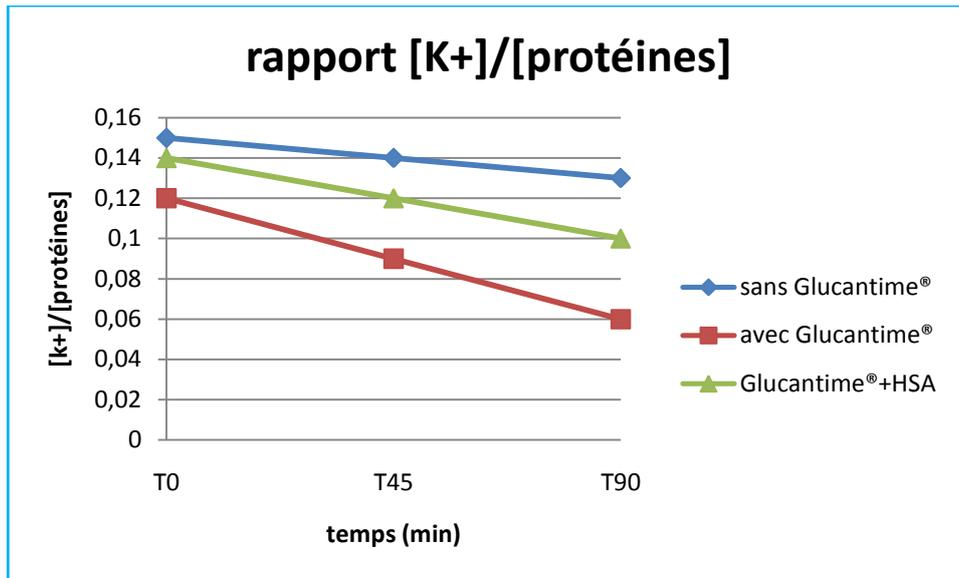


Figure 122: le rapport [K+]/ [protéines] (test 18)

Test n°19 :

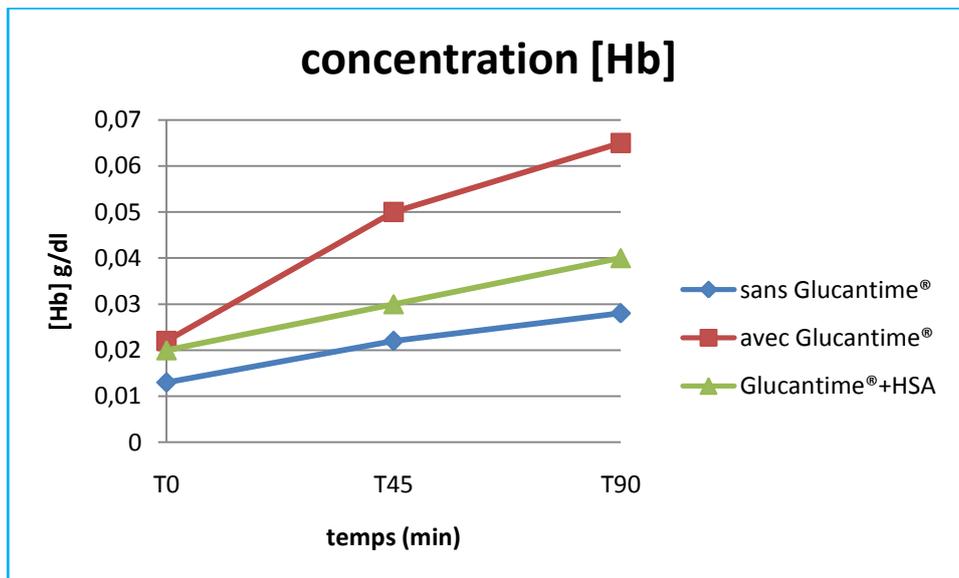


Figure 123: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 19)

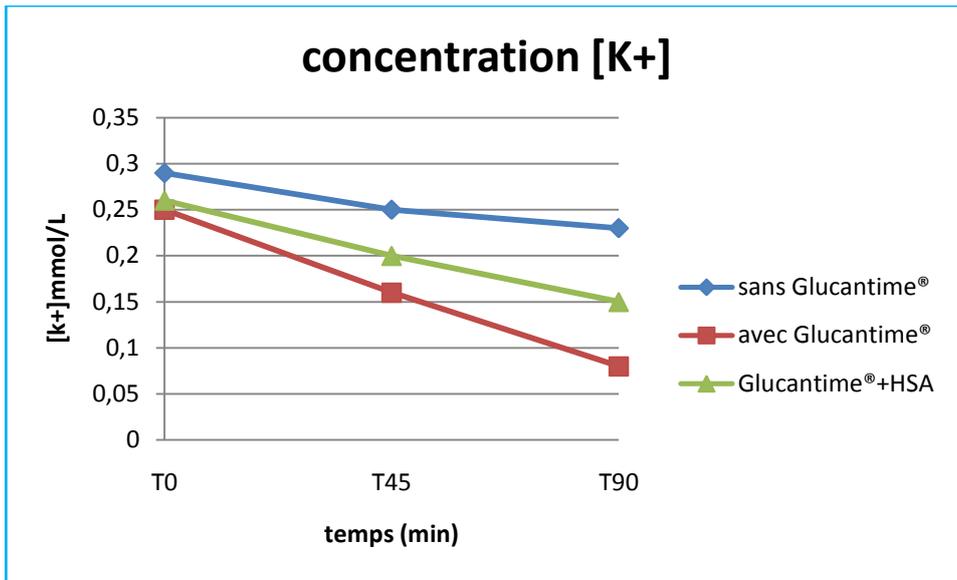


Figure 124: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 19).

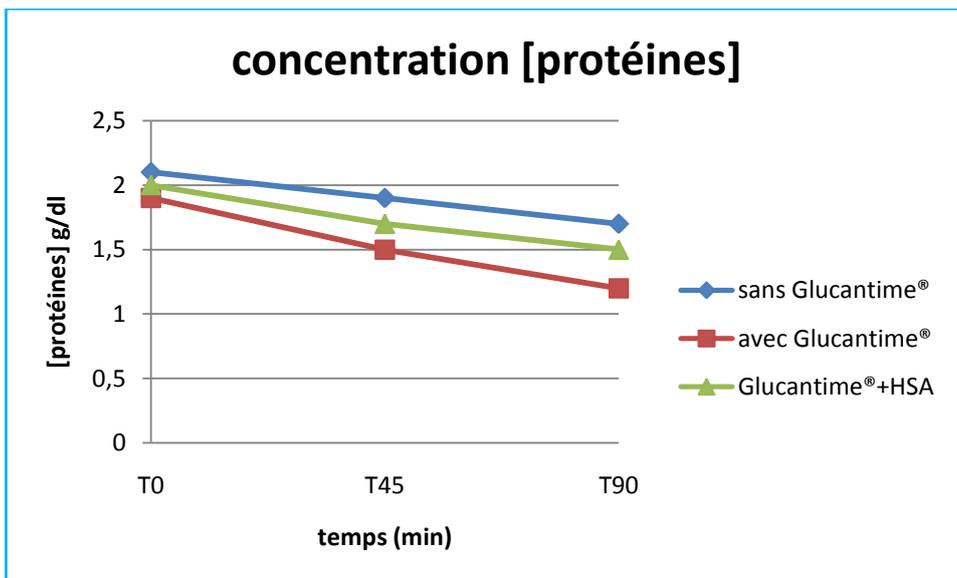


Figure 125: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 19).

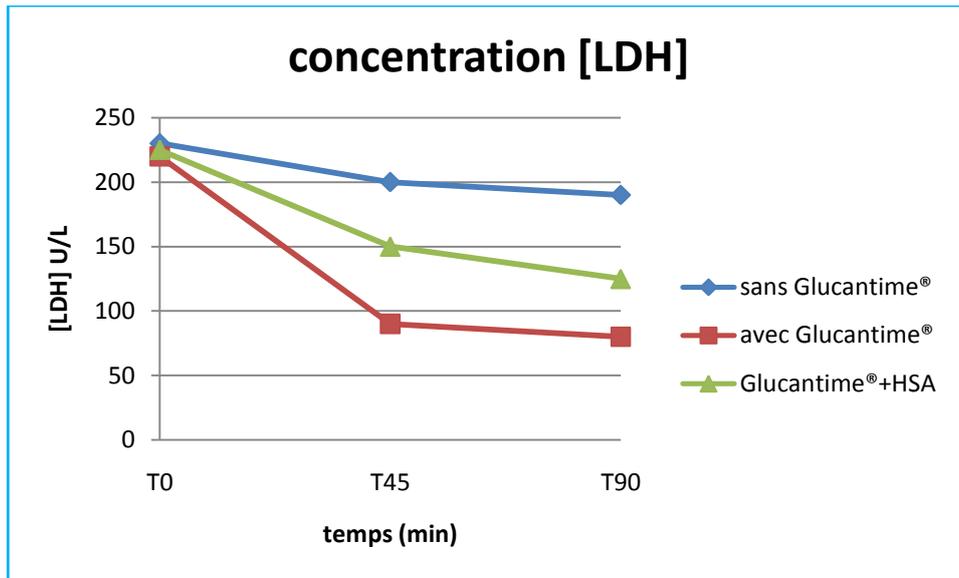


Figure 126: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 19).

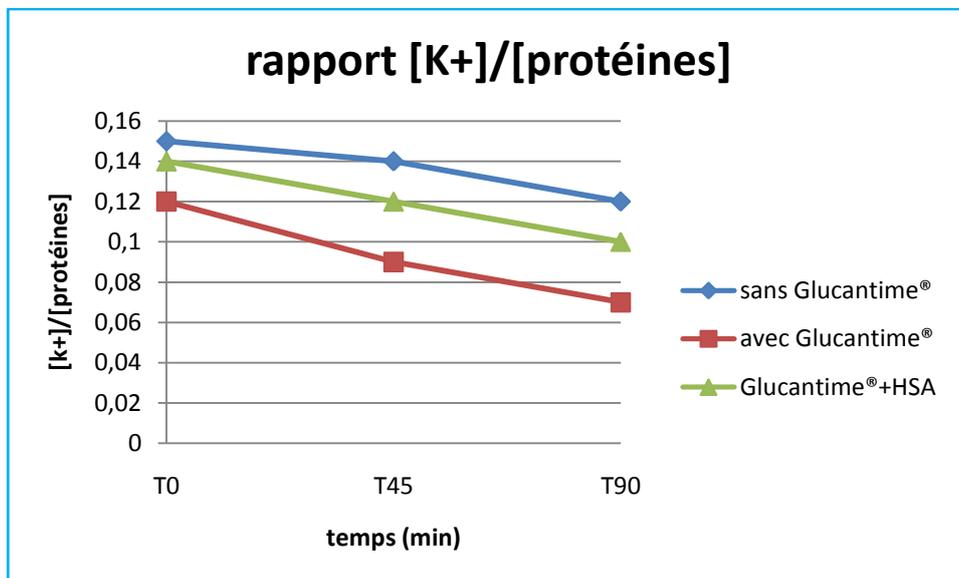


Figure 127: le rapport [K+]/ [protéines] (test 19)

Test n°20 :

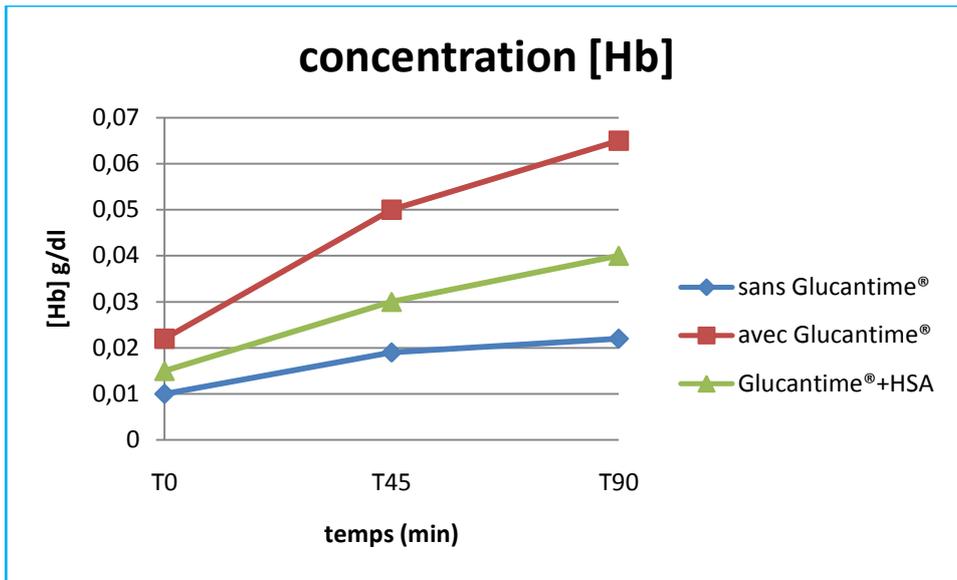


Figure 128: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 20)

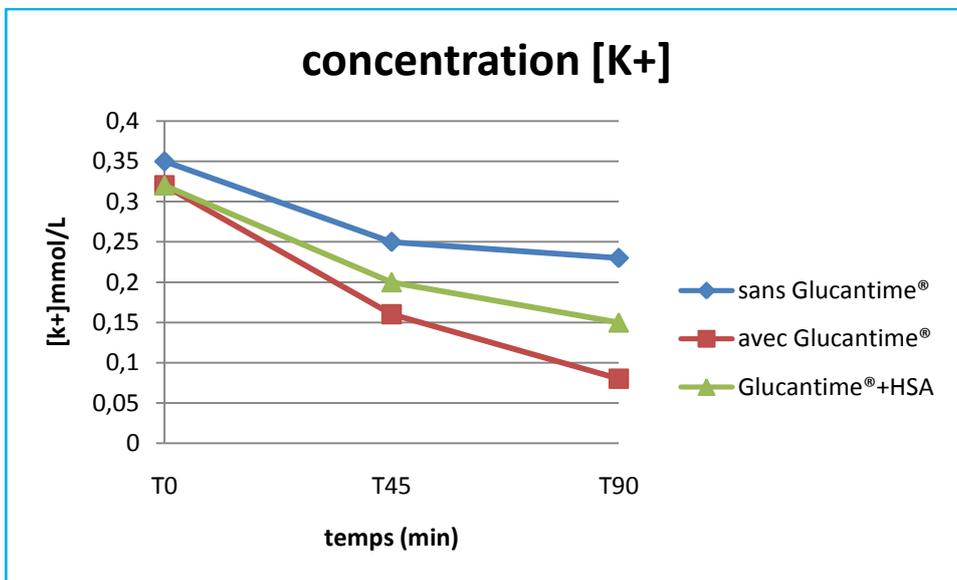


Figure 129: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 20).

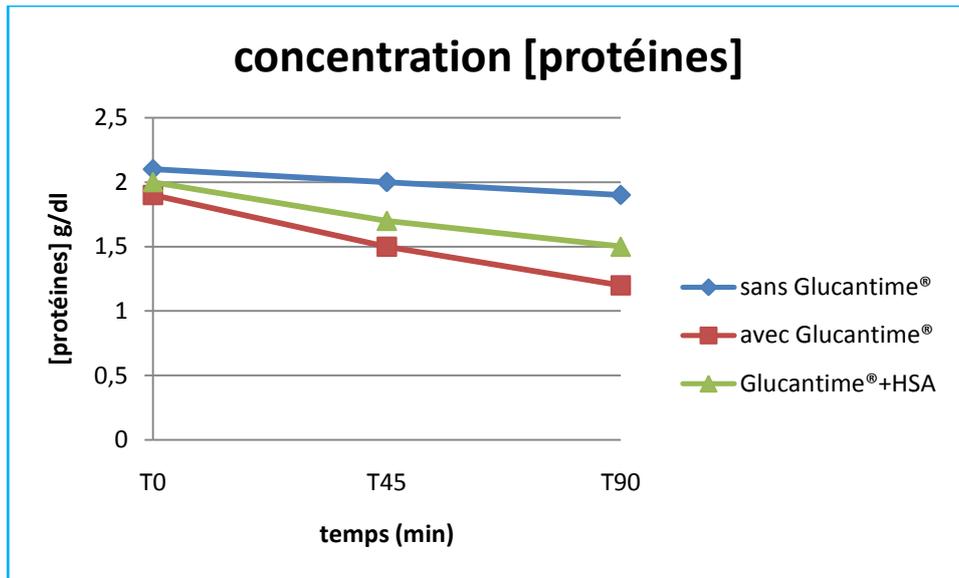


Figure 130: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 20).

