

Année 2010

N° d'ordre : 277



Université de Lomé-TOGO
Laboratoire de Physiologie –Pharmacologie



Université de Strasbourg
Laboratoire d'innovation Thérapeutique – UMR 7200

THESE

Présentée en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR DES UNIVERSITES DE LOME ET DE STRASBOURG

OPTION: SCIENCES PHARMACEUTIQUES

SPECIALITE : **Pharmacologie**

Par

Kossi METOWOGO

**EFFETS D'UN EXTRAIT DE FEUILLES D'ALOE BUETTNERI SUR
L'INFLAMMATION BRONCHIQUE, L'ULCERE GASTRIQUE ET
LA REPARATION TISSULAIRE.**

Soutenu le 18 janvier 2010

Devant le jury d'examen composé de :

Messanvi GBEASSOR Professeur, Université de Lomé, Togo
Frédéric LOKO Professeur, Université d'Abomey Calavi, Bénin
Annelise LOBSTEIN Professeur, Université de Strasbourg, France
Kouami KOKOU Maître de Conférences, Université de Lomé, Togo
Kodjo A. AKLIKOKOU Professeur, Université de Lomé, Togo
Nelly FROSSARD, Directeur de recherche Insem,
Université de Strasbourg, France

Examineur
Rapporteur
Rapporteur
Rapporteur
Directeur

Directeur

"Au bord du torrent, sur les deux rives, toutes sortes d'arbres fruitiers pousseront ; leur feuillage ne se flétrira pas et leurs fruits ne manqueront pas. Chaque mois ils porteront des fruits nouveaux, car cette eau vient du sanctuaire. Les fruits seront une nourriture, et **les feuilles un remède.**"

REMERCIEMENTS

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre deux Universités (Université de Lomé et l'Université de Strasbourg). Il est réalisé dans le Laboratoire de Physiologie et de Pharmacologie du Professeur Messanvi GBEASSOR, Doyen honoraire de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé et le Laboratoire d'Innovation thérapeutique UMR7200 CNRS de la Faculté de Pharmacie d'illkirch (UdS) sous la direction du Professeur AKLIKOKOU A. Kodjo de la Faculté des Sciences de (UL) et de Nelly FROSSARD, Directeur de recherche Inserm (UdS).

C'est l'occasion pour moi d'adresser toutes mes gratitudes:

- Au Professeur Messanvi GBEASSOR qui m'a accepté volontiers dans son Laboratoire et m'a ouvert le chemin de la recherche, et qui malgré ses multiples occupations académiques et ministérielles a accepté de juger ce travail ; je lui adresse toutes mes reconnaissances,
- A Madame Nelly FROSSARD, Directeur de recherche Inserm pour m'avoir accepté dans son équipe. En acceptant d'encadrer cette thèse en cotutelle, vous m'avez permis de profiter de vos expériences ; veuillez trouver ici toute ma reconnaissance,
- Au Professeur AKLIKOKOU A. Kodjo qui depuis le DEA a voulu diriger mes premiers pas dans le domaine de la recherche et a accepté d'encadrer cette thèse en cotutelle ; les mots me manquent pour lui témoigner tout ma gratitude,
- Au Professeur Annelise LOBSTEIN pour l'accueil, l'autorisation de faire toutes les analyses phytochimiques dans son laboratoire, et qui volontiers a accepté d'être rapporteur dans le jury de cette thèse ; qu'elle trouve ici tous mes remerciements,
- A Monsieur KOKOU Kouami, Maître de Conférences, d'avoir accepté la lourde responsabilité d'être rapporteur du jury de cette thèse ; je lui adresse mes remerciements,
- Au Professeur Frédéric LOKO qui m'a honoré en acceptant d'être rapporteur dans le jury qui va juger ce travail mais également pour tous ses conseils pertinents ; je lui suis reconnaissant,
- Professeur Koffi AKPAGANA pour nous avoir aidés à identifier l'espèce *A. buettneri* et accepté d'être membre du jury de cette thèse ; pour ses conseils et encouragements, je lui adresse toute ma gratitude.

Mes remerciements vont à:

- Toutes les équipes de Nelly FROSSARD et d'Annelise LOBSTEIN plus particulièrement à Christine LEHALLE, François DAUBEUF, Saliou NGOM, Charlotte SIMMLER, Cathérine VOTHON, Philippe CHABERT pour leur assistance technique ; sans oublier Manuel NEVES et Simona NEMSKA de leur soutien moral,
- Mes aînés de Lomé Messieurs ESSIEN Komlanvi, MOUZOU Akléso, EKLUGADEGBEKU Christophe, AGBONON A. Innocent, KODJO Magloire, Thomas TITRIKOU, Nicolas KOUDOUVO, Mesdames LAWSON-EVI POVI S, LAWSON-EVI K. pour leur soutien moral et conseil,

Mes remerciements vont également à mes collègues du Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie de l'Université de Lomé, plus particulièrement à Zoua Tessou KADEBE qui m'a aidé dans l'établissement des dossiers relatifs à la cotutelle et la soutenance, mais aussi à MISSEBUKPO Afiwa Massa, TETTEGAH M.E., DIALLO A., BAKOMA B.

Je remercie également TOVIAWOU Koffi et JOUONANG Laure Armelle pour leur belle compagnie à Strasbourg.

Je remercie particulièrement ma chère épouse LANWOUVI Edoh, mes enfants Janassé, Yékolia, Yamine et Jérémie pour avoir supporté mes multiples absences.

A mon père, ma mère et mes frères Mawunyo et Mawuto qui m'ont toujours soutenu j'adresse mes remerciements.

Je ne terminerai pas cette rubrique de remerciements sans adresser mes vives gratitude au Gouvernement Français par le biais du Service de Coopération et d'Actions Culturelles (SCAC) de l'Ambassade de France au Togo pour leur soutien financier sans lequel cette thèse en cotutelle n'aurait jamais lieu.

EGIDE, organisme français de gestion des bourses et d'accueil des boursiers étrangers qui tout au long de mon séjour a apporté toute l'aide nécessaire à la réussite de mes travaux

La commission nationale de l'UNESCO-Togo pour leur aide financière qui m'a permis de finaliser cette thèse.

Tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, mais dont les noms ne figurent pas ici ; je leur rends hommage.

TABLE DES MATIERES ET ABREVIATIONS

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES ET ABREVIATIONS.....	5
Table des matieres	6
Liste des figures	10
Liste des tableaux	13
Abréviation.....	14
INTRODUCTION	16
PREMIER CHAPITRE : GENERALITES.....	22
I. Agression tissulaire et inflammation.....	23
1. Résolution de l'inflammation.....	24
2. inflammation dans l'asthme.....	25
II. Réparation tissulaire.....	27
1. Phase de l'hémostase.....	28
2. Phase inflammatoire.....	28
3. Phase de prolifération et de réparation.....	29
4. Phase de remodelage.....	30
5. La cicatrisation des ulcères gastroduodénaux.....	33
III. Physiopathologie de l'ulcère gastroduodénal.....	35
1. Définition.....	35
2. Facteurs de risque.....	35
2.1. Infection à <i>Helicobacter pylori</i>	35
2.2. Ulcère gastroduodénal dû aux AINS.....	37
2.3. Syndrome de Zollinger- Ellison	39
2.4. Autres facteurs.....	39
3. La gastroprotection.....	40
3.1. Définition.....	40
3.2. Histologie du tissu gastrique.....	40
3.3. Epithélium gastrique.....	42
3.4. Le mucus gastrique.....	44
4. Hyperchlorhydrie.....	48
IV. Le traitement de l'ulcère gastroduodenal.....	50
V. Caractéristique botanique et ethnobotanique d' <i>Aloe buettneri</i>	50

DEUXIEME CHAPITRE : REPARATION TISSULAIRE.....	53
I. La réparation tissulaire.....	54
1. Introduction.....	54
2. Agression tissulaire <i>in vitro</i>	54
2.1. Matériel.....	54
2.2. Mise au point de la technique.....	54
2.3. Validation de la technique.....	55
2.4. Effet de l'extrait et ses fractions sur la réparation tissulaire.....	55
3. Agression tissulaire <i>in vivo</i>	56
3.1. Modèle d'hyperéosinophilie dans l'asthme : modèle murin de 8 jours.....	56
3.1.1. Matériel.....	56
3.1.2. Induction de l'asthme.....	56
3.2. Modèle de blessure cutanée.....	57
3.2.1. Préparation du gel.....	57
3.2.2. Induction de la plaie cutanée.....	57
3.2.3. Traitement statistique.....	58
4. Résultats.....	58
4.1. Réparation tissulaire <i>in vitro</i>	58
4.1.1. Réparation tissulaire en fonction de la concentration du milieu en SVF.....	58
4.1.2. Effet du TGF β sur la réparation tissulaire.....	60
4.1.3. Effet de l'extrait sur la réparation tissulaire.....	61
4.1.4. Recherche des fractions bioactives.....	64
4.1.4.1. Avec les cellules H292.....	64
4.1.4.2. Avec les cellules 16HBE.....	68
4.2. Réparation tissulaire <i>in vivo</i>	72
4.2.1. Effet antiasmatique.....	72
4.2.2. Cicatrisation de la blessure cutanée.....	75
TROISIEME CHAPITRE : EFFET ANTIULCEREUX.....	74
I. Hypersécrétion gastrique.....	76
1. Introduction.....	77
2. Expérimentation.....	77
2.1. Ulcère induit par l'acide acétique.....	77
2.2. Effet de l'extrait sur le pH gastrique.....	77
2.3. Effet de l'extrait sur le volume de sécrétion et l'acidité gastrique.....	78
2.4. Effet de l'extrait sur l'hyperchlorhydrie induit par histamine.....	78
3. Résultats.....	78
3.1 Inhibition de l'ulcère induit par l'acide acétique.....	78