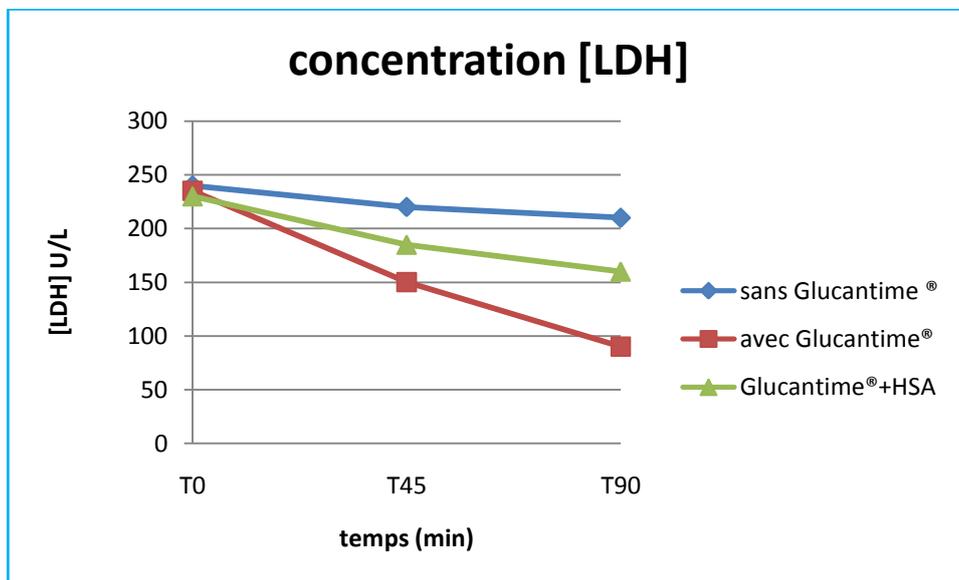


Figure 131: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 20).

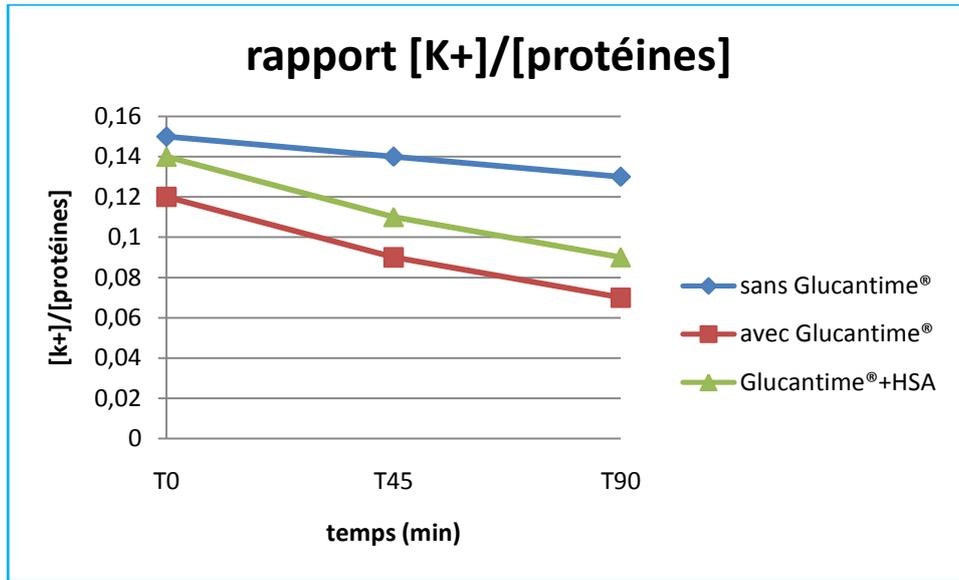


Figure 132: le rapport [K+]/ [protéines] (test 20)

Test n°21 :

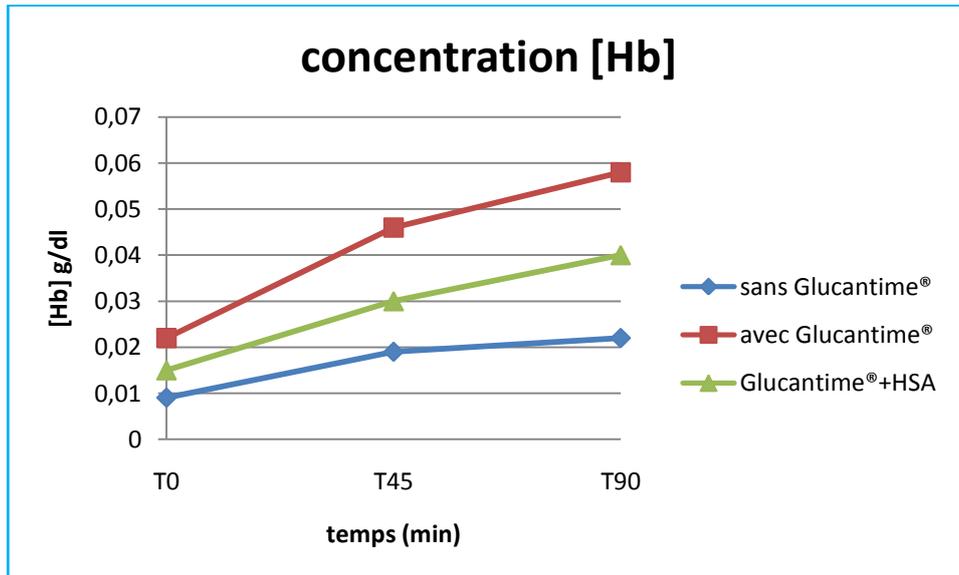


Figure 133: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 21)

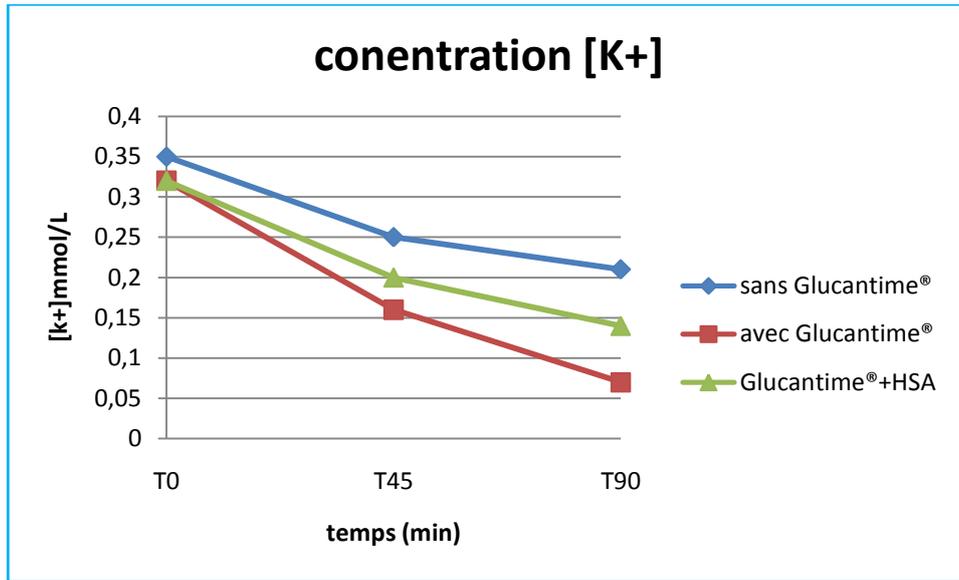


Figure 134: l'effet de la Glucantime® sur la [k⁺] en présence et en absence de l'HSA (test 21).

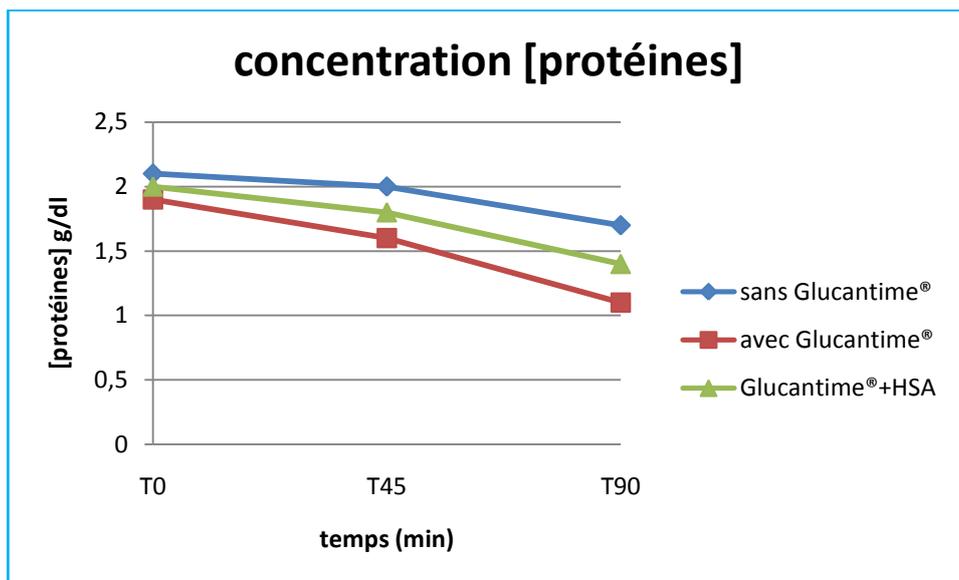


Figure 135: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 21).

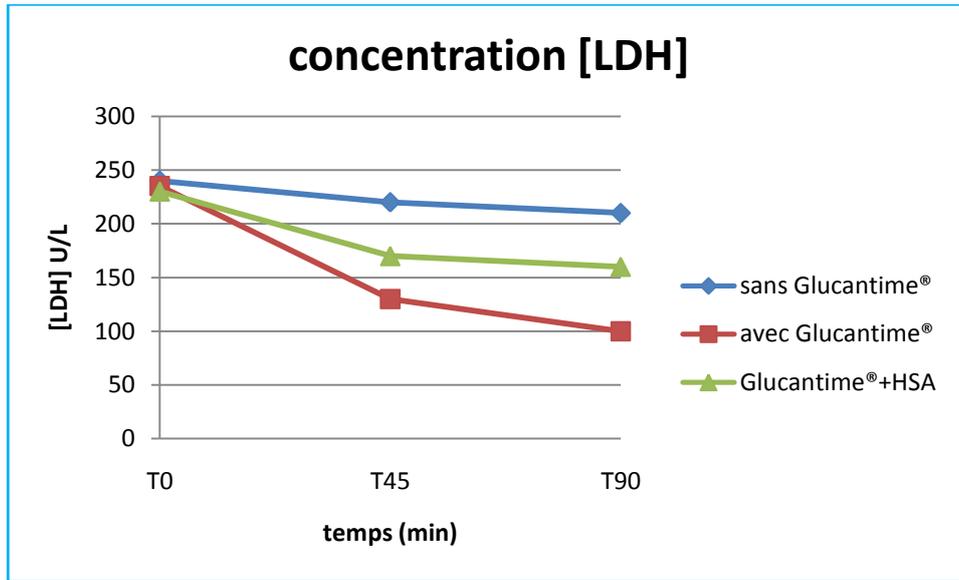


Figure 136: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 21).

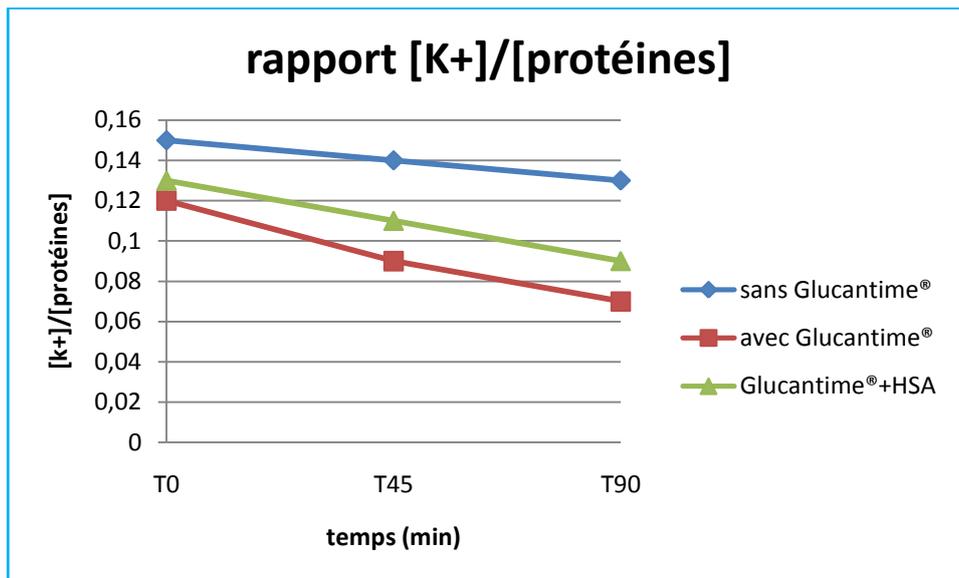


Figure 137: le rapport [K+]/ [protéines] (test 21)

Test n°22 :

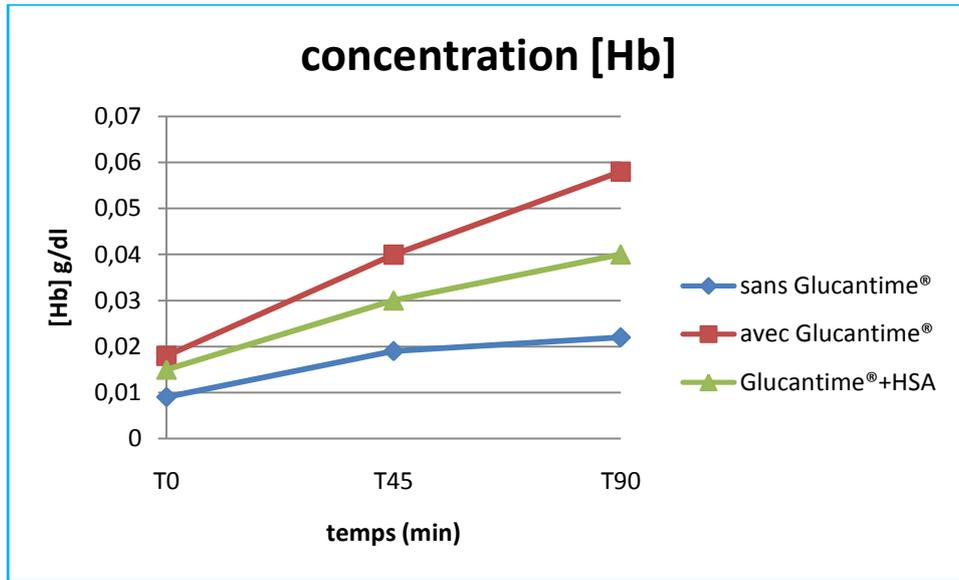


Figure 138: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 22)

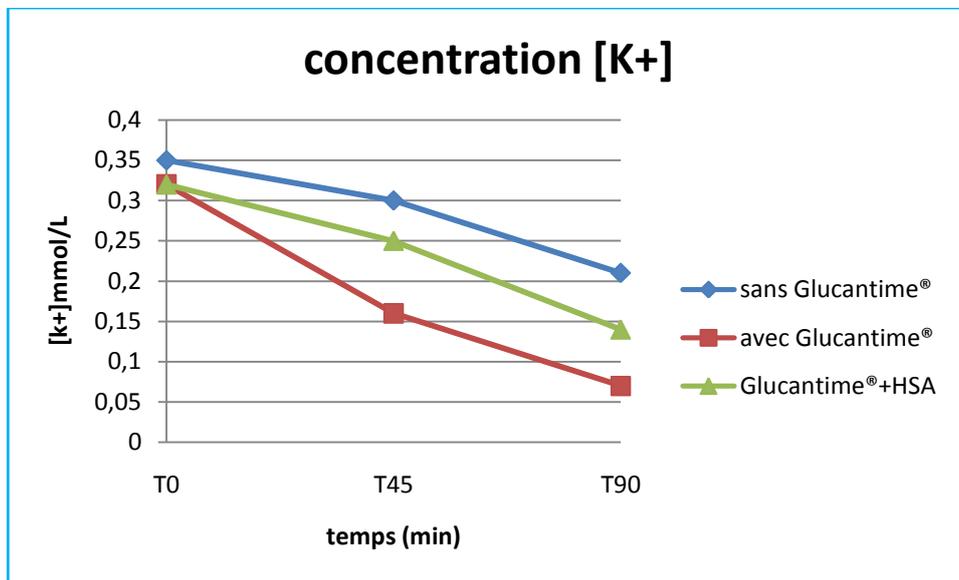


Figure 139: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 22).

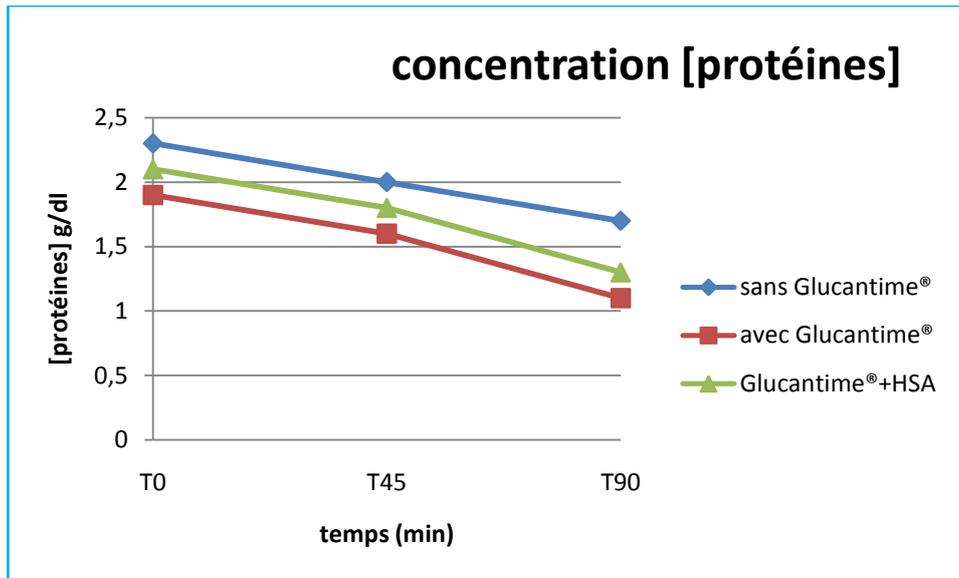


Figure 140: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 22).

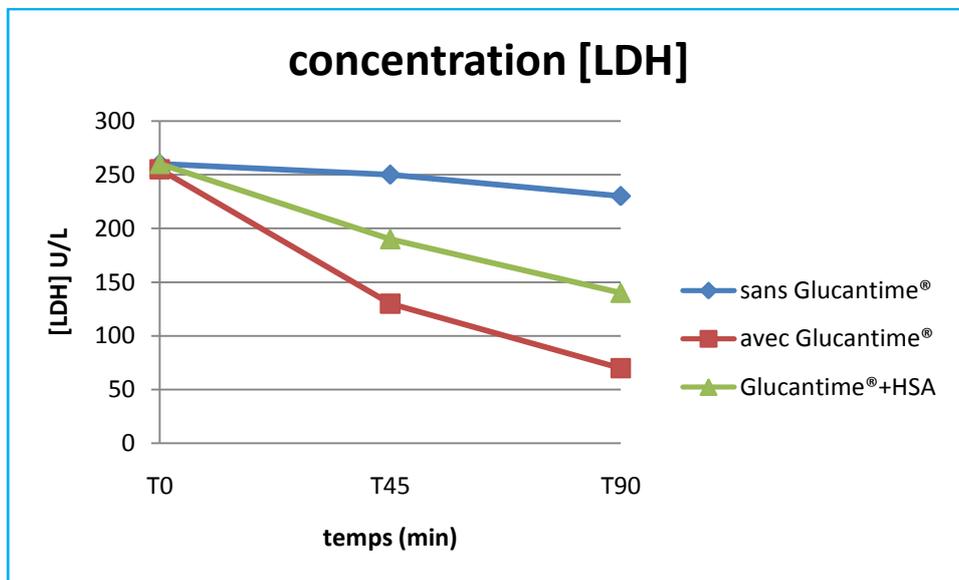


Figure 141: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 22).

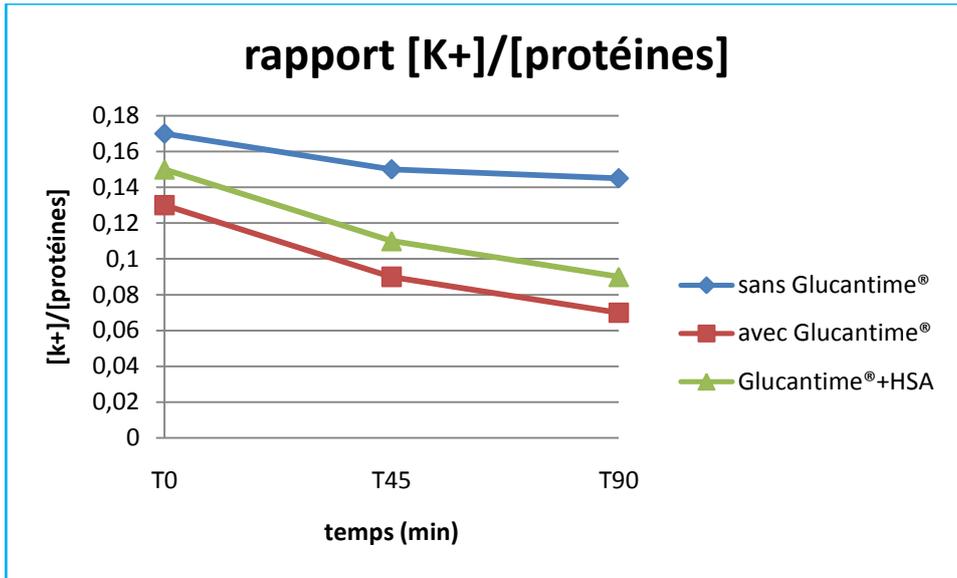


Figure 142: le rapport [K+]/ [protéines] (test 22)

Test n°23 :

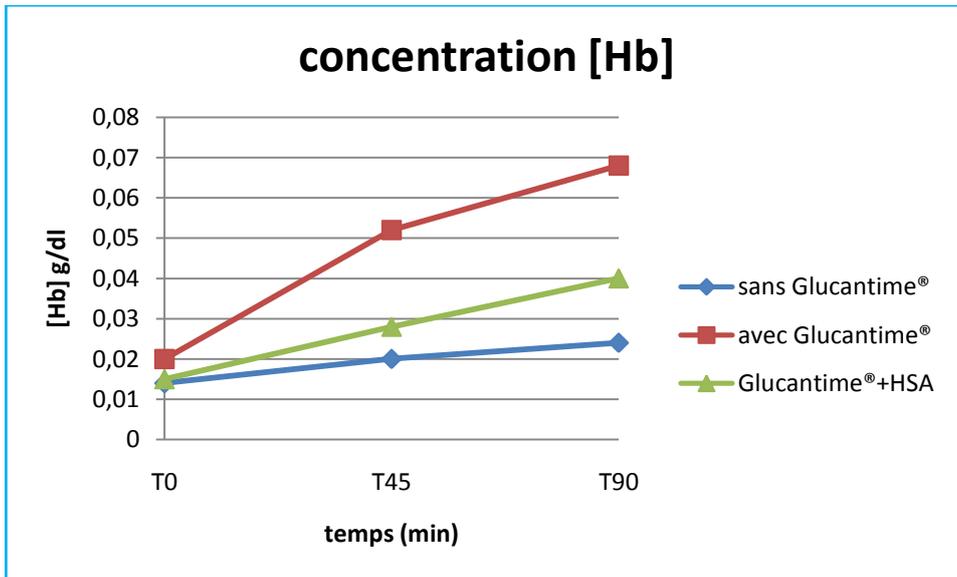


Figure 143: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 22)

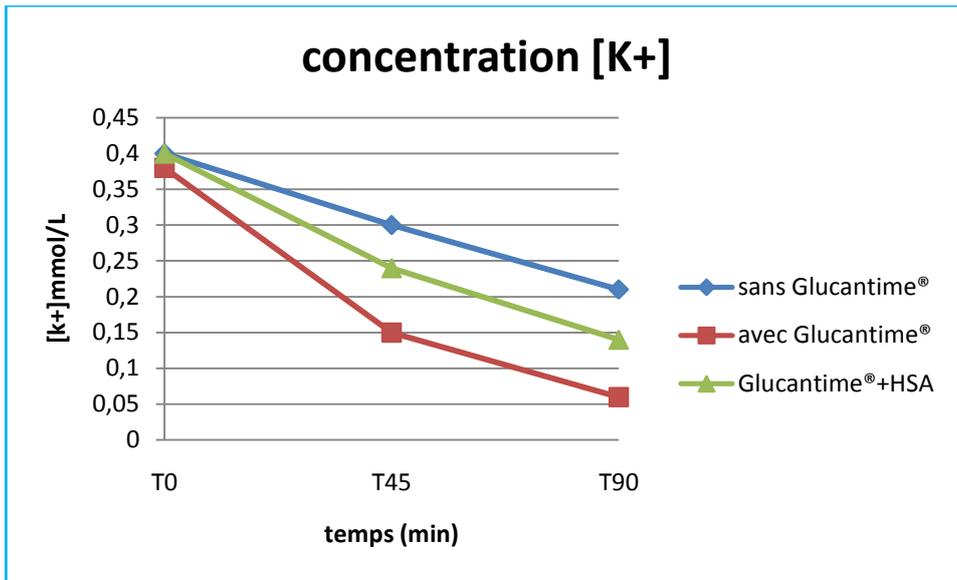


Figure 144: l'effet de la Glucantime® sur la [k⁺] en présence et en absence de l'HSA (test 23).

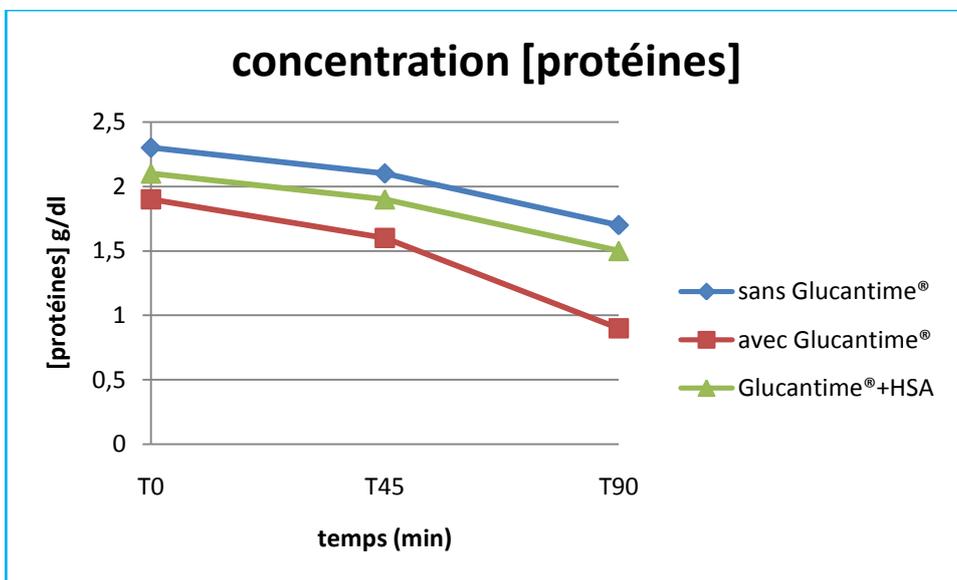


Figure 145: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 23).

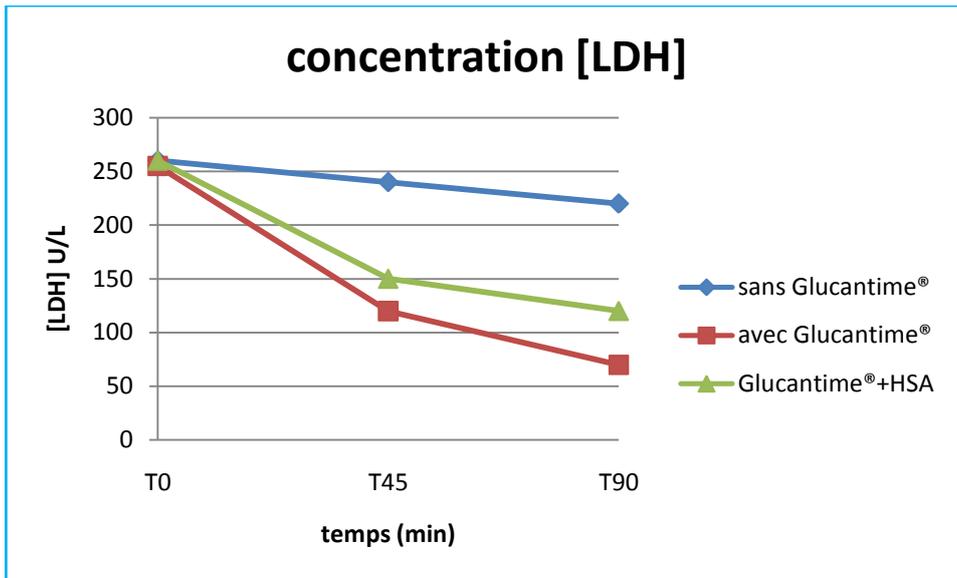


Figure 146: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 23).

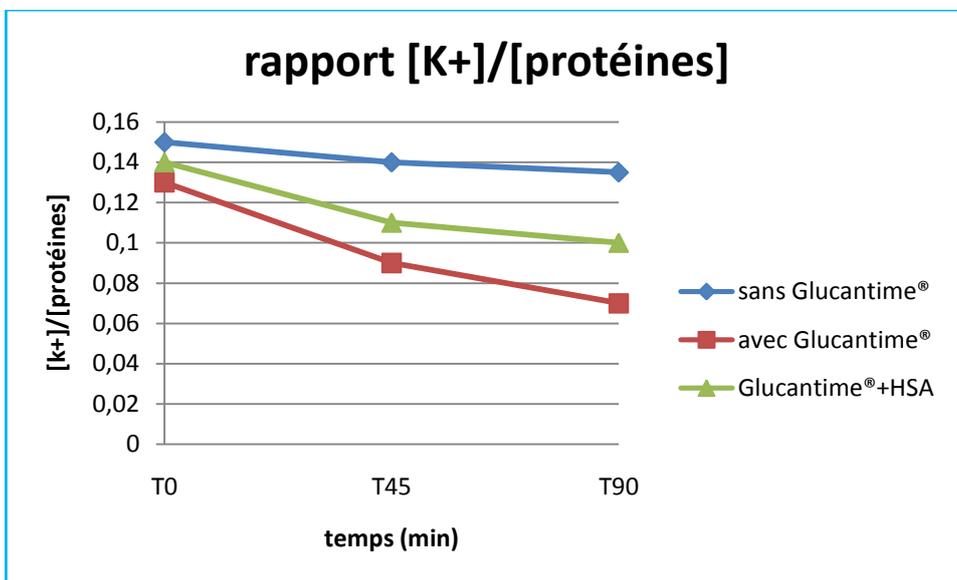


Figure 147: le rapport [K+]/ [protéines] (test 23)

Test n°24 :

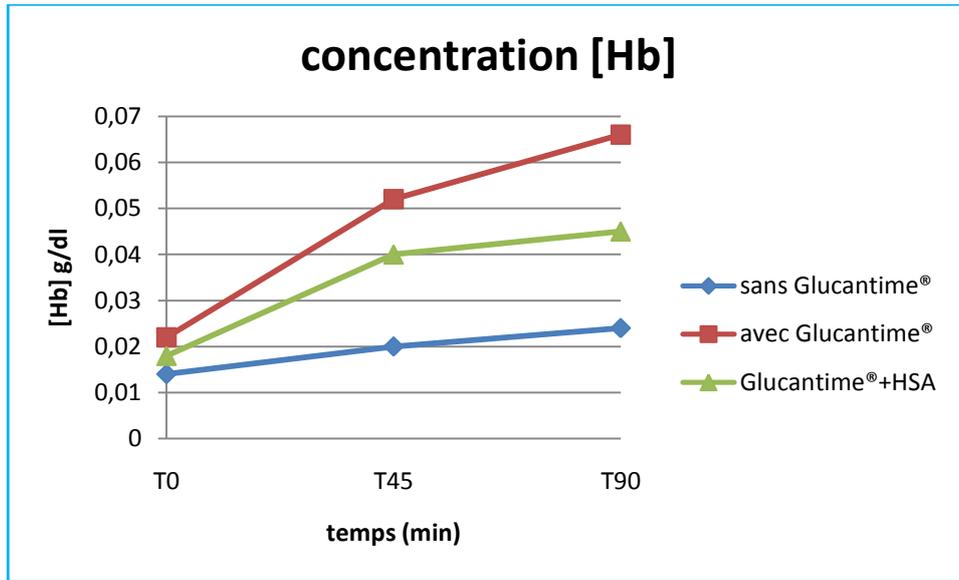


Figure 148: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 24)

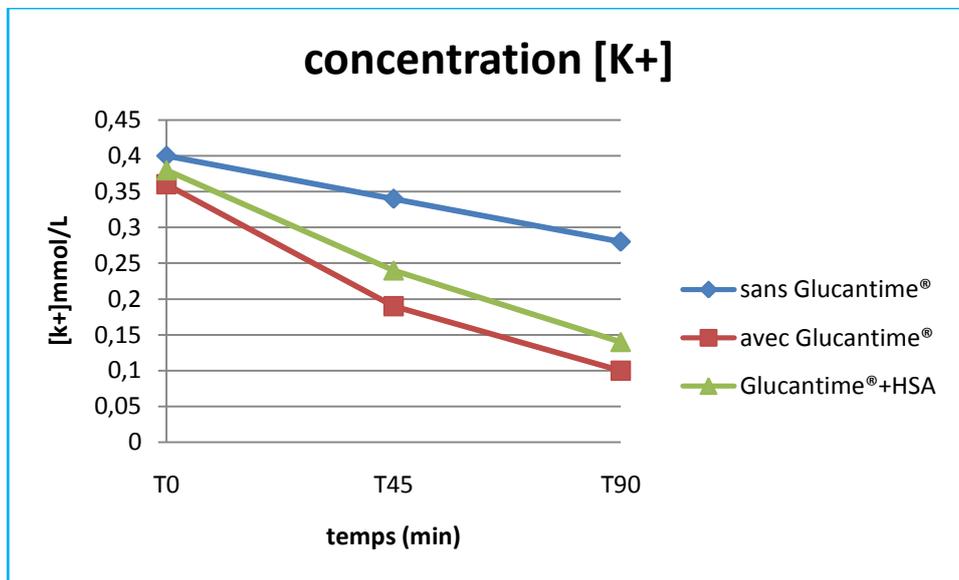


Figure 149: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 24).