3.2. Augmentation du pH gastrique.....	80
3.3. Diminution du volume de sécrétion et l'acidité gastrique.....	81
3.4. Inhibition de l'hyperchlorhydrie induite par histamine.....	81
II. la gastroprotection.....	83
1. Introduction.....	83
2. Expérimentation.....	83
2.1. Induction de l'ulcère par éthanol.....	83
2.2. Dosage du mucus gastrique.....	83
2.3. Action de l'extrait sur l'ulcère gastrique potentialisé par L-NAME.....	84
2.4. Action de l'extrait sur l'ulcère gastrique potentialisé par l'indométacine.....	84
2.5. Effet antioxydant.....	85
2.5.1. Test au DPPH.....	85
2.5.2. Test au AAPH.....	85
3. Résultats.....	86
3.1. Inhibition de l'ulcère induit par l'éthanol.....	86
3.2. Stimulation de la production du mucus gastrique.....	88
3.3. Potentialisation de l'ulcère par L-NAME et son inhibition par l'extrait.....	89
3.4. Potentialisation de l'ulcère par prétraitement à l'indométacine.....	90
3.5. Effet antioxydant.....	90
QUATRIEME CHAPITRE : ETUDE PHYTOCHIMIQUE.....	94
I. Etude phytochimique.....	95
1.1. Collecte de plantes étudiées.....	95
1.2. Extraction et fractionnement.....	95
1.2.1. Extraction.....	95
1.2.2. Fractionnement.....	95
1.3. Analyse qualitative préliminaire et détermination quantitative	96
1.3.1. Analyse qualitative.....	96
1.3.2. Détermination quantitative.....	97
1.3.2.1. Dosage des polyphenols totaux.....	97
1.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	98
1.4. Analyse chromatographique.....	99
1.4.1. Chromatographie sur couche mince.....	99
1.4.2. Chromatographie liquide haute performance.....	99
2. Résultats.....	101
2.1. Extraction et fractionnement du matériel végétal.....	101
2.2. Dosage des polyphenols.....	101
2.3. Profil CCM.....	103

2.4. Analyse CHLP.....	106
2.4.1. Chromatogrammes obtenus avec la méthode 1.....	106
2.4.2. Chromatogrammes obtenus avec la méthode 2.....	116
DISCUSSION.....	124
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	134
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	136

Liste des figures

Figure 1 : Rôle des médiateurs mastocytaires dans l'asthme.....	27
Figure 2 : Hypothèse concernant le rôle des relations épithélium/mésenchyme dans le remodelage des voies aériennes dans l'asthme.....	32
Figure 3 : Conséquences possibles d'un dérèglement de l'équilibre survie-prolifération/apoptose dans la pathogénie du remodelage bronchique.....	33
Figure 4 : Rôles de la COX-1 et la COX-2 dans la défense de la muqueuse gastrique.....	38
Figure 5 : Coupe longitudinale de l'estomac.....	41
Figure 6 : Anatomie fonctionnelle de la muqueuse gastrique.....	42
Figure 7 : Les cellules de l'épithélium gastrique.....	44
Figure 8 : Rôles des prostaglandines dans le tractus gastro-intestinal et les effets des AINS.....	47
Figure 9 : Régulation de la sécrétion acide.....	49
Figure 10 : Plants d' <i>Aloe buettneri</i>	52
Figure 11 : Réparation tissulaire de cellules H292 en culture lésées dans des milieux à concentrations différentes de SVF.....	59
Figure 12 : Effet de TGF- β sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE	60
Figure 13 : Effet de TGF- β sur la réparation tissulaire de cellules H292	61
Figure 14 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire des cellules 16HBE	62
Figure 15 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire des cellules H292	63
Figure 16 : Effet de la fraction I de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	64
Figure 17 : Effet de la fraction II de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	65
Figure 18 : Effet de la fraction III de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	65
Figure 19 : Effet de la fraction IV de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	66
Figure 20 : Effet de la fraction V de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	66
Figure 21 : Effet de la fraction VI de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	67
Figure 22 : Effet de la fraction VII de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules H292	67

Figure 23 : Effet de la fraction I de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	68
Figure 24 : Effet de la fraction II de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	69
Figure 25 : Effet de la fraction III de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	69
Figure 26 : Effet de la fraction IV de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	70
Figure 27 : Effet de la fraction V de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	70
Figure 28 : Effet de la fraction VI de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	71
Figure 29 : Effet de la fraction VII de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE.....	71
Figure 30 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur l'infiltration leucocytaire des bronches dans le modèle murin d'asthme	73
Figure 31 : Effet de l'extrait sur l'infiltration bronchique des éosinophiles.....	73
Figure 32 : Concentration d'IL-5 dans le BAL.....	74
Figure 33 : Concentration d'IL-4 dans le BAL.....	74
Figure 34 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la cicatrisation de la plaie cutanée chez la souris.....	75
Figure 35 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur l'ulcère induit par l'acide acétique.....	79
Figure 36 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur le pH gastrique.....	80
Figure 37 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur l'hyperchlorhydrie induite par l'histamine.....	82
Figure 38 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur l'ulcère induit par l'éthanol.....	87
Figure 39 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur la production du mucus.....	88
Figure 40 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur l'ulcère potentialisé par L-NAME.....	89
Figure 41 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur l'ulcère potentialisé par l'indométacine.....	90
Figure 42 : Effet antioxydant de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> avec le test au DPPH.....	92
Figure 43 : Effet antioxydant de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> avec le test au AAPH.....	93
Figure 44 : Résumé du protocole d'extraction et de fractionnement de l'extrait d' <i>A. buettneri</i>	96
Figure 45 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique et de quercétol.....	102
Figure 46 : Profils CCM de l'extrait total.....	103
Figure 47 : Profils CCM de l'extrait hydroalcoolique et ses fractions enrichies.....	104
Figure 48 : Profils CCM de l'extrait hydroalcoolique et des fractions actives 5-7.....	105

Figure 49 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de l'extrait hydroalcoolique d' <i>A. buettneri</i>	106
Figure 50 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction I.....	107
Figure 51 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction II.....	108
Figure 52 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction III.....	109
Figure 53 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction IV.....	110
Figure 54 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction V.....	111
Figure 55 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction VI.....	112
Figure 56 : Profils CLHP à 205, 280, 324 nm de la fraction VII.....	113
Figure 57 : Spectre d'absorption des pics majoritaire CHLP 1.....	115
Figure 58 : Chromatogramme de l'extrait obtenu avec la méthode CHLP 2	116
Figure 59 : Chromatogramme de la fraction V obtenu avec la méthode CHLP 2.....	117
Figure 60 : Chromatogramme de la fraction VI obtenu avec la méthode CHLP 2	118
Figure 61 : Chromatogramme de la fraction VII obtenu avec la méthode CHLP 2	119
Figure 62 : Spectre d'absorption des pics majoritaire CHLP 2.....	122

Liste des tableaux

Tableau 1 : Effet de l'extrait d' <i>A. buettneri</i> sur le volume de sécrétion et l'acidité gastrique.....	81
Tableau 2 : Gradient des phases mobiles utilisées lors de CLHP 1.....	100
Tableau 3 : Gradient des phases mobiles utilisées lors de CLHP 2.....	98
Tableau 4 : Quantité de fractions obtenues à partir de 3 g d'extrait.....	101
Tableau 5 : Teneurs relatives en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux de l'extrait hydroalcoolique d' <i>A. buettneri</i>	102

Abréviations

- 15-RHETE : 15-hydroxyeicosatétraénoïque
- AA: Acide arachidonique
- AAPH : 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochlorure
- AC : Adénylcyclase
- AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- AlCl_3 : Chlorure d'aluminium
- AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
- ATL : Aspirin-triggered lipoxin
- ATP : Adénosine triphosphate
- b-FGF: basic-Fibroblast growth factor
- CagA : Cytotoxin associated gene A
- CCK : Cholécystokinine
- CCM : Chromatographie sur couche mince
- CINCs : Cytokine-induced chemottractants
- CLHP : Chromatographie liquide haute performance
- cNOS: Monoxyde d'azote synthase constitutive
- COX : Cyclo-oxygénases
- DPPH : 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
- EAG : Equivalent acide gallique
- ECL : Enterochromoffin-Like Cells
- ECP : Eosinophil cationic protein
- EDN : Eosinophil derived neurotoxin
- EFPIA : Fédération européenne d'associations et d'industries Pharmaceutiques
- EGF : Epidermal Growth Factor
- EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor
- EMTU : Epithelial mesenchymal trophic unit
- EPO : Eosinophil peroxydase
- EQ : Equivalent quercétol
- EtOH : Ethanol
- FGF: Fibroblast growth factor
- Fr : Fraction
- GIT : Tractus gastro-intestinal
- GMCSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
- HCl : Acide chlorhydrique
- HGF : Facteur de croissance hépatique
- HLA : Human Leucocyte Antigens
- ICAM-1 : Intercellular adhesion molecule
- IgE : Immunoglobuline E
- IGF : Insulin-like growth Factor
- IL (1, 4, 8): Interleukine (1, 4, 8)
- $\text{INF}\gamma$: interferon gamma

- iNOS : Monoxyde d'azote synthase inductible
- I- κ B : Inhibitory κ B
- KGF : Kératinocyte growth factor
- LBA : Lavage bronchoalvéolaire
- L-NAME : N(G)-nitro-L-arginine-méthyl ester
- L-NNA : N(G)-nitro-L-arginine
- LPS: Lipopolissacharide
- MeOH : Méthanol
- MMP : métalloprotéinase
- MBP : Major basic protein
- NaCl : Chlorure de sodium
- NaOH : hydroxyde de sodium
- NEU : Amino-2 éthyl-diphényl borate
- NF- κ B : Nuclear factor κ B
- NO : Monoxyde d'azote
- NOS : Nitric Oxyde Synthase
- NP/PEG : Natural product polyéthylène glycol
- PAF : Platelet activated factor
- PDGF: Platelet Derived Growth Factor
- PG(s) : Prostaglandine(s)
- PG (A₂, D₂, E₂, J₂, G₂ ...) : Prostaglandine (A₂, D₂, E₂, J₂, G₂ ...)
- pH : Potentiel d'hydrogène
- PPAR : Peroxisome proliferator-activated receptor
- PVVIH : Personne vivant avec le VIH
- RANTES : Regulated on activation normal T cell expressed and secreted
- Rdt : Rendement
- RHETE : Hydroxyeicosatétraénoïque
- RT-PCR : Revers transcriptase- Polymerase chain reaction
- SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise
- SST : Somatostatine
- SVF : Serum du veau fœtal
- TGF β : Transforming growth factor bêta
- TNF α : Tumor necrosis factor alpha
- TP : Peptides en trèfle
- TXA₂: Thromboxane
- UV/VIS : Ultra violet/ visible
- Vac A: Vacuolating cytotoxin gene A
- VCAM-1 : Vascular cell adhesion molecule
- VEGF : Vascular endothelial growth factor
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humain

INTRODUCTION

La lésion des tissus internes représente une source de morbidité importante chez les patients. Le maintien de l'intégrité de ces tissus est primordial au maintien de l'homéostasie de l'organisme. Toute atteinte (traumatisme physique ou chimique, infection bactérienne...) de ces tissus, tout comme celle des tissus cutanés, est suivie de la mise en place d'un processus inflammatoire. L'inflammation est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme vivant vascularisé, reconnaît, détruit et élimine les substances qui lui sont étrangères. Cette réaction inflammatoire et immunitaire vise à combattre l'agent pathogène, à débarrasser le tissu des débris cellulaires et matriciels, à établir un lien avec la réponse immunitaire acquise et amorcer la réparation tissulaire. Ainsi, la résolution de l'inflammation est à l'origine de la réparation tissulaire. Si dans la plupart des cas, le processus inflammatoire aboutit à la restauration de l'intégrité du tissu endommagé (inflammation aiguë), dans certains cas notamment lors des processus inflammatoires chroniques, la réparation des tissus lésés constitue un problème de santé. C'est le cas des maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, les ulcères gastroduodénaux, etc...

Les risques écotoxicologiques liés à la dégradation de l'environnement suite aux effets d'une industrialisation et d'une urbanisation incontrôlée ainsi que la pollution dans les pays du Sud conduisent à une augmentation de l'incidence des maladies inflammatoires. Par exemple au Togo, bien que les informations sur les données épidémiologiques soient rares, une étude en milieu scolaire sur l'asthme montre que sa prévalence est de 23,4% (Hounkpati *et al.* 2009). Le traitement de ces maladies nécessite l'utilisation prolongée d'anti-inflammatoires. L'utilisation de ces dernières dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques, dont l'incidence ne cesse d'accroître, n'est pas dépourvue d'effet-délétère sur la muqueuse gastrique. Il favorise notamment les ulcères gastroduodénaux.

L'ulcère gastroduodénal est une affection cosmopolite, d'évolution chronique récidivante dont l'incidence lui confère le statut de maladie de santé publique. Il sévit aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays du Sud. Il est défini comme une perte de substance de la paroi gastrique ou duodénale atteignant en profondeur la musculature (Tarnawski *et al.* 2001). C'est une affection très répandue et sa prévalence dans le monde est estimée à 10% de la population adulte (Fandi 2000). Selon la Fédération Européenne d'Associations et d'Industries Pharmaceutiques (EFPIA, 2008), l'ulcère gastroduodénal est extrêmement répandu dans les pays développés. Son incidence annuelle est de 1 à 3‰ et il affecte 1 homme sur 10 et 1 femme sur 15, en

Europe à un moment de leur vie. Environ 250.000 hospitalisations par an sont dues à cette maladie. Les complications d'ulcères sont responsables de 25.000 décès annuels dans l'Union Européenne. Aux Etats-Unis, environ 4 millions de personnes souffrent des ulcères gastroduodénaux et chaque année, 350.000 nouveaux cas sont diagnostiqués, environ 100.000 patients sont hospitalisés et au moins 3000 personnes meurent des suites de cette maladie. Malgré de grands progrès dans la compréhension de la maladie ulcéreuse gastroduodénale, son étiologie n'a pas été complètement élucidée (Moraes *et al.* 2009). En Afrique, les données épidémiologiques font une estimation de 24,5% avec une inégale répartition selon les zones géographiques (Kelly *et al.* 2008). La maladie survient lorsqu'il y a un déséquilibre entre les facteurs de protection (sécrétion du mucus et du bicarbonate, capacité de la muqueuse à s'opposer à la rétro-diffusion des ions H⁺, l'intégrité de la muqueuse intestinale...) et les facteurs d'agression notamment la sécrétion acide et de pepsinogène. L'ulcère gastroduodéal se différencie des lésions de la muqueuse ou bien atteignant la sous- muqueuse sans la dépasser. Deux facteurs de risques majeurs sont à la base de la survenue de l'ulcère gastroduodéal. Du point de vue proportion, l'infection à *Helicobacter pylori* est associée à 75 - 90% des cas et est considérée comme le premier facteur prédisposant à la survenue de l'ulcère. Cependant, les mécanismes d'induction étant mal élucidés deux thèses contradictoires *s'affrontent* sur la désignation de *H. pylori* comme agent causal de l'ulcère (Hosbley *et al.* 2008). Pour Ford et Talley (2009) bien qu'il n'existe pas de démonstrations formelles et claires montrant l'effet causal de *H. pylori*, plusieurs faits pourront l'expliquer. L'infection à *H. pylori* est associée aux gastrites induisant l'hypersécrétion acide pouvant conduire à l'ulcère gastroduodéal (Ohkusa *et al.* 2003). Par ailleurs dans plus de 75% de cas d'ulcère gastroduodénaux on retrouve l'infection de *H. pylori*. Par contre pour Hosbley *et al.* (2009) la présence d'infection à *H. pylori* dans plusieurs cas d'ulcère n'explique pas son effet causal mais explique la récidivité de la maladie. L'utilisation prolongée ou abusive d'Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS) constitue le deuxième agent causal de l'ulcère. On ajoute à ces causes précitées le tabagisme, le stress, une alimentation pauvre en fibres et des facteurs génétiques. Bien que l'éradication de la bactérie *H. pylori* par la prise d'antibiotiques et le respect scrupuleux des règles d'hygiène ont fait chuter sa prévalence dans les pays développés ces dernières années, la prise excessive d'anti-inflammatoires pour les problèmes cardiovasculaires associés à l'âge de plus en plus avancé de ces populations ajoutés au stress font qu'aujourd'hui les ulcères gastriques constituent

toujours dans ces pays un problème de santé pour les personnes âgées. En outre, les conditions peu hygiéniques des pays en développement ajoutées aux causes précitées auxquelles se greffe le nombre de plus en plus élevé de séropositifs avec les maladies opportunistes du VIH/SIDA (Virus de l'immodéficience humain/Syndrome d'immunodéficience aquirse) sont autant de facteurs expliquant la progression de la maladie ulcéreuse dans les pays du Sud.

Le traitement des ulcères gastriques comporte l'utilisation des inhibiteurs des pompes à proton, des antiacides, des antihistaminiques en association avec les antibiotiques. C'est une maladie récidivante qui nécessite une utilisation chronique de ces produits ; or les populations africaines à faibles revenus n'ont pas toujours accès à ces traitements.

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est traditionnellement connue dans les populations africaines. En effet, depuis des millénaires, la population africaine a recours à des plantes médicinales pour se soigner. En plus des médicaments conventionnels, plus de 80% de la population (Traoré *et al.* 2009) ont souvent recours aux plantes médicinales dans le traitement de plusieurs affections dont les inflammations et les ulcères gastriques. Au Togo aussi plusieurs plantes sont utilisées dans le traitement des plaies intestinales dont l'*aloès* (nom générique d'Aloe).

Aloe fait partie des plantes utilisées à grande échelle dans la préparation des médicaments et produits cosmétiques. En effet, elle a sans doute été utilisée dans l'empire romain, peut être longtemps avant pour ses propriétés thérapeutiques (Morton 1961, Crosswhite F. et Crosswhite C. 1984). Plusieurs propriétés furent décrites pour l'exsudat coloré en jaune lorsqu'on coupe la feuille transversalement ou le gel mucilagineux ou la feuille entière. Ainsi *Aloe barbadensis* ou *Aloe vera* est utilisée en médecine traditionnelle mexicaine et sur d'autres continents comme anti-inflammatoire et produit cosmétique (Grindlay et Reynolds 1986). L'exsudat est utilisé comme laxatif (Ishii *et al.* 1990). Le gel mucilagineux des feuilles est un remède contre des états pathologiques tels que l'arthrite, la goutte, l'acné, les dermatoses, les brûlures, l'ulcère (Cappasso et Gaginella 1997 ; Reynolds et Dweck 1999). Des études préalables réalisées par Chitra *et al.* (1998) ont démontré que le gel d'*Aloe vera* accélère la cicatrisation des plaies chez le rat diabétique en stimulant les fibroblastes. Il a été également rapporté que ce même gel possède des propriétés antidiabétiques (Okay *et al.* 2001). De plus, certains constituants chimiques ayant une activité immunomodulatrice ont été isolés des extraits du gel d'*A. vera* par Qiu *et al.* (2000).

Davis *et al.* (1984) ont démontré que le gel d'*A. barbadensis* possède des propriétés anti-inflammatoires rapportées à l'inhibition de la cyclooxygénase et par conséquent il induit une inhibition de la synthèse de prostaglandines, l'un des médiateurs importants dans le développement du processus inflammatoire. C'est pourquoi Vazquez *et al.* (1996) a suggéré que l'activité anti-inflammatoire du gel d'*A. vera* est relative à l'inhibition de la synthèse de prostaglandines.