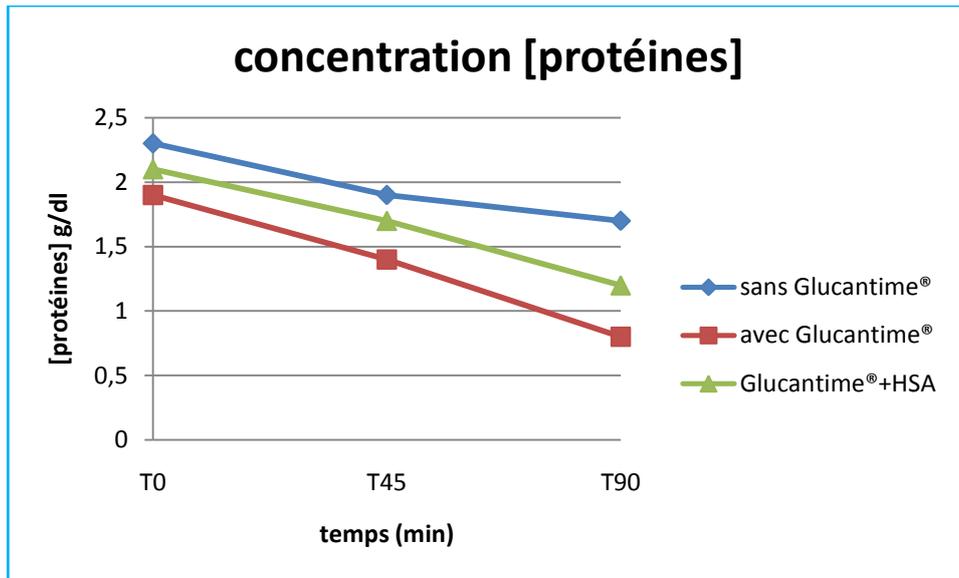


Figure 150: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 24).

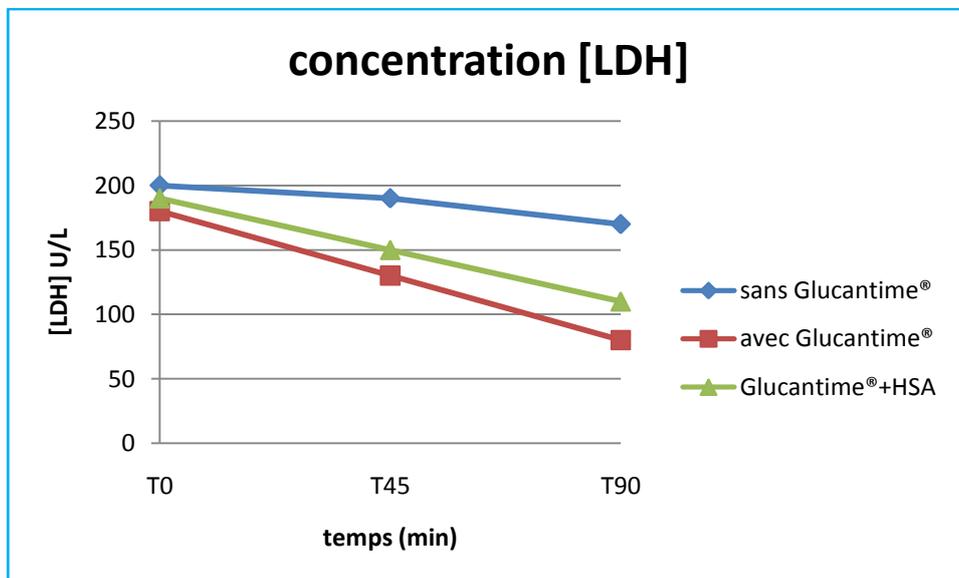


Figure 151: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 24).

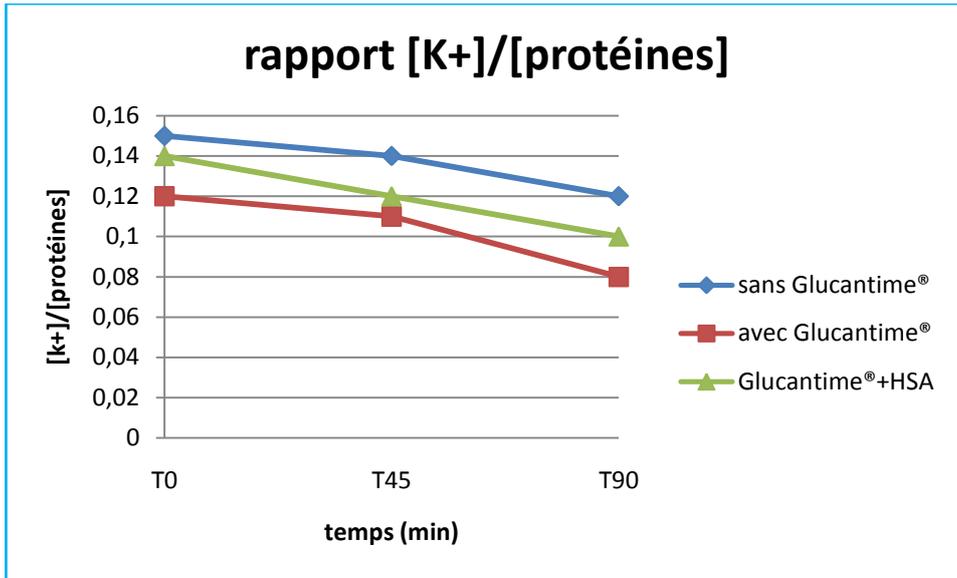


Figure 152: le rapport [K⁺]/ [protéines] (test 24)

Test n°25 :

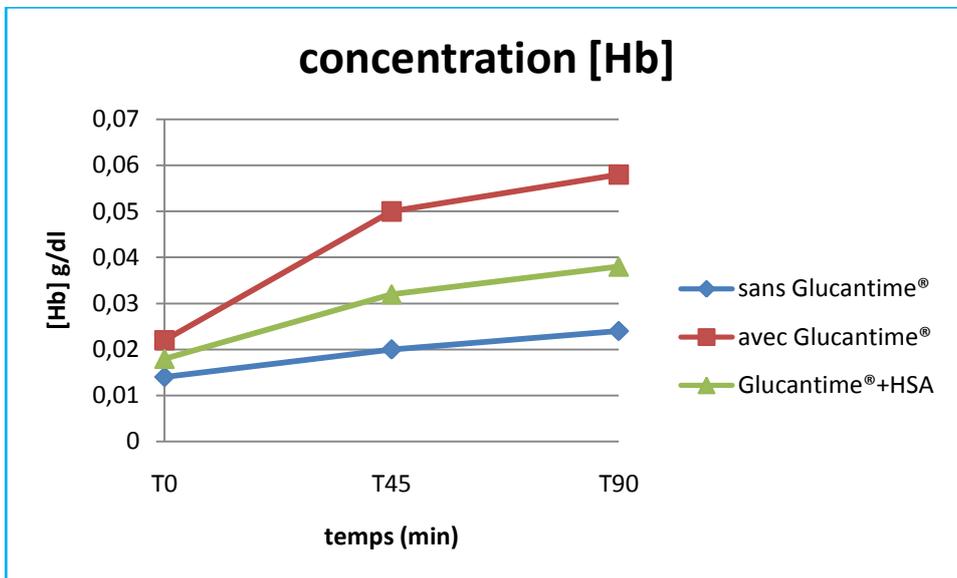


Figure 153: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 25)

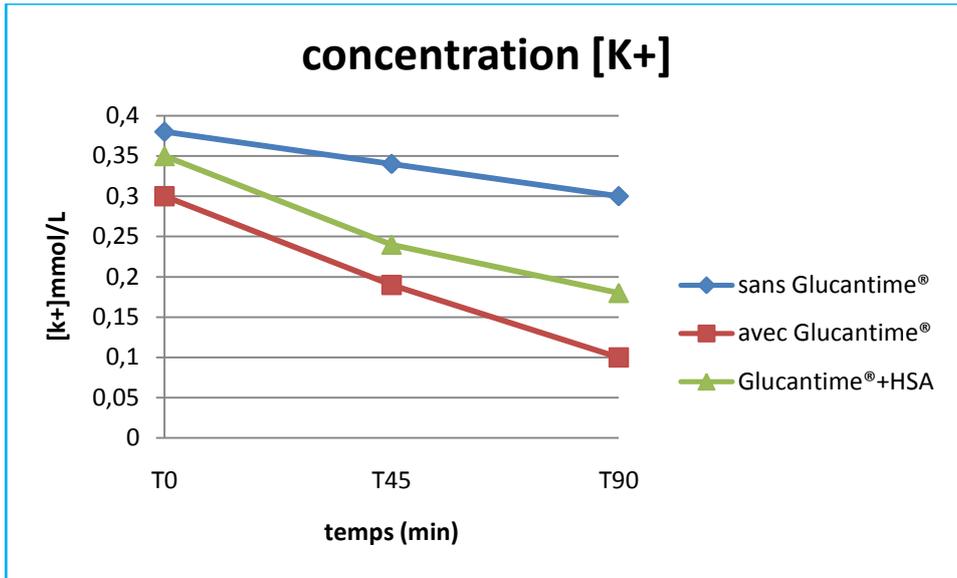


Figure 154: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 25).

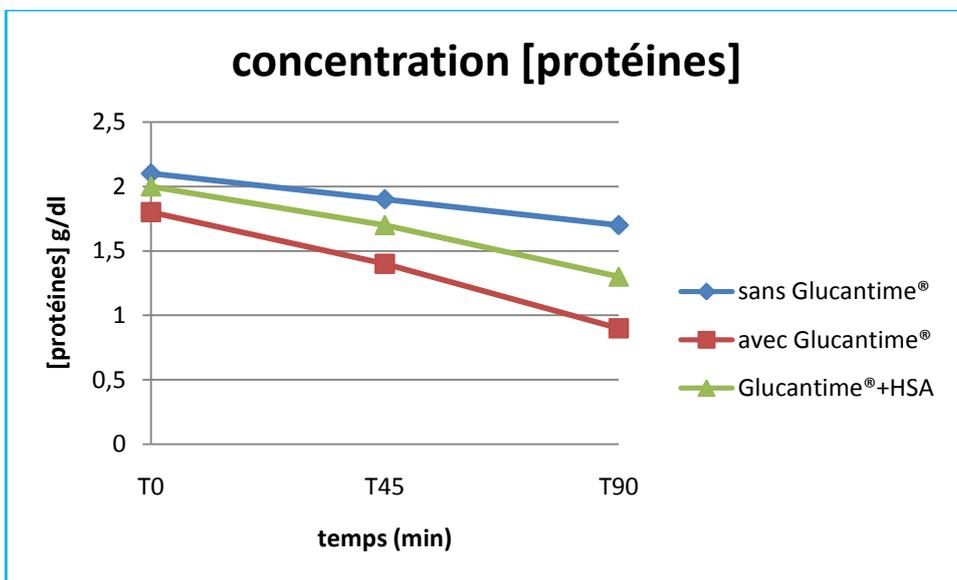


Figure 155: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 25).

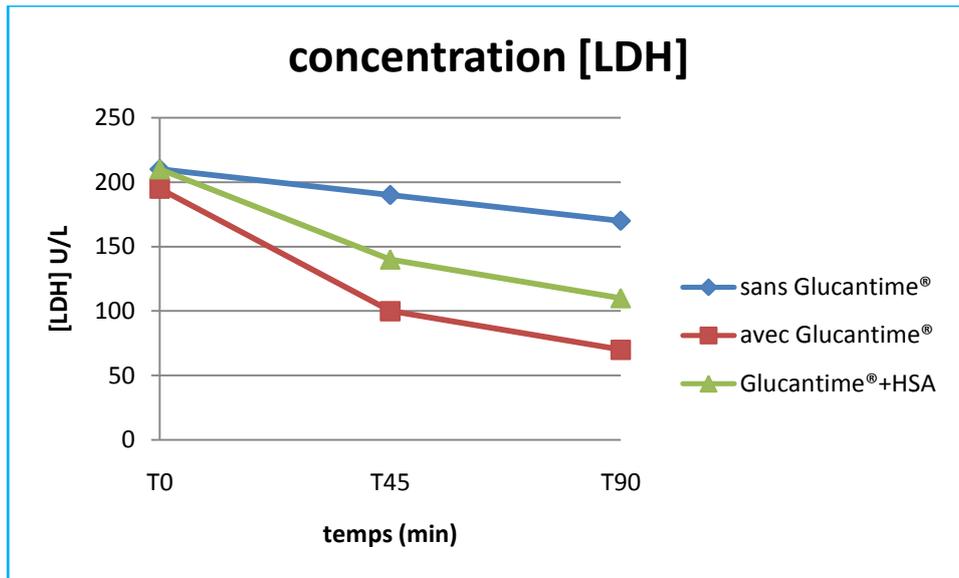


Figure 156: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 25).