D'autres espèces d'*Aloe* ont été identifiées comme ayant des propriétés anti-inflammatoire et anti-ulcéreuse. Il s'agit d'*A. arborens*, *A. saponaria*, *A. schweinfurthii* (Fujita *et al.* 1979 ; Yagi *et al.* 1982; Aklikokou *et al.* 1995).

A. buettneri et *A. schweinfurthii* sont deux espèces d'*Aloe* rencontrées dans la flore togolaise. *A. buettneri* est utilisée dans le traitement des affections intestinales, génito-urinaires, les plaies, les blessures et surtout les brûlures (Berhaut 1974). Selon le même auteur, lorsqu'il est mélangé à l'eau de boisson des poules, le médicament les protégerait contre une épidémie de choléra aviaire. Les feuilles d'*A. buettneri* sont traditionnellement utilisées au Togo contre les infections, les maladies de la peau, les inflammations, le diabète, les ulcères par les tradithérapeutes (Adjanohoun *et al.* 1986). Le gel frais est utilisé pour traiter le zona et les poussées herpétiques chez les personnes vivant avec le VIH au Burkina- Faso (Nikiéma *et al.* 2009). Au Cameroun, ses feuilles sont utilisées pour traiter les ulcères superficiels chroniques, la toux, les dysménorrhées, l'empoisonnement alimentaire, les infections intestinales, les problèmes de délivrance, la dysenterie, et généralement les maux de ventre (Adjanohoun *et al.* 1996). Dans d'autres contrées *A. buettneri* est utilisée comme antiseptique, purgatif, décoagulant, vermifuge, stimulant. Telefo *et al.* (2002, 2004) ont reporté l'effet bénéfique d'*A. buettneri* sur la synthèse des hormones ovariennes.

Eu égard à toutes ces études, nous avons posé l'hypothèse que les extraits des feuilles d'*A. buettneri*, espèce rencontrée fréquemment au Togo posséderait des propriétés anti-inflammatoire et antiulcéreuse.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des tests préliminaires à savoir les tests anti-œdémateux, analgésique, antipyrétique et antiulcéreux. Les résultats de nos travaux préliminaires ont montré que l'extrait a un effet anti-inflammatoire et antiulcéreux (Metowogo *et al.* 2008). Ces résultats sont forts intéressants car le traitement de l'inflammation, maladie fréquente dans nos zones, passe par l'utilisation des produits pharmaceutiques qui ne sont pas seulement chers mais ont des effets

secondaires parfois fâcheux tels que les ulcères peptiques. Une plante qui traiterait l'inflammation et protégerait le tractus intestinal voire traiterait les ulcères gastriques serait d'intérêt en thérapeutique et doit faire l'objet d'investigation scientifique approfondie.

La réparation des tissus étant important aussi bien dans le cas de l'inflammation que celui d'ulcère gastroduenal, l'extrait d'*A. buettneri* en possédant à la fois un effet antiinflammatoire et antiulcéreux potentialiserait cette réparation. Pour ces raisons, l'objectif de ce travail de thèse est d'étudier l'effet de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* et de ses fractions actives sur la réparation tissulaire et la cicatrisation en utilisant différents modèles d'agression tissulaire (bronchique, cutanée et gastrique). Au cours de ce travail nous évaluerons l'effet de l'extrait dans un modèle inflammatoire d'asthme, nous étudierons son action dans la cicatrisation cutanée et enfin nous recherchons les mécanismes d'action de l'extrait dans le processus antiulcéreux.

Cette thèse est structurée en quatre chapitres auxquels fait suite une discussion générales des résultats. Le premier chapitre renferme les généralités sur les ulcères gastroduedonaux et les maladies inflammatoires, en l'occurrence l'asthme. Dans le second chapitre, intitulé réparation tissulaire, nous avons mis au point un modèle *in vitro* de réparation tissulaire pour l'étude de l'activité réparatrice d'*A. buettneri*. Nous avons de plus évalué l'effet de l'extrait sur la cicatrisation *in vivo* en utilisant deux des trois modèles de lésion épithéliale : cutanée (coupure), respiratoire (agression allergénique dans un modèle d'asthme). Ensuite, le troisième chapitre a porté sur l'évaluation de l'effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur l'ulcère gastrique (troisième modèle de lésion épithéliale : ulcère gastrique). L'activité de l'extrait a été évaluée sur les paramètres de la gastroprotection et de la sécrétion gastrique. Enfin, le quatrième chapitre traite de l'évaluation du profil phytochimique de l'extrait avec pour but la détermination des fractions actives.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la revalorisation des plantes médicinales de la flore togolaise, afin de disposer de connaissances scientifiques sûres pour conseiller leur utilisation à la population togolaise.

Premier chapitre : Généralités

I- Agression tissulaire et inflammation

La réaction inflammatoire vise à combattre l'agent pathogène, à débarrasser le tissu des débris cellulaires et matriciels, à établir un lien avec la réponse immunitaire acquise et amorcer la réparation tissulaire. C'est un processus dynamique comportant plusieurs étapes successives : la réaction vasculo-exsudative caractérisée par les quatre signaux cardinaux de l'inflammation (rougeur, chaleur, tuméfaction, douleur), la réaction cellulaire, la détersion (nettoyage du foyer lésionnel), la phase terminale de réparation et de cicatrisation (Fauve et Hevin 1998). Si la réaction inflammatoire conduit la plupart du temps à l'élimination de l'agent infectieux ou agressif et à la réparation du tissu (inflammation aiguë), elle mène parfois à la persistance de la réponse inflammatoire (inflammation chronique) conduisant au changement irréversible du tissu agressé (Kantarci *et al.* 2003). Un grand nombre de cellules (à savoir les mastocytes, les macrophages, les polynucléaires, les fibroblastes, les cellules endothéliales) prennent part au processus inflammatoire faisant intervenir de nombreux médiateurs de l'inflammation incluant d'une part le système d'activation plasmatique et d'autre part les médiateurs cellulaires.

Le système d'activation plasmatique est constitué de systèmes multi-protéiques dont les composants sont produits à distance du foyer inflammatoire. Les différents composants de ces systèmes sont présents dans le sang circulant où ils demeurent à l'état de précurseurs inactifs, jusqu'à ce qu'ils soient mis en présence d'un activateur spécifique. Il s'agit de système de contact (formé du facteur de Hageman ou facteur XII, la prékallikréine, le Kininogène et le facteur XI) induisant une cascade de réactions, qui aboutit à la libération de bradykinine, du complément et du complexe fibrinofibrinolyse.

Les signaux de danger déclenchés par une altération tissulaire activent les cellules sentinelles du tissu agressé: macrophages résidents, mastocytes, cellules dendritiques, fibroblastes, qui libéreront une vaste gamme de molécules pro-inflammatoires (sérotonine, prostaglandines, protéinases, histamine, cytokines et chimiokines). Parmi ces molécules, se trouvent plusieurs agents vasodilatateurs principalement libérés par les mastocytes, en particulier les prostaglandines (PGs) qui résultent de la conversion de l'acide arachidonique par les cyclo-oxygénases (COX) constitutive (COX-1) et inducible (COX-2). L'augmentation du débit sanguin local, l'établissement du gradient chimiotactique et l'activation de l'endothélium des vaisseaux sanguins favorisent la transmigration rapide des polynucléaires neutrophiles. Lorsqu'ils sont activés, les

neutrophiles sont soumis à un phénomène de *rolling* (une roulade) sur l'endothélium vasculaire, puis adhèrent à cet endothélium et infiltreront rapidement le site lésé pour y libérer un arsenal de molécules pro-inflammatoires, parmi lesquelles des chimiokines, des cytokines (IL1, IL4, IL8, PAF, TNF α , INF γ), des radicaux libres et des protéinases (Dalbeth et Haskard 2005). Les neutrophiles seront suivis par les monocytes, qui infiltreront la lésion pour s'y différencier en macrophages et exercer leurs activités phagocytaires et cytotoxiques. Les produits de phagocytose seront ensuite présentés aux lymphocytes par le biais du complexe HLA (*Human leucocyte antigens*) de classe II. La multitude de molécules libérées en phase inflammatoire endommage les tissus et leur fonction. Ainsi, les enzymes de la famille des métalloprotéinases (MMP1, 3, 13 14) exprimées par les cellules inflammatoires (macrophages, neutrophiles...) mais aussi par les cellules épithéliales et les cellules du stroma ont la capacité de dégrader différents types de collagène de la matrice extracellulaire et d'autres composés responsables de la fonction du tissu (Gill et William 2008). Selon les mêmes auteurs ces enzymes protéolytiques sont, entre autres, essentielles à la migration des cellules inflammatoires et au remodelage de la matrice extracellulaire.

1- Résolution de l'inflammation

La résolution de l'inflammation - un processus très contrôlé - est à l'origine de la réparation tissulaire. Après un séjour de 24 à 48 heures, les neutrophiles s'engagent massivement vers la voie de l'apoptose en réponse à divers signaux, notamment la diminution des messagers de survie, l'activation des death receptors et l'inhibition du facteur de transcription NF- κ B (*nuclear factor κ B*) par les prostaglandines 12-PGJ₂ (prostaglandine J₂) et 15 δ -PGJ₂ (Venkataraman et al. 2006, Na et al. 2003). Selon Na et al. 2003 les prostaglandines D₂ (PGD₂) et ses métabolites de la famille 'J' pourraient également agir comme anti-inflammatoires via l'activation des récepteurs nucléaires PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*). Une fois activé ces PPARs notamment le PPAR γ induiraient l'apoptose des macrophages et des neutrophiles, par activation des death receptors. Ils agissent aussi en induisant un effet antiprolifératif.

Les neutrophiles apoptotiques sont rapidement phagocytés par les macrophages, donnant à ces derniers un signal qui remplace leur synthèse de cytokines pro-inflammatoires par celle de cytokines anti-inflammatoires. L'ingestion de cellules apoptotiques par les macrophages inhibe la libération de TNF- α (*tumor necrosis factor*

α), d'interleukine-8 (IL-8), de GMCSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), d'IL-10, d'IL-1 β et de thromboxane A₂ (Fadok *et al.* 1998). De plus, l'implantation de cellules apoptotiques dans un site inflammatoire stimule la libération du TGF- β 1 (*transforming growth factor β 1*). Le TGF- β 1 stimule la résolution de l'inflammation, ainsi que la fibrogenèse (Bonniaud 2007, Tang *et al.* 2006). La prostaglandine PGE₂ joue un rôle majeur dans la commutation des cytokines pro-inflammatoires vers les cytokines anti-inflammatoires dans les macrophages, et l'administration d'indométacine inhibe cette commutation, suggérant ainsi l'importance de l'activité des COXs dans l'amorce du processus de guérison (Marsolais et Frenette 2005). Des observations récentes indiquent qu'une deuxième vague d'expression de COX-2 en phase de résolution de l'inflammation serait associée à la production de PGD₂ (Gilroy *et al.* 1999). La phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages induirait également un arrêt de la prolifération et un prolongement de la survie de ces derniers. On sait que les macrophages libèrent une panoplie de facteurs de croissance, dont le TGF- β 1, le b-FGF (*basic-fibroblast growth factor*) et le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) (Mutsaers *et al.* 1997), qui sont essentiels pour l'angiogenèse et le démarrage de la réparation tissulaire. Il en découle que la phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages, ainsi que l'activité des COXs joueraient des rôles déterminants lors de la résolution de l'inflammation et de la réparation tissulaire. Dans le cas de lésion interne, tout comme les lésions superficielles, les neutrophiles et les macrophages envahissent séquentiellement le site de la blessure et la présence des macrophages persiste bien au-delà de la disparition des neutrophiles. Il devient de plus en plus évident qu'une perturbation de cette séquence physiologique pourrait se traduire par des effets néfastes sur le processus de réparation tissulaire.

2- Inflammation dans l'asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies aériennes dont l'incidence et la morbidité ont considérablement augmenté dans les pays industrialisés comme dans ceux du sud au cours des dernières décennies. C'est une maladie caractérisée par l'obstruction réversible des voies bronchiques, un changement de structure bronchique, une desquamation des cellules épithéliales, une hyperplasie des glandes produisant le mucus, un épaississement du tissu conjonctif basal dû à une accumulation sous-épithéliale de matrice extracellulaire, une augmentation de

myofibroblaste dans la muqueuse, une importante vascularisation bronchique (Halayko et Amrani 2003, Barnes *et al.* 1998). L'inflammation des voies aériennes joue un rôle prépondérant dans la physiopathologie de l'asthme, même si le mécanisme est mal connu. Elle fait intervenir un nombre important de cellules sécrétant de nombreux médiateurs pro-inflammatoires. Parmi les cellules intervenant dans la réaction inflammatoire des bronches, on note le groupe des cellules résidentes (cellules épithéliales bronchique, fibroblaste pulmonaire, cellules endothéliales et musculaires lisses) et le groupe des cellules inflammatoires (les mastocytes considérés comme chef d'orchestre, les éosinophiles, les lymphocytes, les monocytes, les neutrophiles) [Puxeddu *et al.* 2004]. En présence d'un allergène dans les voies bronchiques (asthme atopique : 70% des asthmatiques), un complexe allergène-IgE spécifique se fixe sur le récepteur FcεRI à la surface des mastocytes et provoque la dégranulation de ces cellules. Il s'en suit une libération des médiateurs mastocytaires (figure 1) tels que l'histamine provoquant une vasodilatation (et également chez l'asthmatique une broncho-constriction), des cytokines et chimiokines qui permettent l'infiltration de cellules inflammatoires, notamment les éosinophiles et les lymphocytes T helper 2 (Th2). Miller et Butcher (1998), dans un modèle *in vitro* sur monocouche de lignées épithéliales bronchiques humaines, ont expliqué le mécanisme de ce passage trans-endothélial. Les résultats montrent qu'en l'absence de toute stimulation (condition non pathologique) les cellules mononuclées notamment les monocytes, les lymphocytes B et T (surtout les T CD4+) traversent la couche de cellules épithéliales du pôle basal vers le pôle apical, et que ce phénomène est significativement majoré lorsque les cellules épithéliales ont été activées par une association d'INF-γ (Interferon gamma) et de TNFα (*Tumor necrosis factor α*). Les mastocytes activés libèrent du TNFα impliqué dans l'infiltration leucocytaire des bronches par activation de l'expression des molécules d'adhésion : sélectines, VCAM-1 : *Vascular cell adhesion molecule*, ICAM-1 : *Intercellular adhesion molecule* (Berger et de Lara 2007). Ils libèrent également l'IL-4, IL-13 responsables de la commutation isotypique des plasmocytes vers la synthèse des IgE et d'IL-5 qui active et attire les polynucléaires éosinophiles (Mamessier *et al.* 2005). En effet, IL-4 et IL-13 synthétisées et sécrétées par les mastocytes dirigent ainsi la réponse lymphocytaire dans un sens Th2. Les lymphocytes Th2 à leur tour produisent de l'IL-4, IL-5, IL-13 avec comme corollaire le recrutement d'autres lymphocytes et d'éosinophiles. Les éosinophiles contribuent à l'exacerbation de l'asthme par libération de protéinases, de cytokines inflammatoires (TNFα, IL-1, 3, 5),

de dérivés de l'acide arachidonique, de chimiokines (éotaxine, RANTES : *Regulated on activation normal T cell expressed and secreted*) et de radicaux libres (Tillie-Leblond *et al.* 2004, Prin 1996, Cottin 2008). Les éosinophiles interviennent dans l'hyperréactivité bronchique (Dusser 2000), induisent la desquamation des cellules épithéliales et donc jouent un rôle important dans la chronicité de l'asthme.

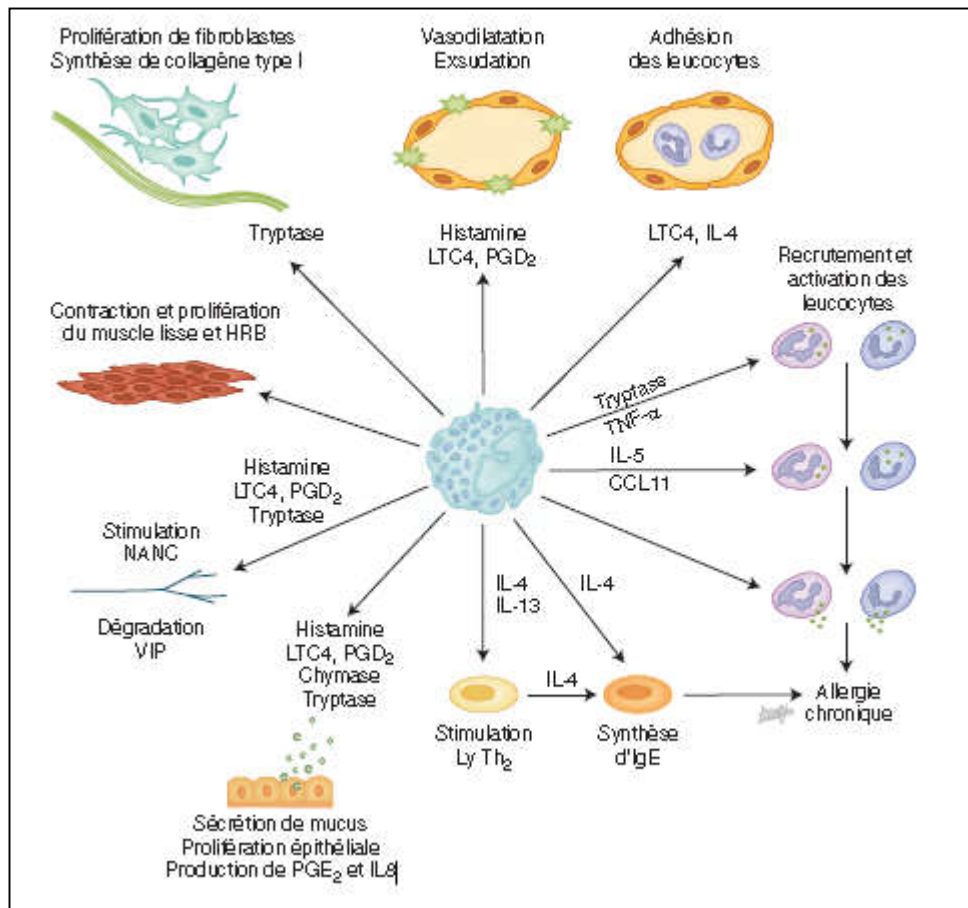


Figure 1: Rôle des médiateurs mastocytaires dans l'asthme.

Les effets des principaux médiateurs mastocytaires dans l'asthme sont représentés. CCL11 (éotaxine) : chemokine (C-C motif) ligand 11, HRB : hyperréactivité bronchique, IL : interleukine, LTC4 : Leucotriène C₄, Ly Th₂ : Lymphocyte Th₂, PG : Prostaglandine, VIP : vasointestinal peptide (**D'après Berger et de Lara 2007**).

II- Réparation tissulaire

L'épithélium de revêtement qu'il soit composé des cellules épithéliales bronchiques, des cellules épithéliales de la muqueuse gastrique ou des cellules épidermiques, a pour rôle de protéger l'organisme contre toutes atteintes exogènes. Ce rôle n'est effectif que lorsque l'intégrité de ces tissus est maintenue. La restauration de l'intégrité de ces tissus et le maintien de l'homéostasie suite à une blessure est primordiale et fondamentale pour tout l'organisme (Eming *et al.* 2009). La réparation tissulaire est un

processus complexe pouvant aboutir soit à la restauration intégrale du tissu initial soit à une cicatrice fibreuse (la structure initiale du tissu n'est pas restaurée). Elle comporte classiquement selon Strodbeck (2001) quatre étapes essentielles à savoir l'hémostase, l'inflammation, la prolifération cellulaire/réparation et le remodelage du tissu.