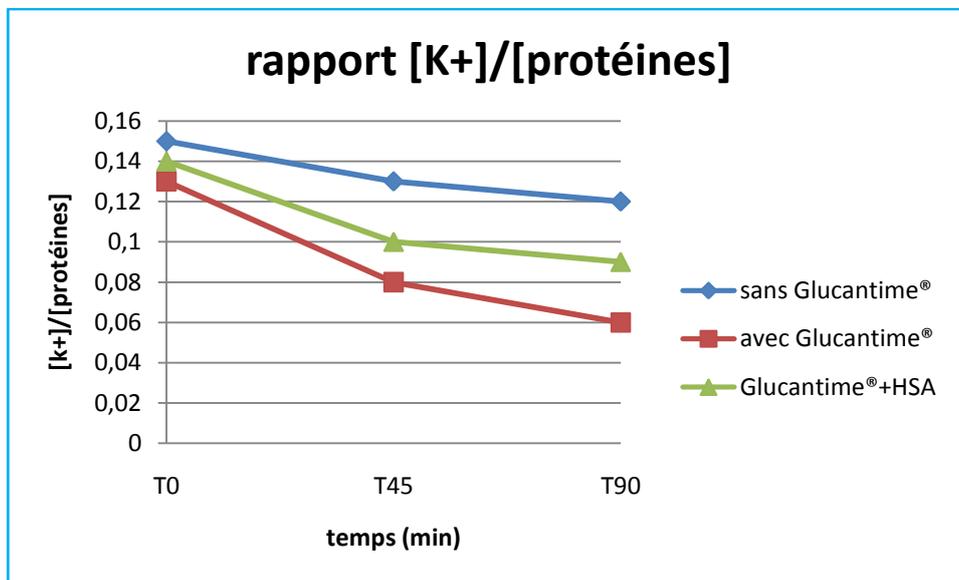


Figure 157: le rapport [K+]/ [protéines] (test 25)

Test n°26 :

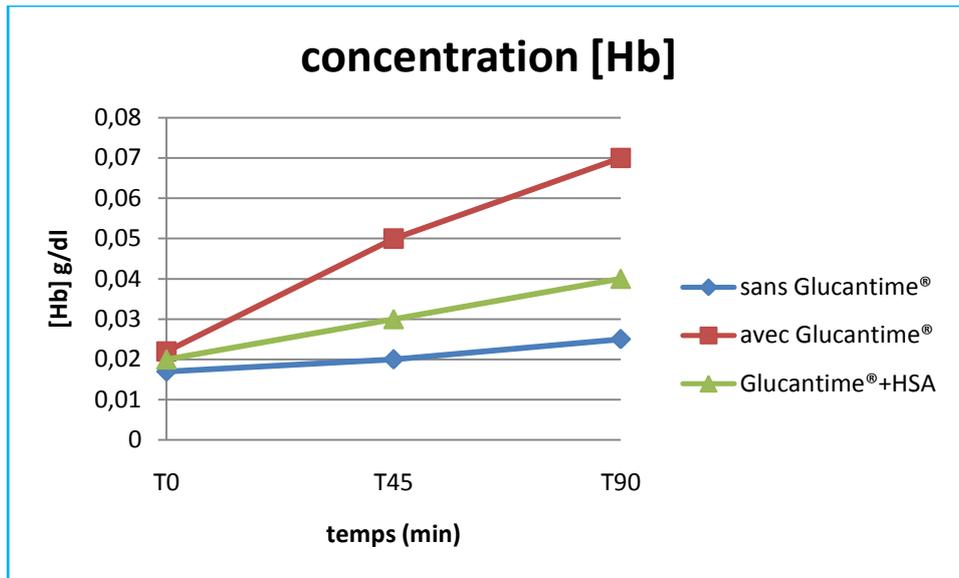


Figure 158: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 26)

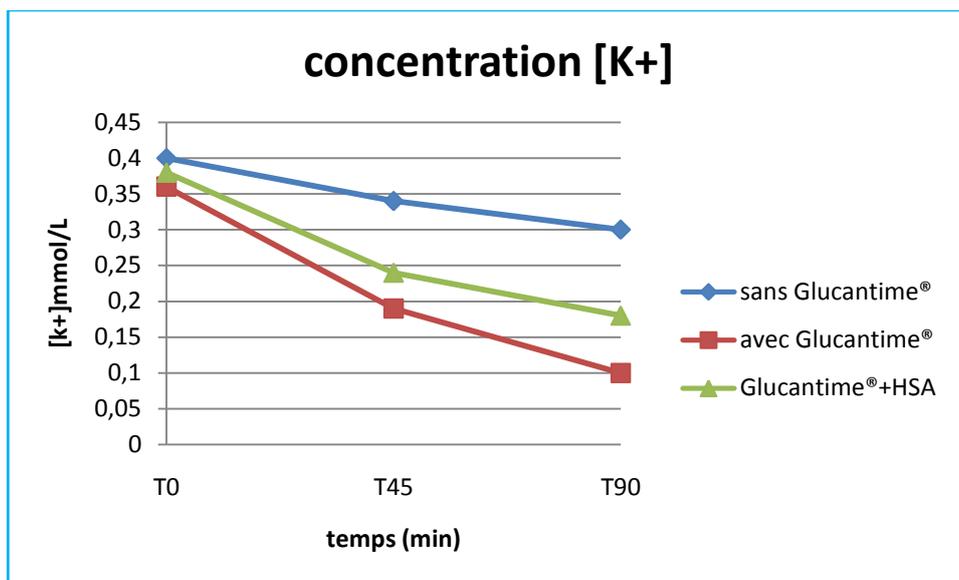


Figure 159: l'effet de la Glucantime® sur la [K+] en présence et en absence de l'HSA (test 26).

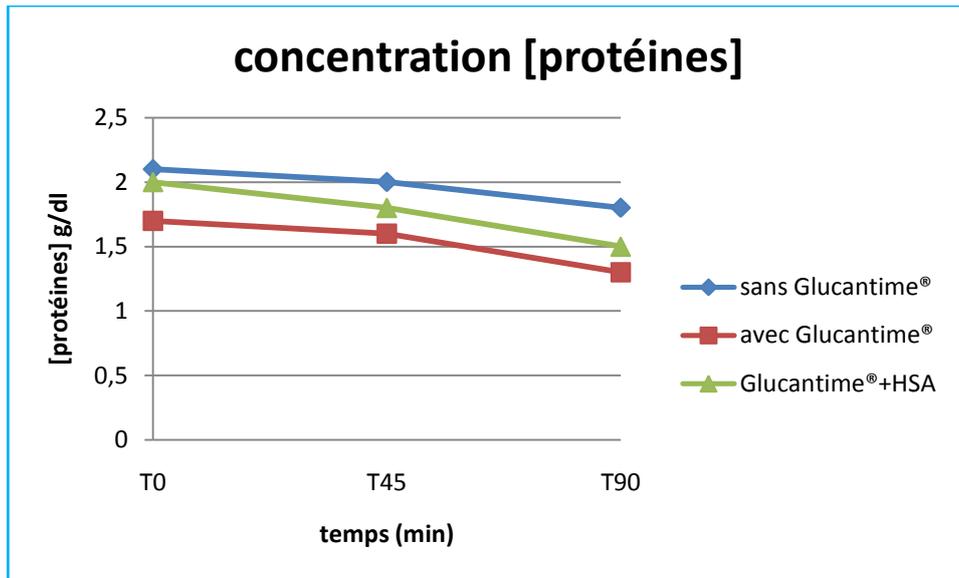


Figure 160: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 26).

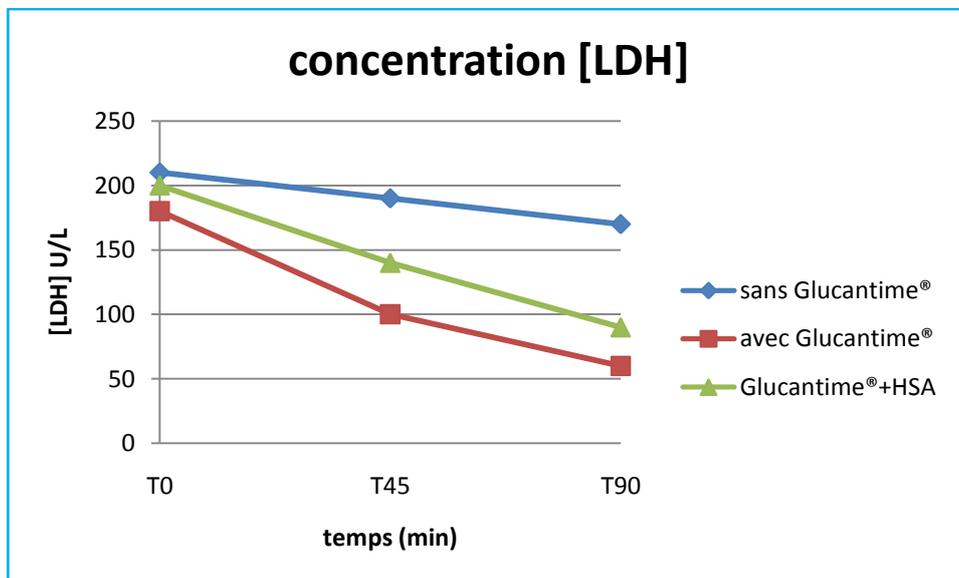


Figure 161: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 26).

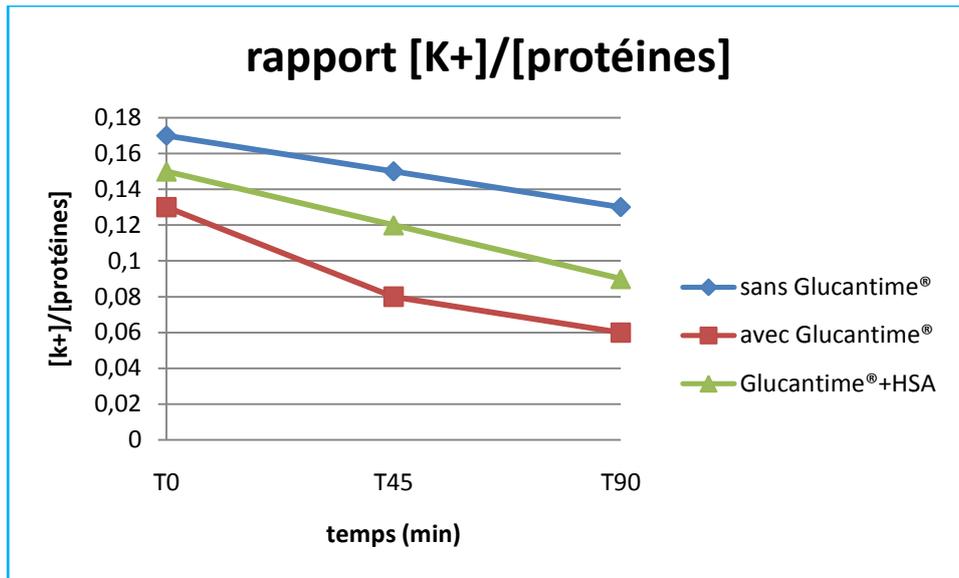


Figure 162: le rapport [K+]/ [protéines] (test 26)

Test n°27 :

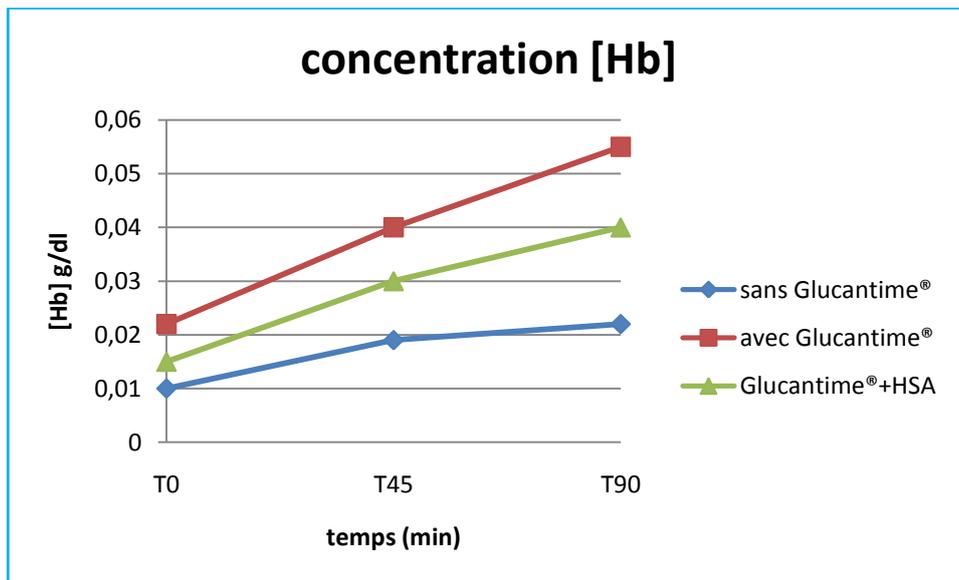


Figure 163: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 27)

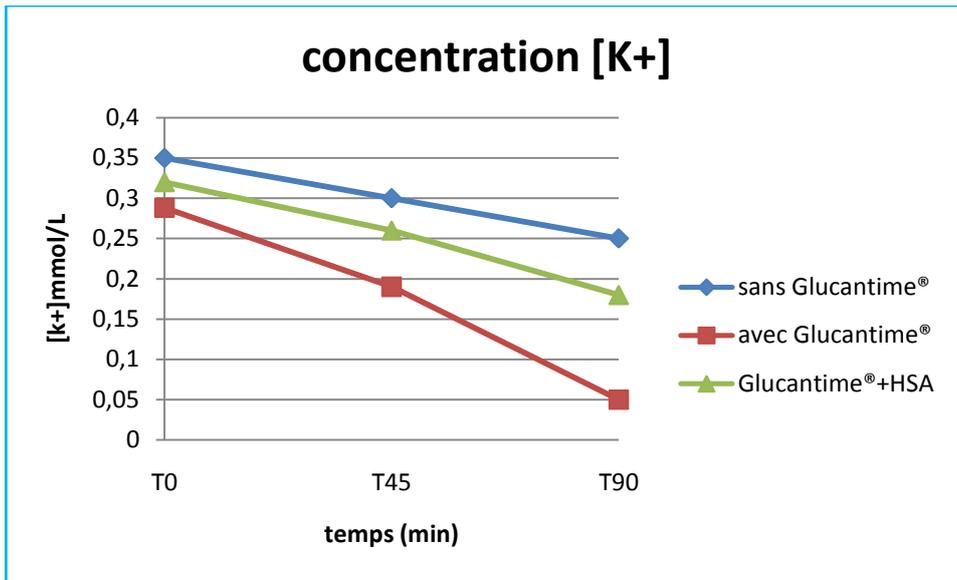


Figure 164: l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 27).

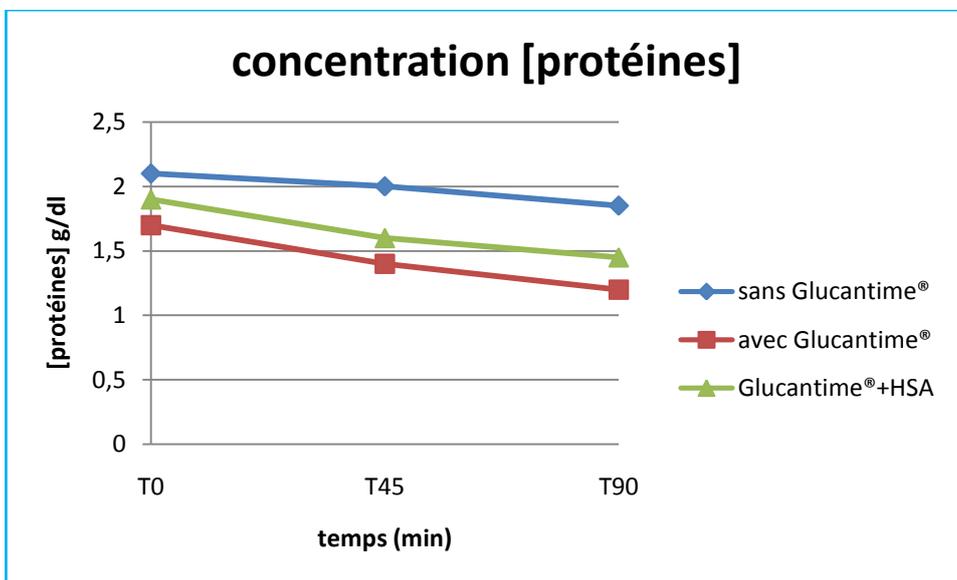


Figure 165: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 27).

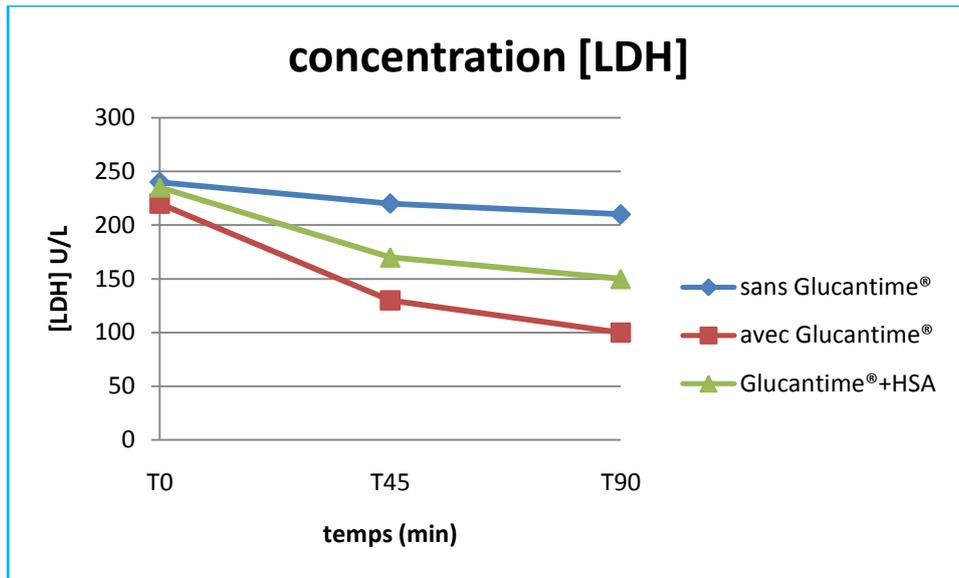


Figure 166: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 27).