1- Phase d'hémostase

Suite à une agression ou traumatisme tissulaire, la blessure occasionne l'ouverture des capillaires sanguins. La rupture de l'endothélium et la mise à nu du sous-endothélium active les thrombocytes ou plaquettes sanguines qui expriment à leur surface de nombreuses molécules d'adhésion telles que les intégrines de la classe de β_2 , la superfamille des sélectines (E-selectine, P-selectine) (Ruggeri et Mendolicchio 2007, Kamath *et al.* 2001, Martin 1997). Ces molécules d'adhésion permettent l'agrégation plaquettaire qui aboutit à la formation de clou plaquettaire. Les thrombocytes activés vont alors libérer dans la zone de lésion les contenus des granules. Il y a alors transformation du fibrinogène en fibrine à la suite d'une cascade de réactions. La fibronectine plasmatique en s'associant à la fibrine stabilise le clou plaquettaire. Cette matrice provisoire constitue le point d'ancrage des polynucléaires neutrophiles, des monocytes/macrophages et des fibroblastes (Strodbeck 2001). Les thrombocytes activés libèrent également des facteurs chimiotactiques à l'instar des *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), du TGF- β qui vont permettre l'invasion ou le recrutement vers cette matrice des polynucléaires neutrophiles dans un premier temps suivi par les monocytes qui vont se différencier en macrophages (Eming *et al.* 2009). Il s'ensuit alors la phase inflammatoire.

2- Phase inflammatoire

La réaction inflammatoire est déclenchée par une variété de médiateurs libérés par les cellules des tissus lésés, les cellules de l'endothélium capillaire, les plaquettes activées et leurs cytokines, les sous-produits de l'hémostase, les mastocytes (Wilgus 2008). Les neutrophiles recrutés participent à l'élimination des microorganismes éventuels présents dans la plaie, activent les fibroblastes locaux et les cellules épithéliales (Greenhalgh 1998, Martin 1997). Bien que d'autres cellules du système immunitaire, dont les monocytes, les lymphocytes et les cellules plasmiques, migrent vers le site de la lésion, les neutrophiles sont prédominants pour les premières heures, puis disparaissent à moins que la plaie ne s'infecte. En présence de l'infection, l'infiltration

de neutrophiles se poursuit jusqu'à ce que l'infection soit contrôlée. En l'absence d'infection, les monocytes existants se différencient en macrophages pour devenir les cellules phagocytaires majeures. L'infiltration des macrophages prédomine pour le reste du processus de réparation tissulaire. Les macrophages phagocytent le reste de micro-organismes survivants ou tués par les neutrophiles, le caillot de fibrine, et autres débris cellulaires. Les macrophages synthétisent du monoxyde d'azote (NO) et sécrètent des cytokines. Le NO stimule l'angiogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaire (Witte et Barbul 2002, Schwentker *et al.* 2002). Comme les plaquettes, les macrophages synthétisent une variété de cytokines et de facteurs de croissance (IL-1, PDGF, TGF- β , EGF, FGF, IGF : *Insulin-like growth factor*) impliqués dans la migration, la prolifération, et l'organisation du nouveau tissu conjonctif dans les lits vasculaires au lieu de la lésion. Les macrophages synthétisent également des enzymes spéciales appelées matrice métalloprotéinase ou métalloprotéase (MMP) [Manuele *et al.* 2008]. L'une d'elle étudiée est la collagénase, qui joue un rôle phare dans la détersion des plaies et l'élaboration de nouveau tissu conjonctif. Un autre mécanisme important dans la phase inflammatoire est l'activation des substances vasoactives comme la sérotonine, la bradykinine, les prostaglandines et histamine. Ces substances augmentent la perméabilité de l'endothélium au site de la lésion et la vascularisation de la plaie (Strodtbeck 2001). Selon le même auteur l'augmentation de la perméabilité facilite l'infiltration des cellules de réparation, l'augmentation de la circulation sanguine et la disponibilité de l'oxygène. À la fin du stade inflammatoire de la cicatrisation des plaies, le saignement est contrôlé et le lit de la plaie est fermé. Cet environnement est idéal pour la prochaine étape de la prolifération cellulaire et de réparation.

3- Phase de prolifération et de réparation

C'est une phase caractérisée par la prolifération des fibroblastes, la synthèse de la matrice extracellulaire, l'angiogenèse, et la re-épithélialisation (Faler *et al.* 2006). Les fibroblastes activés prolifèrent et migrent dans la zone cicatricielle. Cette prolifération et migration est favorisée par l'expression de récepteurs de chimiokines à la surface de la membrane de ces fibroblastes. Tout ce processus est sous le contrôle des cytokines et les facteurs de croissance (Strodtbeck 2001). Les fibroblastes prolifèrent, synthétisent et remodelent une nouvelle matrice extracellulaire qui comporte une trame fibrillaire lâche en périphérie.

L'angiogenèse commence par la migration progressive des cellules endothéliales à partir des vaisseaux sains proche de la zone cicatricielle. Cette migration est sous le contrôle des facteurs de croissances tels que le bFGF, le VEGF ainsi que les différents composants de la matrice extracellulaire (Laminine, perlecan, collagène, thrombospondine etc...) (Sanchez-Fidalgo *et al.* 2004, Eming *et al.* 2007). Un néo-réseau vasculaire se développe progressivement. Le tissu de granulation est mis en place et comprenant des fibroblastes, des cellules inflammatoires résiduelles (monocytes, lymphocytes, polynucléaire), de la fibrine et des néo-vaisseaux dans une trame fibrillaire oedémateuse. Par la suite, dans le cas des plaies cutanées la contraction de la plaie va permettre le rapprochement des berges. Cette contraction est liée à la différenciation progressive des fibroblastes activés en myofibroblastes capables d'initier une contraction et de transmettre cette activité au tissu avoisinant par l'intermédiaire d'interactions complexes entre les protéines de la matrice extracellulaire et leur cytosquelette. Les myofibroblastes synthétisent des filaments d'actines et de myosine qui interagissent pour initier le phénomène contractile. Les cellules épithéliales vont alors migrer progressivement à partir des berges de la plaie. Les facteurs de croissance contrôlant cette phase d'épithélialisation sont l'EGF, le KGF (*kératinocyte growth factor*) et les TGF α et β produits par les fibroblastes eux-mêmes ou par les kératinocytes (Werner et Grose 2003, Chakir 2009). Lorsque la plaie est fermée par une monocouche de kératinocytes, la migration de ceux-ci s'arrête et ils se multiplient et se différencient. Une membrane basale se reconstitue progressivement.

4- Phase de remodelage

Phase finale de réparation tissulaire ou de cicatrisation, la phase de remodelage est caractérisée par la maturation du tissu de granulation et le remodelage de la matrice extracellulaire. A ce stade de la réparation, on observe une diminution progressive du tissu de granulation, l'élaboration d'une structure collagénique plus dense et l'organisation du réseau vasculaire. C'est une phase qui est aussi caractérisée par la différenciation importante des fibroblastes en myofibroblastes avec expression de l' α -actine du muscle lisse. L'actine interagit avec la myosine augmentant la résistance de la cicatrice (Faler 2006). Différentes métallo-protéinases ainsi qu'une série d'enzymes dégradant la matrice extracellulaire et leurs inhibiteurs interviennent dans les phénomènes de remodelage matriciel (Strodtbeck 2001). Ce phénomène est un équilibre entre les phénomènes cataboliques et anaboliques au niveau de la zone cicatricielle.

Le remodelage bronchique

Le processus de l'inflammation s'accompagne généralement de réparation tissulaire. Comme on l'a déjà souligné, la réparation tissulaire implique en général deux processus distincts. La régénération *ad integrum*, entraînant le remplacement des tissus lésés par les cellules de même type ou le remplacement du tissu conjonctif normal par un fibrogène pouvant entraîner des lésions tissulaires permanentes.

Les deux mécanismes sont en général associés à des degrés divers et l'inflammation chronique des voies aériennes dans l'asthme peut se poursuivre selon les deux types (Bousquet 1996). Le plus souvent, le remodelage des voies aériennes aboutit au changement irréversible de la structure anatomique des voies aériennes. Sur le plan histo-pathologique, le remodelage bronchique se caractérise par une desquamation de l'épithélium accompagnée d'une hyperplasie/hypertrophie du muscle lisse, une hypertrophie des cellules glandulaires associées à une hyper-sécrétion du mucus, un épaissement de la membrane basale accompagnée d'une fibrose sous épithéliale (Benayoun et Pretolani 2003, Tang *et al.* 2006). Plusieurs facteurs expliqueraient ce remodelage. Pour Tang *et al.* (2006) il serait dû à une répétition épisodique de l'inflammation allergique, à une réparation épithéliale défectueuse, à un stress mécanique.

En effet, l'inflammation allergique de type Th2 active et recrute dans les bronches un certain nombre de cellules pro-inflammatoires (Neutrophile, Mastocytes, éosinophile et lymphocytes) Ces cellules libèrent des médiateurs (cytokines et chimiokines, protéases) qui entretiennent l'inflammation. A titre d'exemple, les tryptases libérées par les mastocytes activés stimulent la prolifération des myocytes, la production du collagène de type I (Akers *et al.* 2000) ; IL-13 joue un rôle dans l'hyperplasie des cellules du gobelet, stimule et active l'expression du TGF β 1 et 2 un facteur de croissance reconnu comme profibrogène (Chu *et al.* 2004, Walter *et al.* 2001, Elias *et al.* 2003). La persistance des éosinophiles dans les voies bronchiques induit la desquamation régulière des cellules épithéliales. Ils produisent également des cytokines (TGF β , IL4, IL13, VEGF, FGF) jouant un rôle dans le remodelage.

Par ailleurs l'épithélium des voies aériennes est constitué de plus de 10 types de cellules résidentes ainsi que de nombreux leucocytes migrants. Il est maintenant reconnu que ces cellules de l'épithélium sont activement impliquées dans la régulation de la structure des voies aériennes. Il existe une communication privilégiée entre les cellules épithéliales et mésenchymateuses connue sous le concept « epithelial

mesenchymal trophic unit » (EMTU) ou unité fonctionnelle épithélium-mésenchyme qui pendant la vie embryonnaire préside au développement de l'arbre respiratoire mais aussi au remodelage bronchique dans les cas pathologiques. Il a été proposé que le remodelage des voies aériennes dans l'asthme résulte d'un défaut primaire de la réparation épithéliale.

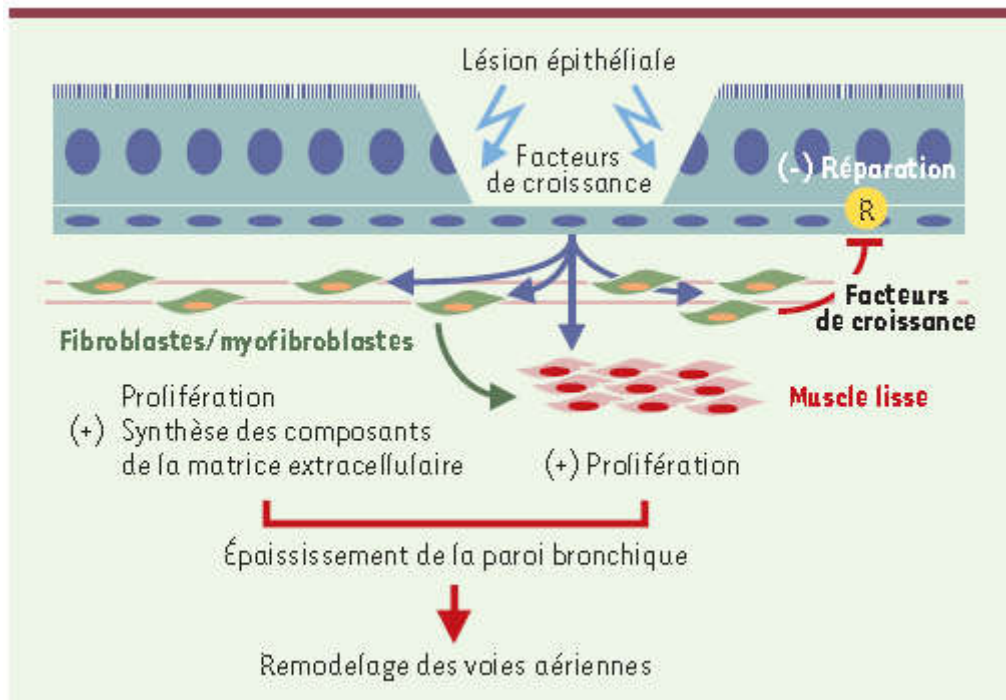


Figure 2 : Hypothèses concernant le rôle des relations épithélium/mésenchyme dans le remodelage des voies aériennes dans l'asthme.

La persistance des lésions épithéliales pourrait résulter d'une réactivation de l'unité fonctionnelle épithélium-mésenchyme, comme cela a été observé lors des remaniements structuraux au cours de la morphogenèse bronchique. Ce phénomène se traduirait par la libération, par l'épithélium, de facteurs de croissance qui, en activant et en induisant la prolifération des cellules mésenchymateuses, contribueraient au maintien de la fibrose sous-épithéliale. Ces mêmes molécules agissent sur les cellules musculaires lisses en favorisant leur prolifération et en augmentant ainsi la masse musculaire. Il en résulte un épaississement global des voies aériennes conduisant à un rétrécissement de la lumière bronchique, source d'anomalies fonctionnelles respiratoires. Les fibroblastes et les myofibroblastes sécrètent également des facteurs de croissance responsables de la migration et de la prolifération des cellules épithéliales. Des anomalies de l'expression et/ou de la fonction de ces facteurs et de leurs récepteurs favoriseraient la persistance des lésions épithéliales, en empêchant le déroulement normal du processus de réparation. R: récepteur (d'après Benayoun *et al.* 2003).

Les épisodes répétés de lésion de l'épithélium des voies aériennes due à l'inflammation peut entraîner une activation prolongée de l'EMTU qui entraîne à son tour le remodelage tissulaire (figure 2). Dans les voies aériennes asthmatiques, on note une stimulation de l'expression de l'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) par les cellules épithéliales. Toutefois, cette expression de l'EGFR accrue ne donne pas lieu à la réparation épithéliale appropriée. En conséquence, les processus de réparation

secondaire sont initiés et conduisent à une augmentation des dépôts de protéines de la matrice extracellulaire. Par exemple, les cellules épithéliales activées sécrètent les facteurs de croissance tels que le TGF β 1, TGF β 2, bFGF, EGF, endothéline, IGF qui favorisent la prolifération des myofibroblastes et accroissent la production de protéines de la matrice. On note alors une prolifération de la matrice extracellulaire au profit des cellules épithéliales qui doivent normalement migrer pour fermer la plaie. D'autres part un défaut d'élimination des éosinophiles expliquerait un déséquilibre entre le processus de prolifération et d'apoptose qui est à la base du remodelage bronchique (figure 3).

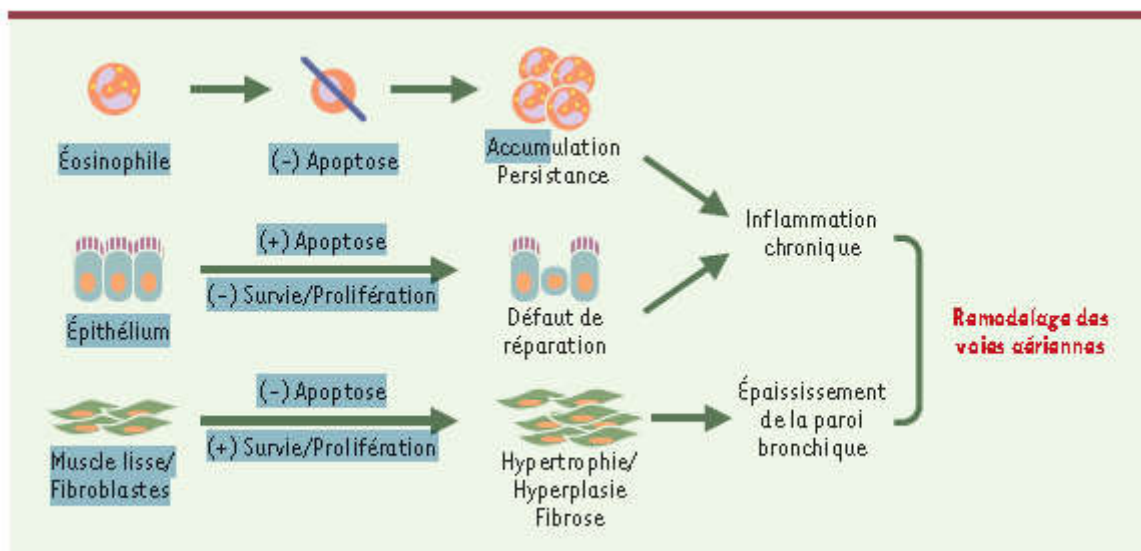


Figure 3 : Conséquences possibles d'un dérèglement de l'équilibre survie-prolifération/apoptose dans la pathogénie du remodelage bronchique.

Un défaut d'élimination des éosinophiles par apoptose pourrait rendre compte de leur accumulation incontrôlée et de leur persistance dans les voies aériennes, ce qui contribuerait au maintien de l'inflammation chronique et des lésions tissulaires. En revanche, une apoptose accrue, associée à un déficit de prolifération des cellules épithéliales bronchiques, pourrait être à l'origine d'un défaut de réparation épithéliale qui perpétuerait le contact entre les allergènes transportés par voie aérienne et les structures sous-épithéliales, et entretenirait ainsi l'inflammation et les lésions tissulaires. Enfin, une prolifération exagérée et un déficit d'apoptose des fibroblastes et des cellules musculaires lisses pourraient respectivement favoriser le développement d'une fibrose sous-épithéliale et d'une hyperplasie musculaire. (d'après Benayoun *et al.* 2003)

5- La cicatrisation des ulcères gastroduodénaux

L'ulcère gastroduodéal est une lésion nécrotique profonde, endommageant toute l'épaisseur de la muqueuse gastro-intestinale et atteignant parfois la musculaire muqueuse. La cicatrisation des plaies de l'ulcère est un processus complexe et étroitement réglementé consistant à restaurer l'intégrité de la structure muqueuse