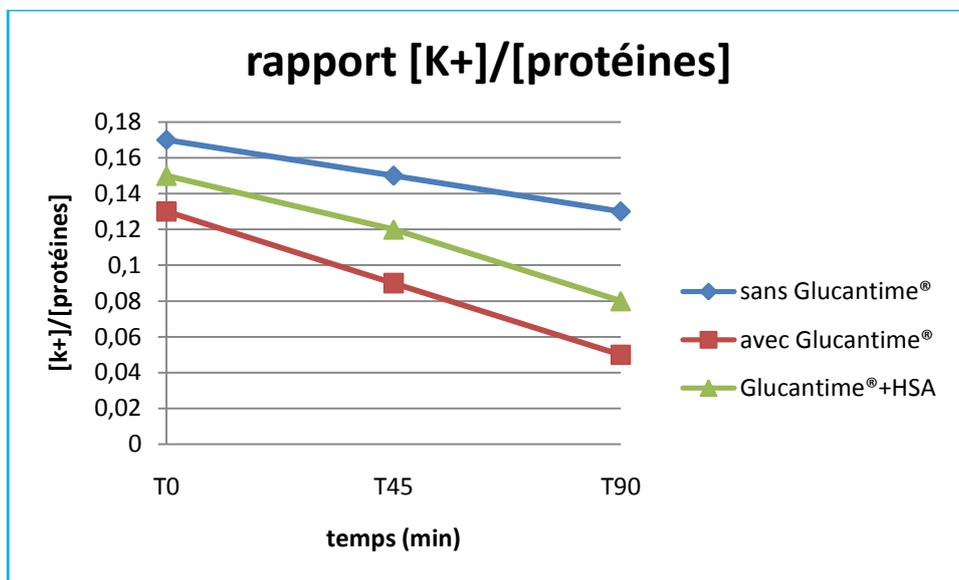


Figure 167: le rapport [K+]/ [protéines] (test 27)

Test n°28 :

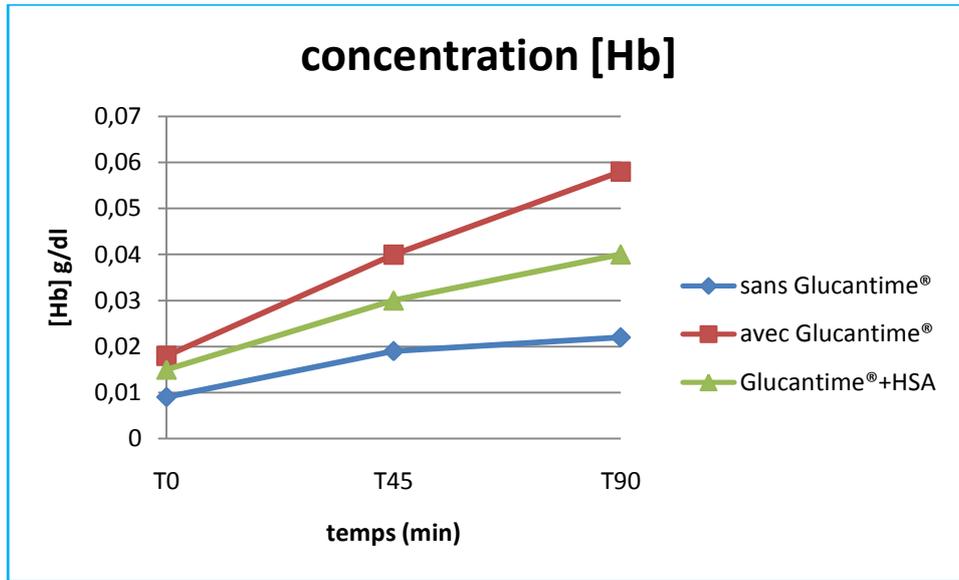


Figure 168: l'effet de la Glucantime® sur la [Hb] en présence et en absence de l'HSA (test 28)

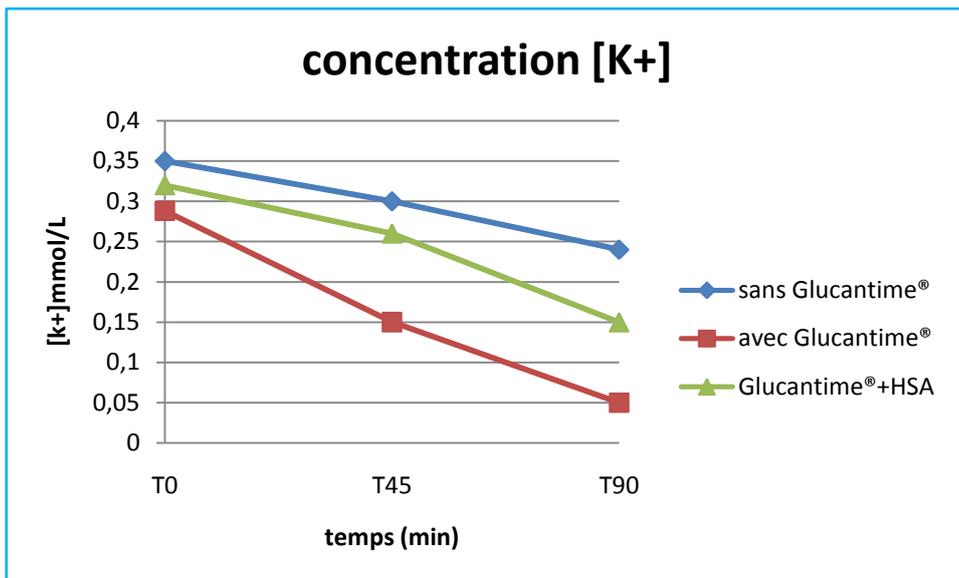


Figure 169 : l'effet de la Glucantime® sur la [k+] en présence et en absence de l'HSA (test 28).

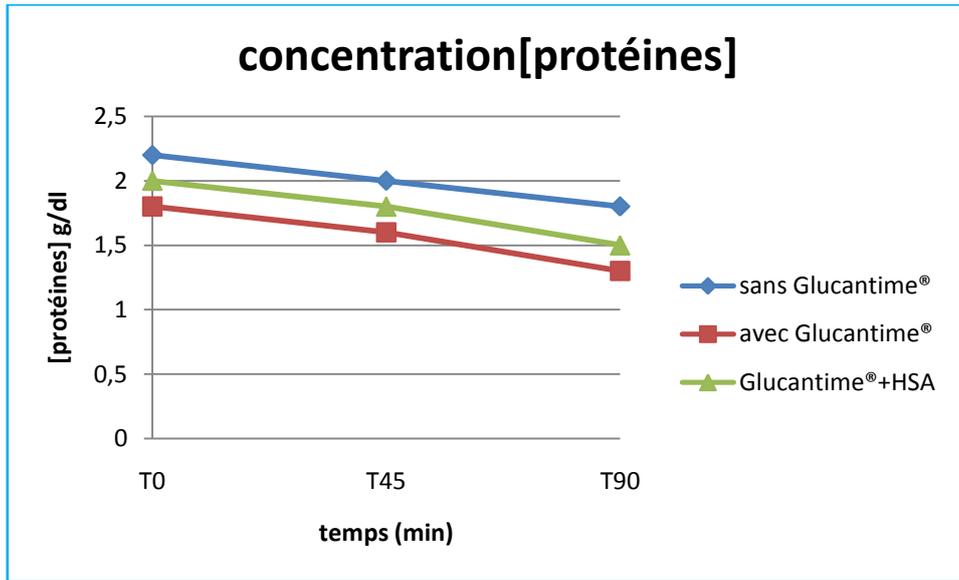


Figure 170: l'effet de la Glucantime® sur la [protéine] en présence et en l'absence de l'HSA (test 28).

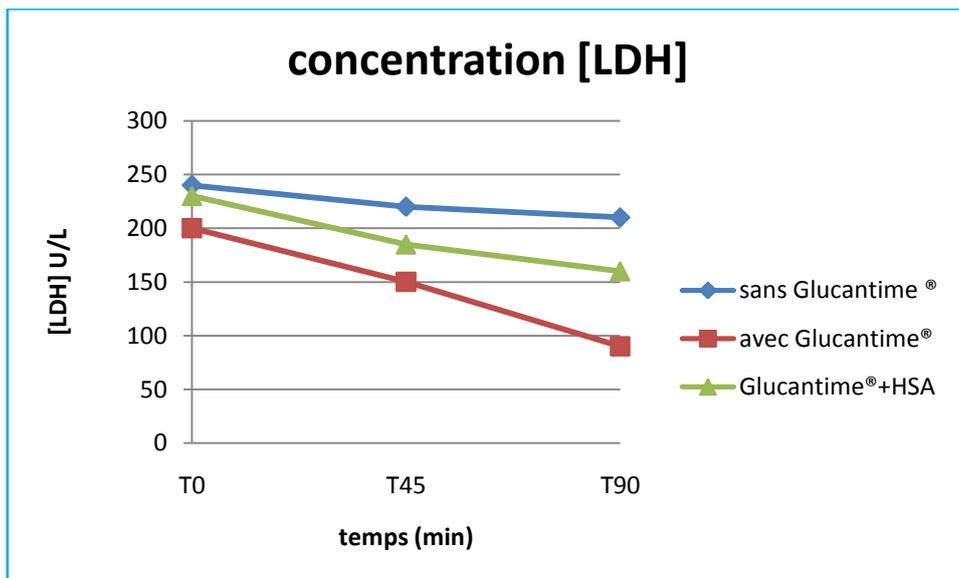


Figure 172: l'effet de la Glucantime® sur la [LDH] en présence et en l'absence de l'HSA (test 28).

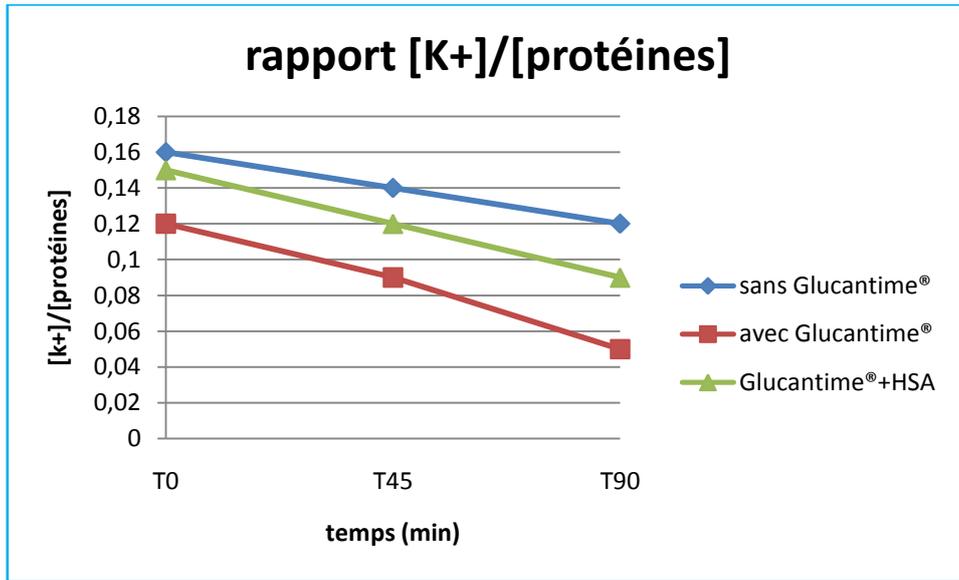


Figure 173: le rapport [K+]/ [protéines] (test 28)

Interprétation des résultats :

L'effet de Glucantime sur la concentration de l'hémoglobine en présence de HSA

A T0 on a remarqué que la concentration d'hémoglobine extracellulaire n'a pas changé dans les trois suspensions.

Dès la 30^{ème} minute il y'avais une augmentation très remarquable de la concentration de l'Hb dans les deux milieux (Glucantime® avec et sans HSA) par rapport au milieux sans Glucantime mais cette augmentation est moins importante dans le milieu où il y'a HSA.

Cette augmentation de la concentration d'hémoglobine extracellulaire au cours du temps peut être expliquée par une lyse au niveau de la membrane du globule rouge.

Pour le dosage du potassium intracellulaire

On a remarqué que même pour le potassium intracellulaire la concentration diminue au cours du temps, cette baisse du taux de K^+ est toujours plus importante pour la suspension cellulaire qui contient le Glucantime.

La sortie du potassium peut être due soit à l'inhibition de la pompe K^+/Na^+ ATPase, soit à une lyse de la membrane cellulaire soit les deux actions à la fois.

Pour le dosage des protéines : On a remarqué une diminution du taux des protéines dès la 45^{ème} min mais elle est moins importante dans le milieu où il y'a le Glucantime et HSA.

Cette diminution du taux des protéines cellulaires au cours du temps s'explique par la lyse membranaire des globules rouges ce qui a favorisé la sortie des protéines.

Pour renforcer les résultats, on a calculé le rapport $[K^+]/[Protéines]$. Donc d'après ces résultats, on constate qu'il y avait une lyse de la membrane cellulaire.(la perte en protéines cellulaire en même temps que la diminution en concentration du potassium intracellulaire)

Pour le dosage de LDH :

Pour le LDH on a remarqué une diminution de la concentration au cours du temps, qui est plus remarquable dans la suspension cellulaire qui contient la molécule. La diminution du taux du LDH peut être expliquée par une lyse de la membrane du globule rouge.

Discussion

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

La non disponibilité des réactifs pour le dosage des paramètres à étudier.

La non disponibilité de l'ionogramme au sein de service a joué contre notre faveur et par conséquent les temps lors de dosage de K^+ malheureusement n'était pas respecté.

La non disponibilité des moyens plus sophistiqués qui était nécessaire à une interprétation plus précis.

Cette étude montre que la sérum albumine humaine a un effet protecteur sur la toxicité du Glucantime® sur le globule rouge, d'une part par modification de la perméabilité des ions K^+ et d'autre part par la diminution du taux d'hémolyse.

L'effet protecteur de la sérum albumine humaine sur la toxicité du Glucantime® démontré dans cette étude a été aussi confirmé par d'autres études et sur autre molécules on prend comme exemple son effet protecteur vis-à-vis l'AmphotéricineB qui a été confirmer par les études suivantes

J. A. Sánchez-Brunete et coll ont proposé des microsphères hydrophiles d'albumine comme nouveau système de la livraison pour l'amphotéricine B (AMB ;Microsphères d'AMB), ils ont trouvé que la toxicité aiguë des microsphères d'AMB était inférieure à celle de la formulation de référence d'AMB-désoxycholate chez les hamsters et ils ont conclu que le traitement avec des microsphères d'AMB a eu comme conséquence l'amélioration de l' index thérapeutique.¹⁵⁸

M. BREZIS et coll ont publié "Reduced Amphotericin Toxicity in an Albumin Vehicle" dans Journal of Drug Targeting, 1993 : L'étude était faite in vitro ; l'hémolyse induite par l'amphotéricine B a été également nettement réduite en présence de l'albumine et ce dernier n'a pas réduit l'effet antibiotique de l'amphotéricine in vitro, ce qui confirme que l'activité antifongique de l'amphotéricine B est préservée in vitro. Ils ont conclu que la toxicité de l'amphotéricine B peut être considérablement réduite si elle est administrée dans un véhicule d'albumine. Les effets protecteurs in vivo d'albumine sur la vasoconstriction rénale amphotéricine-induite ont été aussi démontrés.¹⁵⁹

PORNANONG ARAMWIT et coll ont publié « The Effect of Serum Albumin on the

Aggregation State and Toxicity of Amphotericin B » dans Journal of Pharmaceutical

Sciences en 2000, qui avait comme but d'évaluer l'effet de l'albumine humaine de sérum (HSA) sur la structure et la stabilité in vitro et ont trouvé que que la Fungizone®est rapidement converti de sa forme agrégée en monomère lié aux protéines en présence de HSA¹⁶⁰.

Conclusion

Malgré les effets toxiques de Glucantime® reste le traitement de choix et conserve une place essentielle dans la majorité des régions endémiques pour les leishmanioses (Algérie, Tunisie, Maroc). Mais La toxicité sévère de cette molécule fait discuter son indication thérapeutique de première intention dans le traitement de la leishmaniose.

d'après notre étude on a essayé de diminuer les effets toxique de Glucantime en administrant l'Albumine pour ces propriétés antioxydante

après plus de 28tests *in vitro* réalisés sur plus de 15 prélèvements, on a remarqué que vraiment L'Albumine a un effet protecteurs contre la lyse membranaire due au Glucantime

Toute fois nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux des autres études, en raison des conditions expérimentales différents: différents matériels, méthodes, et population étudié, en effet, ce qui fait de cette étude une initiation dans la recherche pour l'évaluation *in vitro* des autres propriétés antioxydante de l'albumine . Pour enrichir notre étude on pouvait compléter ce travail par l'étude des effets protecteur en augmentant la dose de l'Albumine

Ces résultats montrent clairement la nécessité de poursuivre les travaux sur l'effet antioxydant de la sérum albumine humaine sur la toxicité de la Glucantime®, dans l'espoir d'aller en une amélioration de l'index thérapeutique et de diminué la toxicité .

Cette étude laisse la porte ouverte à d'autres recherches en faveur de l'élaboration d'une nouvelle formulation de la Glucantime®.

Bibliographie

1. Spread of Leishmaniamajor to the north of Algeria Bull. Soc. Pathol. Exot. (2012) 105:30-35
2. The epidemiological and clinical aspect of leishmaniasis in Algeria ;La Lettre de l'Infectiologue - Tome XXI - n° 1 - janvier-février 2006
3. Le Glucantime®: effets secondaires au cours du traitement de la leishmaniose cutanée annder.2012.10.525
4. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immun Microbiol Infect Dis 2004; 27:305-18.
5. Hausmann K , et Ülsmann N, 1996. Protozoology, New York: Theme Medical Publishers, Inc. 30 : 365-371
6. Parrot L., Donatien A. & Lestoquard F. 1930- Sur le développement du parasite de la leishmaniose canine viscérale chez *Phlebotomus major* var. *perniciosus* Newstead. Bull. Soc. Path. Exot. 23,724-725.
7. Ministère de la santé :Direction de l'Epidémiologie et la Lutte Contre les Maladies. Lutte contre les leishmanioses Guide des activités 2010
8. M. HIDE. Variabilité pathogénique du complexe *Leishmania donovani*, thèse soutenue Le 4 Juin 2004
9. Lucas, M., X. Zhang, V. Prasanna, and D. M. Mosser . 2005. ERK activation following macrophage FcγR ligation leads to chromatin modifications at the IL-10 locus. J Immunol 175:469-477.
- 10 . DEDET J.-P Leishmaniasis, leishmanioses. Biologie clinique et thérapeutique. Encycl. Méd. Chir. Maladies infectieuses 2001 ; 8 :11.
11. AGOUMI A et Col Leishmanioses. Précis de parasitologie médicale, ouvrage, collection Médika. La référence médicale 2003 ; 0048 :49-63.
12. Centilini . Les leishmanioses, In : Médecine tropicale . Paris Flammarion ; 1993,5 édition : p41
13. BOUZAOUI N Leishmaniose viscérale ou KALA-AZAR, maladies infectieuses du nouveau né, du nourrisson et de l'enfant. P : 685-696
14. Société française de microbiologie ,leishmaniose, In : REMIC : société française de microbiologie Ed ;2015 :799-802
- 15-B. HASSAM, K. SENOUCI, F. BENNOUNA-BIAZ .LA LEISHMANIOSE CUTANEE .Médecine du Maghreb 1991 n°28

16. SACKS.D. Leishmania-sand fly interaction controlling species-specific vector competence, (2001) *cellular biologie*.P: 189-196
17. Aubry P. Leishmanioses, Actualités 2014. Cour pour le diplôme de médecine tropicale des pays de l'Océan Indien.
18. Ben Ismail R, Ben Rachid M.S. Epidémiologie des leishmanioses en Tunisie. *Maladies Tropicales Transmissibles* 1989 :73-80.
19. Chahed M.H. Gestion de la leishmaniose en Tunisie dans le contexte des changements Climatiques. Adaptation aux changements climatiques en Afrique. Rapport annuel : 2010-2011.
20. Ghrab J, Rhim A et al. Phlebotominae (Diptera Psychodidae) of human leishmaniosis sites in Tunisia. *Parasite* 2006 ; 13 : 23-33
21. KALIL E.A, ZIJLSTRA E. et Al Epidemiology and clinical manifestations of *Leishmania donovani* infection in two villages in an endemic area in eastern Sudan. *Trop.Med.Int.Health* 2002;7.
22. NAJMA.S Thèse de pharmacie 2008 La leishmaniose viscérale (Epidémiologie et actualité thérapeutique)
Thèse de pharmacie n°32 Rabat.
23. MAHJOUR.J, LAAMRANI IDRISSE, LYAGOUBI.M
Ministère de la santé, lutte contre les Leishmanioses, guide des activités 1997.P : 31-43
24. BOUAZAOU N Leishmaniose viscérale ou KALA-AZAR, maladies infectieuses du nouveau né, du nourrisson et de l'enfant. P : 685-696
25. Sergent ED, Sergent ET. Kala azar : existence de la leishmaniose chez les chiens d'Alger, première note. *Bull Soc Pathol Exot* 1910;3:510-1.
26. Alvar, J., Vélez, I.D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., Den Boer, M., 2012. The WHO Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *Plos One* 7, e35671
27. Nicole Léger, Jérôme dépaquite Ectoparasites et vecteurs d'intérêt médicale ; *Revue Française des Laboratoires*, décembre 2001, No 338
28. M Wery Livre protozoologie ,Editeur de Boeck, vo 1279 ,P 127
29. DEDET J.-P Répartition géographique des leishmanioses. *Encycl. Méd. Maladies infectieuses* 2001 ; 31 (2) : 178-183.
30. DEDET J.-P, PRATLONG F.
Taxonomie des *Leishmania* et distribution géographique des leishmanioses. *Ann Dermatol Venereol* 2000; 127:421-4.
31. Parrot L., Donatien A. & Lestoquard F. 1930- Sur le développement du parasite de la leishmaniose canine viscérale chez *Phlebotomus major* var. *perniciosus* Newstead.

Bull. Soc. Path. Exot. 23,724-725

32. 28-BENIKHLAF.R, PRATLONG.F, HARRAT.Z, et coll
Leishmaniose viscérale infantile causée par *Leishmania infantum* zymodème mon-24 Algérie,
manuscrit N°2189, 25 juillet 2000

33. mémoire de fin d'étude de résidanat en parasitologie mycologie médicale, 2008-2009.

34. L. Rezalleh. Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien Laghouat et Ain oussara

35. Belkaid M, Harrat Z. La leishmaniose en Algérie. Mise au point. Rev Med
Phar 1997:43-6.

36. A. Izri, S. Bellazzoug. Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en
Algérie ; dossier scientifique supplément au N°396, P 3-10.

37. DEDET J.-P Leishmanies, leishmanioses. Biologie clinique et thérapeutique. Encycl.
Méd. Chir. Maladies infectieuses 2001 ; 8 :11.

38. AGOUMI.A et Col Leishmanioses. Précis de parasitologie médicale, ouvrage, collection
Médika. La référence médicale 2003 ; 0048 :49-63.

39. MTIOUI CHKAIRI .O La leishmaniose cutanée dans la région de Séfrou. Thèse de
médecine n°326.Rabat

40. DEDET J.-P. *Leishmania* (atteinte cutanée et cutanéomuqueuse du Nouveau Monde).
Biologie clinique 1990 ; 40 :140

41. LACHAUD. L., DEREURE .J., et Al.
Optimized PCR using patient blood for diagnosis and follow-up of visceral leishmaniasis,
with special reference to AIDS patients. Journal of Clinical Microbiology 2000; 38: 236-240.

42. MINODIER .P., PIARROUX. R. et Al. Leishmaniose viscérale méditerranéenne :
physiopathologie. La Presse Médicale 1999 ; 1.

43. J.P. Dedet. Leishmanies, Leishmanioses : biologie, clinique, thérapie ; Paris, maladies
infectieuses, 8-506-A-10, 2009

44. Eugénie Gay¹, Hélène Guegan¹, Marie Ameline², Jean-Pierre Gangneux¹
Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones
REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES — DÉCEMBRE 2015 — N°477// 63

45. A. H. Moncef, H. Lahlou, M. Alami, A. Filali Baba, Gh. el Youssfi, L. Ismaili, S.
Chaouki, S. Atmani, M. Hida .Aspects biologiques de la leishmaniose viscérale infantile: À
propos de 31 cas diagnostiqués sur 10 mois au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II
de Fès (Maroc), Volume 2011, Issue 429, February 2011, Pages 55-60.

46. Dedet JP. Les leishmanioses : actualité. Presse Med 2000;29:1019—26.[2] Herwaldt BL,
Berman JD. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate

(Pentostam®) and review of pertinent clinical studies. *Am J Trop Med Hyg* 1992;46:296—306.

47. Novel therapeutic strategies for treatment of visceral leishmaniasis. Jain K, Jain NK *Drug Discov Today*. 2013 Dec; 18(23-24):1272-81.

48. (L'ANTIMONIATE DE N-METHYL GLUCAMINE, OU GLUCANTIME® C.RAPP, F. SIMON, M - L .DORDAIN(C.R.,S. ,Assistants du SSA; M-L.D. , Spécialiste du SSAMédecine Tropicale • 2000.60.4.

49. Buffet P, Caumes E, Gentilini M. Traitement des leishmanioses cutanées localisées. *Ann Dermatol Vénereol* 1994;121:503—11[3] Pradinaud R. Leishmaniose cutanée. In: Dubertret L, et al., editors. *Thérapeutique dermatologique*. Paris: Flammarion ed; 2001. p. 433-8.

50. Vidal 2016

51. Novel therapeutic strategies for treatment of visceral leishmaniasis. Jain K, Jain NK *Drug Discov Today*. 2013 Dec; 18(23-24):1272-81

52. conventional therapy and promising plant-derived compounds against trypanosomatid parasites. Alviano DS, Barreto AL, Dias Fde A, Rodrigues Ide A, Rosa Mdo S, Alviano CS, Soares RM *Front Microbiol*. 2012; 3():283.

53. Drug resistance in leishmaniasis: Newer developments. Mohapatra S *Trop Parasitol*. 2014 Jan; 4(1):4-9.

54. Effects of combined therapy with silymarin and glucantime on leishmaniasis induced by *Leishmania major* in BALB/c mice. Jabini R, Jaafari MR, Vahdati Hasani F, Ghazizadeh F, Khamesipour A, Karimi G *Drug Res (Stuttg)*. 2015 Mar; 65(3):119-24.

55. leishmanie et leishmaniose biologie Clinique et thérapeutique.

56. [Goodman and Gilman's (1980) *The pharmacological basis of therapeutics*, 7ème édition Mac Millan Publishing Co pp 1062-1063].

57. [Blanc P, Sardin F, Wilner C (1980) Un cas probable d'intoxication aigue par l'antimoine. *Mcd Leg Toxicologie*, 23, 7: 637-642.].

58. O.L.S.Almeida,J.B.Santar.*An Bra Dematol*,86(2011)497-506

59. Lindoso, JA, Costa, JM, Queiroz, IT, Goto, H. Review of the current treatments for leishmaniasis. *Res. Rep. Trop. Med*. 2012;3:69–77.

60. K.Seifert,*Open Med,Chem.J*.5 2011 31-39

61. D.Sereno,P.Holzmuller,I.Mangot,GCuny,A.Ouasssi,J.L.Lemesre,Antimicrob.Agent Chemoter,45(2001)2064-2069
62. G.Sudhandiran,C.Shaba,J.Biol Chem,278(2003)25120-25132
63. Lindoso, JA, Costa, JM, Queiroz, IT, Goto, H. Review of the current treatments for leishmaniasis. Res. Rep. Trop. Med. 2012;3:69–77.
64. Médecine et maladies infectieuses 2005 ; 35 : 42-5.
65. Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie The epidemiological and clinical aspect of leishmaniasis in Algeria La Lettre de l'Infectiologue - Tome XXI - n° 1 - janvier-février 2006
66. Ballou WR, Mac Clam JB. Gordon DM, Shanks CID, Andujar J, Berman JD et al. Safety and efficacy of high-dose sodium stibogluconate therapy of American cutaneous leishmaniasis. Lrrzcer 19X7 : ii : 13-6
67. 16 Saenz RE, De Rodriguez CC. Johnson CM, Berman JD. Efficacy and toxicity of Pentostam against Panamanian mucosal leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 1991 : 44 : 394
68. Réaction à l'antimoniote de méglumine (Glucantime®) d'évolution fatale lors du traitement d'une leishmaniose cutanée 10.1016/j.annder.2007.10.003
69. Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones Eugénie Gay¹, Hélène Guegan¹, Marie Ameline², Jean-Pierre Gangneux DÉCEMBRE 2015 — N°477
70. Doit-on continuer à indiquer le Glucantime® en première intention pour le traitement des leishmanioses cutanées en Tunisie 10.1016/j.annder.2011.10.301
71. Adverse effects of intralesional Glucantim® in the treatment of cutaneous leishmaniasis A. Masmoudi et al. / Médecine et maladies infectieuses 36 (2006) 226–228
72. Ethnopharmacologie et leishmanioses en Amérique latine L. Acebey*, V. Jullian** et M.Sauvain*** 1 Ethnopharmacologia, n°41, juin 2008
73. EFFETS INDÉSIRABLES DU TRAITEMENT SYSTÉMIQUE DE LA LEISHMANIOSE CUTANÉE PAR GLUCANTIME®: EXPÉRIENCE TUNISIENNE Benmously Mlika^{R1}, El Aïdli^{S2}, Ben Brahim^{M1}, Badri^{T1}, Chouk^{S1}, Ben Jannet^{S1}, Marrak^{H1}, Daghfous^{R2}, Mokhtar^{I1}, Fenniche^{S1} Med Trop 2008;68:499-501

74. Toxicité cardiaque de l'antimoniote de méglumine (Glucantime®). À propos d'une observation
Cardiotoxicity of n-methyl-glucamine antimoniate (Glucantime®). A case report
N. Matoussi*, H.B. Aneur,
S.B. Amor, Z. Fitouri, S.B. Beche *Médecine et maladies infectieuses* 37 (2007) S257–S259
75. Romero GA, Flores MRM, Noronha EF, Macedo V. High frequency of skin reactions in patients with leishmaniasis treated with meglumineantimoniate contaminated with heavy metals : a comparative approach using historical controls. *Mem Ins Oswaldo Cruz* 2003;98:145–9.
76. Aronson NE, Wortman GW, Johson SC. Safety and efficacy of intravenous sodium stibiogluconate in the treatment of leishmaniasis: recent US Military experience. *Clin Infect Dis* 1998;27:1457–64.
77. Katlama C, Regnier B, Ben Salah N, Pichard D, Vachon F. Toxicité du glucantime. *Ann Med Int* 1985;136:321–2.
78. BuffetP, CaumesE, GentiliniM. Traitement de la leishmaniose cutanée localisée. *Ann Dermatol Venereol* 1994;121:503-11
79. Goudemaud M, MaquetV, Leduc M. À propos d'un cas de Kaka-azar, étude des protéines sériques. *Lile Med* 1961;3:216–8.
80. Dedet J.P. (1999) *Les Leishmanioses*, Ellipses Paris, France
81. [Chulay JD, Fleckenstein L, Smith DH. Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibiogluconate or meglumineantimoniate. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988; 82:69-72.
82. Leishmaniose cutanée traitée par Glucantime® en intramusculaire : redouter une toxicité pancréatique 2014-09-517.
83. Toxicité de l'antimoine de méglumine (Glucantime®) dans le traitement systémique des leishmanioses cutanées : étude de 100 observations 2016 ;09-534
84. Bolard J, Joly V, Yeni P. Amphotericine B : ancien medicament, nouveaux concepts. *MPd Ther* 1997 ; 3 : 207- 13
85. Sokol-Anderson M, Brajtburg J, Medoff G. Amphotericin B- induced oxidative damage and killing of *Candida albicans*. *J Infect Dis* 1986 ; 154 : 76-8
86. Davidson RN. Croft SL. Recent advances in the treatment of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993 ; 87 : 130-1

87. Amato VS, TuonFF, SiqueiraAM, NicodemoAC, NetoVA. Treatment of mucosal leishmaniasis in LatinAmerica: systemic review. *AmJTrop Med Hyg* 2007;77:266-74..
88. Dedet J.P. (1999) *Les Leishmanioses*, Ellipses Paris, France.
89. Berman J. (2003) Current treatment approaches to leishmaniasis, *Curr Opin Infect Dis* 16, 397-401
90. Croft S.L., Barrett M.P., Urbina J.A. (2005) Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis, *Trends in Parasitology* 21, 508-512.
91. Soto J., Toledo J., Valda L., Balderrama M., Rea I., Parra R., Ardiles J., SotoP., Gómez A., Molleda F. (2007) Treatment of Bolivian mucosal leishmaniasis with miltefosine, *Clin Infect Dis* 44, 350-356.
92. Chungue CN, Owate J, Pamba HO, Donno L. Treatment of visceral leishmaniasis in Kenya by aminosidine alone or combined with sodium stibogluconate. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990 ; 84 : 221-225
93. Thakur CP, Olliaro P, Gothoskar S, Bhowmick S, Choudhury BK, Prasad S et al. Treatment of visceral leishmaniasis (kala azar) with aminosidine (paromomycin)-antimonial combination, a pilot study in Bihar, India. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992 ; 86 : 615-616.
94. J.-P. Dedet. *Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique*. 2009 Elsevier Masson SAS, 8-506-A-10.
95. LUTTE CONTRE LA LEISHMANIOSE Soixantième assemblée mondiale de la santé 2007 ; 60 : p : 1-3.
- 96 . Somerharju P, Virtanen JA, Cheng KH, Hermansson M. The superlattice model of lateral organization of membranes and its implications on membrane lipid homeostasis. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* janv 2009;1788(1):12-23.
97. Fraicette F. HOUNDJO Germaine M. AVOHOU, « Problèmes liés au diagnostic biologique des anémies chez les enfants de 0 à 5 ans : cas de l'hôpital de zone d'Abomey- Calavi. » Rapport de stage de fin de formation pour l'obtention du diplôme de licence professionnelle, ABM/ EPAC/ ABOMEY CALAVI-2009
98. Mankelov T, Satchwell T, Burton N. Refined views of multi-protein complexes in the erythrocyte membrane. *Blood Cells Mol Dis.* 15 juin 2012;49(1):1-10., 99. Klinken, S.P. (2002) Red blood cells. *Int J Biochem Cell Biol*, 34, 1513-1518
- 100 . Renooij, W., van Golde, L.M.G., Zwaal, R.F.A., Roelofsen, B. & van Deenen, L.L.M. (1974) *Biochim. Biophys. Acta* 363, 287-292

101. Paysant, M., Bitram, M., Wald, R. & Polonovski, J. (1970) *Bull. Soc. Chhn. BioL* 52, 1257-1264
102. P.F. DEVAUX, A. ZACHOWSKI, E. FAVRE, P. FELLMANN Translocation énergie dépendante des amino-phospholipides dans la membrane des globules rouges, Centre d'Etude Nucléaires de Saclay, Département de Biologie, Service de Biophysique, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
103. HELMS JB, ZURZOLO C. Lipids as targeting signals: lipid rafts and intracellular trafficking. *Traffic*, 2004, **5**, 247-254.
- 104 . PORTIER K.1, KIRSCHVINK N.2, FELLMANN N.3, COUDERT J.3, LEKEUX P. Formation continue - Articles de synthèse *Ann. Méd. Vét.*, 2007, **151**, 101-106
105. Diagnostic de la sphérocytose héréditaire par cytométrie en flux : thèse du Dr Julie-Anne Do-ROUVIERE
106. Physiologie du GR/par B . Dalle et Coll 1997. Cahier bioforma . Pr Christian Janot ,2001
107. Yu J. and BRANTON O. : Reconstitution of intramembrane particles in recombinants of erythrocyte protein band 3 and lipids : effects on spectrin-actin association. *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)*, 1976, **73**, 3891-3895.
108. P. BOIVIN*Protéines de la membrane érythrocytaire , *HOpital Beaujon, INSERM U. 160, 92110 Clichy. La Revue de, Médecine interne numéro hors série*, 1984, pp. 17 a 25.
109. YELTMAN D.R. and HARRIS B.G. : Localization and membrane association of aldolase in human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1980, **199**, 186-196.
110. N. Bayle *, S.J. Fried , E.A. Kappos , E. Hutin , D.J. Weis , J.M. Gracies *Maladie de Parkinson / Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 57S (2014) e366–e367
111. Delaunay J. The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood Rev.* janv 2007;21(1):1-20.
112. Cabantchik ZI. Erythrocyte membrane transport. *Novartis Found Symp.* 1999;226:6-16-19.
113. Andreoli TE. *Membrane Physiology*. Springer Science & Business Media; 2013. 474 p.

114. Bunn FH, Forget BG. Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects. PA, USA: WB Sanders, Philadelphia; 1986.
115. -LOKO F., « Cours de biochimie clinique. Tome 1 : biochimie médicale analytique » UAC/ EPAC/ABM Bénin 2007-2008
116. Seigneurin, D. Cellules du sang - Normal et pathologique. Masson. Vol. 63.
117. Ucar K. Clinical presentation and management of hemolytic anemias. Oncol Williston Park N. sept 2002;16(9 Suppl 10):163-70.
118. Da Costa L, Galimand J, Fenneteau O, Mohandas N. Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and other red cell membrane disorders. Blood Rev. juill 2013;27(4):167-78
119. cours du Professeur D. Seigneurin, réactualisé avec des données de l'Analyse clinique biologique Vol. 63, n°3, mai-juin 2005. Cellules du sang - Normal et pathologique - Marcel Bessis - Edition Masson].
120. www.gs-im3.fr/G6PD/G6pd.Menu1.html: les tests biologiques de diagnostic (revue générale pour le compte rendu de l'académie des Sciences) 2003.
122. Brooks GA, Wolfel EE, Butterfield GE, Cymerman A, Roberts AC, Mazzeo RS, et al. Poor relationship between arterial [lactate] and leg net release during exercise at 4,300 m altitude. Am J Physiol 1998; 275: R192-201.2 Cohen RD, Woods HF. Lactic acidosis revisited. Diabetes 1983; 32: 181-91
122. Joncas F-H, Adjibade P, Mazroui R. Rôle de l' *heme regulated inhibitor* (HRI) dans la résistance à l'apoptose. médecine/sciences. oct 2014;30(10):882-8.
123. Hippocrate, Hippocratic Writings, ed. Penguin. 1978, New York. 232.
124. Rothschild, M.A., Oratz, M., and Schreiber, S.S., Serum albumin. Hepatology, 1988.vol.8(2): p. 385-401.
125. Carter, D.C. and Ho, J.X., Structure of serum albumin. AdvProteinChem, 1994. vol.45: p. 153-203..
126. Barone, G., Giancola, C., and Verdoliva, A., DSC studies of the denaturation and aggregation of serum albumin. Thermochim.Acta, 1992. vol.199: p. 197-205.
127. Barone, G., Giancola, C., and Verdoliva, A., DSC studies of the denaturation and aggregation of serum albumin. Thermochim.Acta, 1992. vol.199: p. 197-205..
128. Lefèvre, P. and Badetti, C., [Metabolism of albumin]. Ann Fr AnesthReanim, 1996. vol.15(4): p. 464-9..

- 129.. . Brown, J.R., Structure of bovine serum albumin. Fed Proc, 1975. vol.34: p. 591.
- 130.Peters, T., Jr. and Anfinsen, C.B., Net production of serum albumin by liver slices. J BiolChem, 1950.vol.186(2): p. 805-13.
- 131.Brands, R., Slot, J.W., and Geuze, H.J., Albumin localization in rat liver parenchymal cells.Eur J Cell Biol, 1983.vol.32(1): p. 99-107.
- 132.(Brodersen, 1980; Brodersen, R., Bilirubin transport in the newborn infant reviewed with relation to kernicterus. J Pediatr, 1980. vol.96: p. 349-56
133. Peters, T.J., All about albumin - Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. 1996, San Diego: AcademicPress,
- 134.Figge, J., Rossing, T.H., and Fencl, V., The role of serum proteins in acid-baseequilibria.J Lab Clin Med, 1991.vol.117(6): p. 453-67.
- 135.Waterlow, 1984;. Waterlow, J.C., Kwashiorkor revisited: the pathogenesis of oedema in kwashiorkor and its significance. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1984.vol.78(4): p. 436-41.
136. Wood, M., Plasma drug binding: implications for anesthesiologists. AnesthAnalg, 1986.vol.65(7): p. 786-804..
- 137.Lefèvre, P. and Badetti, C., [Metabolism of albumin]. Ann FrAnesthReanim, 1996. vol.15(4): p. 464-9.
138. (Bechtold, 1992). Bechtold, W.E., Willis, J.K., Sun, J.D., Griffith, W.C., and Reddy, T.V., Biological markers of exposure to benzene: S-phenylcysteine in albumin. Carcinogenesis, 1992.vol.13(7): p. 1217-20
- 139.Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. Methods Enzymol, 1990. vol.186: p. 1-85
- 140.Halliwell, B., Albumin--an important extracellular antioxidant? BiochemPharmacol, 1988.vol.37(4): p. 569-71
141. Walter, P.B., Fung, E.B., Killilea, D.W., Jiang, Q., Hudes, M., Madden, J., Porter, J., Evans, P., Vichinsky, E., and Harmatz, P., Oxidative stress and inflammation in ironoverloaded patients with beta-thalassaemia or sickle cell disease. Br J Haematol, 2006.vol.135(2): p. 254-63.
- 142..Bourdon, E., Loreau, N., Lagrost, L., and Blache, D., Differential effects of cysteine and methionine residues in the antioxidant activity of human serum albumin. Free RadicRes, 2005. vol.39(1): p. 15-20..
- 143.Bal, W., Christodoulou, J., Sadler, P.J., and Tucker, A., Multi-metal binding site of serum albumin. J InorgBiochem, 1998.vol.70(1): p. 33-9

- 144.Sedlak, T.W. and Snyder, S.H., Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdinreductase antioxidant cycle. *Pediatrics*, 2004.vol.113(6): p. 1776-82..
- 145.Neuzil, J. and Stocker, R., Free and albumin-bound bilirubin are efficient coantioxidants for alpha-tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *J BiolChem*, 1994.vol.269(24): p. 16712-9
146. Fukuzawa, K., Saitoh, Y., Akai, K., Kogure, K., Ueno, S., Tokumura, A., Otagiri, M., and Shibata, A., Antioxidant effect of bovine serum albumin on membrane lipid peroxidation induced by iron chelate and superoxide.*BiochimBiophysActa*, 2005.vol.1668(1): p. 145-55..
- 147.Papatheodorou, L. and Weiss, N., Vascular oxidant stress and inflammation in hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal*, 2007. vol.9(11): p. 1941-58
- 148.(Pacher, 2007) Pacher, P., Beckman, J.S., and Liaudet, L., Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *PhysiolRev*, 2007.vol.87(1): p. 315-424.
- 149.(Platt, 2003). Platt, A.A. and Gieseg, S.P., Inhibition of protein hydroperoxide formation by protein thiols. *Redox Rep*, 2003.vol.8(2): p. 81-6
- 150.(Levine, 1999; Levine, R.L., Berlett, B.S., Moskowitz, J., Mosoni, L., and Stadtman, E.R., Methionine residues may protect proteins from critical oxidative damage. *MechAgeingDev*, 1999.vol.107(3): p. 323-32
- 151.(Halliwell, 1988) .Halliwell, B., Albumin--an important extracellular antioxidant? *BiochemPharmacol*, 1988.vol.37(4): p. 569-71.
- 152.(Trigatti, 1995) Trigatti, B.L. and Gerber, G.E., A direct role for serum albumin in the cellular uptake of long-chain fatty acids. *Biochem J*, 1995. vol.308 (Pt 1): p. 155-9..
- 153.(Stremmel, 2001)Stremmel, W., Pohl, L., Ring, A., and Herrmann, T., A new concept of cellular uptake and intracellular trafficking of long-chain fatty acids. *Lipids*, 2001.vol.36(9): p. 981-9.
- 154.(Schlesinger, 2006) Schlesinger, J.B., van Harmelen, V., Alberti-Huber, C.E., and Hauner, H., Albumin inhibits adipogenesis and stimulates cytokine release from human adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006.vol.291(1): p. C27-33..
- 155(Tang, 2003). Tang, S., Leung, J.C., Abe, K., Chan, K.W., Chan, L.Y., Chan, T.M., and Lai, K.N., Albumin stimulates interleukin-8 expression in proximal tubular epithelial cells in vitro and in vivo. *J Clin Invest*, 2003. vol.111(4): p. 515-27..
- 156.(Peters, 1978) . Peters, T.J., Reed, R. G., Serum albumin as a transport protein, in *Transport by Proteins*, e. G. Blauer and H. Sund, Editor. 1978, de Gruyter: Berlin and New York. p. 57-78.
- 157.(Roche, 2008) Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E., and Bourdon, E., The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett*, 2008.vol.582(13): p. 1783-1787.

158. Sánchez-Brunete JA, Dea MA, Rama S, Bolás F, Alunda JM, Raposo R, et al. Treatment of Experimental Visceral Leishmaniasis with Amphotericin B in Stable Albumin Microspheres. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 sept 2004;48(9):3246-52.
- 159.. Brezis M, Heyman S, Sugar A. Reduced Amphotericin Toxicity in an Albumin Vehicle. *J Drug Target.* 1 janv 1993;1(3):185-9.
160. Aramwit P, Yu BG, Lavasanifar A, Samuel J, Kwon GS. The effect of serum albumin on the aggregation state and toxicity of amphotericin B. *J Pharm Sci.* 1 déc 2000;89(12):1589-93.

Résumé :

L'antimoniote de méglumine ou Glucantime®. Reste le traitement de première intention de la leishmaniose en Algérie, administré par voie locale ou parentérale (IM, IV).

La toxicité de ce médicament est importante et centrée sur l'atteinte rénale ce qui limite son utilisation .

Notre travail est une recherche de formulation de le Glucantime® visant à augmenter l'index thérapeutique par diminution de sa toxicité sans altère son activité.

L'hospitalisation du malade est obligatoire au cours du traitement, pour le suivi biologique (LDH, Hémoglobine).

Les résultats retrouvent que le sérum albumine humaine diminue la toxicité de Glucantime® sur les globules rouge illustrée 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 le Glucantime® sur le globule rouge.

Mots clés : Glucantime®, Globule rouge, Hémolyse, Albumine, LDH.

Abstract :

Meglumine antimoniate or Glucantime® remain the first-line treatment of leishmaniasis in Algeria, it is administered by injection .

The toxicity of this drug is important and set centered on the renal attack what limits its utilisation.

Our work is a search for formulation of Glucantime® , wich the purpose is that to crease its therapetic indexe ;to decrease its toxicity without deteriorates its activity.

The hospitalization of the patient is required during treatment, followed by biological (LDH, Hemoglobin).

The results find that the serum human albumin decreases the toxicity of Glucantime® on the globules red illustrated by the reduction of hémolyse and the permeability of the K⁺ ions.

This study has brings the proof of the protective effect of albumin against toxicity of Glucantime® on the red globule.

Key words: Glucantime®, Red globule, Hemolyse, Albumine, LDH.

ملخص

يبقى غليكونتيممضاد اللشمانيا للأول استعمالا في الجزائر يؤخذ موضعيا او عضليا إلا إن سميتها لكبيره يحدد من استعماله ..
من خلال هذا الدراسة تبحت عن تركيبة غليكونتيم التي تسمح بتوسيع المؤثر العلاجي لهذا كبتقليل نسبة سميته
دون التأثير على نشاطه
وضع المريض تحت المراقبة ضروري للمتابعة البيولوجية له .
توصلنا من خلال النتائج إلى أن مصلا البومينيو ديا إلى التقليل من سمية غليكونتيم على الكريات الدموية
الحمراء، من خلال التقليل من نسبة التحلل الدموي ونفاذية شوار دال بوتاسيوم .