(rétablissement de la surface continue de la couche épithéliale, de l'épithélium glandulaire, des micro-vaisseaux et du tissu conjonctif) via la prolifération, la migration des cellules épithéliales et du tissu conjonctif. La cicatrisation des plaies ulcéreuses se déroule en différentes étapes notamment la formation du tissu granuleux, l'angiogenèse et la régénération de l'épithélium endothéliale. En effet, la désorganisation de la structure muqueuse ajoutée à celle des microvaisseaux et des cellules endothéliales stimule la migration des polymorphonucléaires et des macrophages attirés par une variété de signaux libérés par les plaquettes sanguines et les produits de dégradation de la fibrine vers le site de lésion. Les polynucléaires phagocytent les tissus lésés et libèrent des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL1 α et IL1 β) qui activent les fibroblastes, les cellules endothéliales et épithéliales. Il s'ensuit une accumulation des macrophages qui éliminent les débris cellulaires et activent la libération des facteurs de croissance, tels que le *transforming growth factor* (TGF α et β), le facteur de croissance épidermique (EGF), le *basic fibroblast growth factor* (bFGF), les peptides en trèfle (trefoil TP), le *platelet derived growth factor* (PDGF) et le facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF) (Takahashi et al. 1999, Tarnawski et al. 2001, Bao et al. 2009, Szabo et Vincze 2000). Le tissu granuleux est alors formé à partir de la prolifération des fibroblastes, de macrophage et de cellules endothéliales. Les cellules épithéliales muqueuses de la marge de l'ulcère prolifèrent et migrent sur le tissu granuleux pour recouvrir la surface ulcérée (ré-épithélialisation). Il est évident qu'à ce niveau il y a accumulation sur le site de lésion des PGs/COX-2, du NO/iNOS, IL-1, de cytokine-induced chemottractants (CINCs) et des facteurs de croissance hépatiques (HGF) tous contribuant à la guérison de la plaie. Takahashi et al. (2001) ont montré que le facteur de transcription NF- κ B (Nuclear Factor kappa-B) est activé au début de la lésion et joue un rôle important dans la guérison des plaies ulcéreuses. En effet, NF- κ B se trouve dans la plupart des cellules sous forme inactif dans le cytoplasme couplé à I- κ B. En réponse aux stimuli inflammatoires ou mitogènes, il y a phosphorylation de I- κ B et dissociation d'avec NF- κ B activé. Selon les mêmes auteurs l'activation de NF- κ B provoque l'expression de CINC-1(*cytokine-induced chemottractants*), de COX-2 et iNOS qui sont des facteurs de promotion de la guérison des plaies. Le CINC-1 sert de facteur chimioattractant permettant la migration au site de la lésion gastrique des neutrophiles qui éliminent les cellules blessées, les débris cellulaires et les protéines de la matrice extra-cellulaire dans le tissu en régénération. Le iNOS catalyse la synthèse de NO qui augmente le flot sanguin et stimule

l'angiogenèse. La COX-2 catalyse la synthèse de PGs, stimule la régénération des cellules épithéliales, la maturation du tissu basal et l'angiogenèse.

III- Physiopathologie de l'ulcère gastroduodénal

1- Définition

L'ulcère du tractus digestif (ulcère gastrique et duodénal) est une affection chronique caractérisée anatomiquement par une perte de substances plus ou moins profonde de la muqueuse gastrique ou de la première partie du duodénum. Il est caractérisé cliniquement par des douleurs épigastriques survenant quelques heures après le repas. Il résulte d'un déséquilibre, en un point précis de la muqueuse, entre facteurs d'agression (sécrétion acide et de pepsinogène) et des facteurs de défense (sécrétion de PGs, de mucus; capacité de la muqueuse à s'opposer à la rétrodiffusion des ions H^+ ; vascularisation de la muqueuse et l'intégrité de l'épithélium de surface). Il est généralement admis que dans l'ulcère duodénal le facteur prédominant est l'agression chlorhydro-peptique alors que dans l'ulcère gastrique c'est l'altération de la muqueuse gastrique. Ce déséquilibre résulte de l'intrication de plusieurs facteurs considérés comme facteurs de risque dans la survenue des ulcères gastroduodénaux.

2- Facteurs de risques

2.1- Infection à *Helicobacter pylori*

H. pylori est une bactérie gram négatif originellement appelé *Campilobacter pylori*. Elle est découverte pour la première fois dans le tube gastrique de l'homme par Warren et Marshall en 1982 (Brown 2000). Elle résiste à l'acidité gastrique grâce à son activité uréasique. Cette enzyme hydrolyse l'urée présente dans l'environnement gastrique, pour aboutir à une libération de dioxyde de carbone et d'ammoniac. L'ammoniac ainsi produit va neutraliser l'acide gastrique dans la proximité immédiate de la bactérie afin de favoriser la survie de cette dernière dans le milieu acide de l'estomac. L'uréase est un déterminant essentiel à la survie de la bactérie, des souches de *H. pylori* dépourvues de protéines structurales ou auxiliaires étant incapables de résister à des pH acides ou de coloniser l'estomac (Salles 2007). *H. pylori* stabilise ainsi le pH de son environnement gastrique (Henriksnäs et al. 2009). Elle colonise la surface de la muqueuse gastrique, principalement antrale. L'infection à *H. pylori* est contractée le plus souvent dans l'enfance par voie orale ou oro-fécale. Sa prévalence varie en

fonction des continents et dans le même continent en fonction des races, et de répartition géographique (Segal *et al.* 2001). Selon les mêmes auteurs, elle affecte la majorité des individus dans les pays en voie de développement. Ainsi dans les pays du sud, plus de 50% des enfants sont infectés avant l'âge de 10 ans et plus de 80% avant l'âge adulte en revanche moins de 1% d'enfants sont atteints, dans les pays développés. Sa prévalence dans les pays développés a régulièrement diminué au cours des dernières décennies en raison de l'amélioration des conditions d'hygiène. Cela explique dans ces pays, la faible prévalence de l'infection dans les générations les plus jeunes alors qu'elle atteint encore 50 % chez les sujets de plus de 60 ans. L'infection se traduit par une gastrite aiguë évoluant vers la chronicité dans la majorité des cas. La gastrite liée à *H. pylori* peut se compliquer d'un ulcère gastrique ou d'un ulcère duodénal. Les autres complications plus rares sont l'adénocarcinome gastrique et le lymphome. Le plus souvent, la gastrite ne se complique pas.

H. pylori est - il un agent causal de l'ulcère ? La réponse est controversée car deux thèses contradictoires s'affrontent. Pour les premiers (Ford et Talley 2009), *H. pylori* cause l'ulcère car dans plus de 75 % à 90 % de cas d'ulcères la biopsie gastrique révèle la présence de gastrite antrale ou du corps de l'estomac induit par la présence bactérienne dans le tube gastrique. Son éradication fait chuter la prévalence des ulcères gastroduodénaux dans les pays développés. En outre les travaux d'Ohkusa *et al.* (2003) ont montré que l'infection de la gerbille mongolienne par *H. pylori* virulent (expression des gènes CagA et VacA) induit chez le rongeur douze semaines plus tard une profonde lésion érosive de la muqueuse gastrique antrale. Pour l'équipe de Hobsley l'association de la bactérie et l'ulcère gastroduodénal n'explique pas que la bactérie soit l'agent causal de la maladie. En effet, selon Hosbley *et al.* (2009) *H. pylori* au lieu d'induire les ulcères empêche plutôt la cicatrisation des plaies ulcéreuses. Le traitement anti-sécrétoire favorise la réinfection car l'acidité gastrique constitue le premier obstacle qu'affronte la bactérie lors de l'infection. Dans leur argumentation, si la bactérie est l'agent causal, l'inégale répartition des zones de forte prévalence à l'infection de part le monde, la différence existant entre la prévalence de la maladie et celle de l'infection à *H. pylori* en Afrique reste sans explication. En effet la prévalence de la maladie en Afrique est estimée à 24,5% alors que celle de l'infection varie de 70 à 90%. De plus la moitié des malades souffrant d'une perforation de tube gastrique suite à un ulcère gastroduodénal ne sont pas infectés par *H. pylori*. L'éradication de *H. pylori* ne signifie pas nécessairement chez le patient ulcéreux la disparition des symptômes

ulcéreux. En outre dans 20% des cas, on observe la récidivité de la maladie chez des patients dont l'éradication de la bactérie est totale et définitive (Brian 2005).

De toute évidence même si *H. pylori* n'est pas l'agent causal de l'ulcère gastroduodénal il intervient dans l'inhibition de sa cicatrisation. En effet il est clairement établi qu'il existe deux grandes souches de cette bactérie nommée type I et II (Sharara *et al.* 2006). Le type I virulent, est pour la plupart associé à des ulcères chroniques (Mahachai *et al.* 1999, Rudi *et al.* 1999). Il exprime à la fois le *cytotoxin associated gene A* (CagA) et le *vacuolating cytotoxin gene A* (VacA). Le type II n'exprime ni l'un ni l'autre. Il existe des souches intermédiaires qui expriment soit uniquement le CagA soit le VacA. L'expression de CagA induit l'apoptose précoce par cytotoxicité des cellules épithéliales liée à l'activité radicalaire de la bactérie et l'expression de VacA inhibe l'angiogenèse.

2.2- Ulcère gastroduodénal dû aux AINS

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent le deuxième facteur de risque important dans la survenue de l'ulcère gastroduodénal. La gastrototoxicité de ces drogues provienne de leurs propriétés inhibitrices des cyclooxygénases (COX) 1 et 2 (figure 4). La COX-1, enzyme constitutive, qui s'exprime dans presque tous les tissus normaux. La COX-2, enzyme inductible, s'exprime faiblement dans les tissus normaux mais elle est fortement induite par les médiateurs pro-inflammatoires dans le cadre de l'inflammation, des blessures et de la douleur (Radi et Khan 2006). Selon Takeuchi *et al.* (2004), la synthèse de PGE₂ catalysée par la COX-1 dans le tube gastrique au cours des conditions non pathologiques inhibe par rétrocontrôle négatif l'expression de COX-2. La COX-1 comme la COX-2 transforme l'acide arachidonique en prostaglandines. En effet, l'inhibition de la synthèse de prostaglandines gastro-duodénales par les AINS altère les mécanismes de défense de la muqueuse et favorise la survenue d'ulcères et de complications ulcéreuses, plus souvent gastriques que duodénaux. Les AINS sélectifs (coxibs) qui inhibent la COX-2 en préservant l'activité de COX-1 réduisent le risque de complications ulcéreuses sans le supprimer (Malfertheiner *et al.* 2009). Les travaux réalisés en utilisant des modèles animaux ont montré que l'effet ulcérogène des AINS passe aussi par l'adhésion des neutrophiles aux microvaisseaux de la paroi gastrique. Cette adhésion des neutrophiles induit des lésions de la muqueuse par libération des radicaux libres, des protéases et l'obstruction des capillaires empêchant ainsi le flow sanguin.

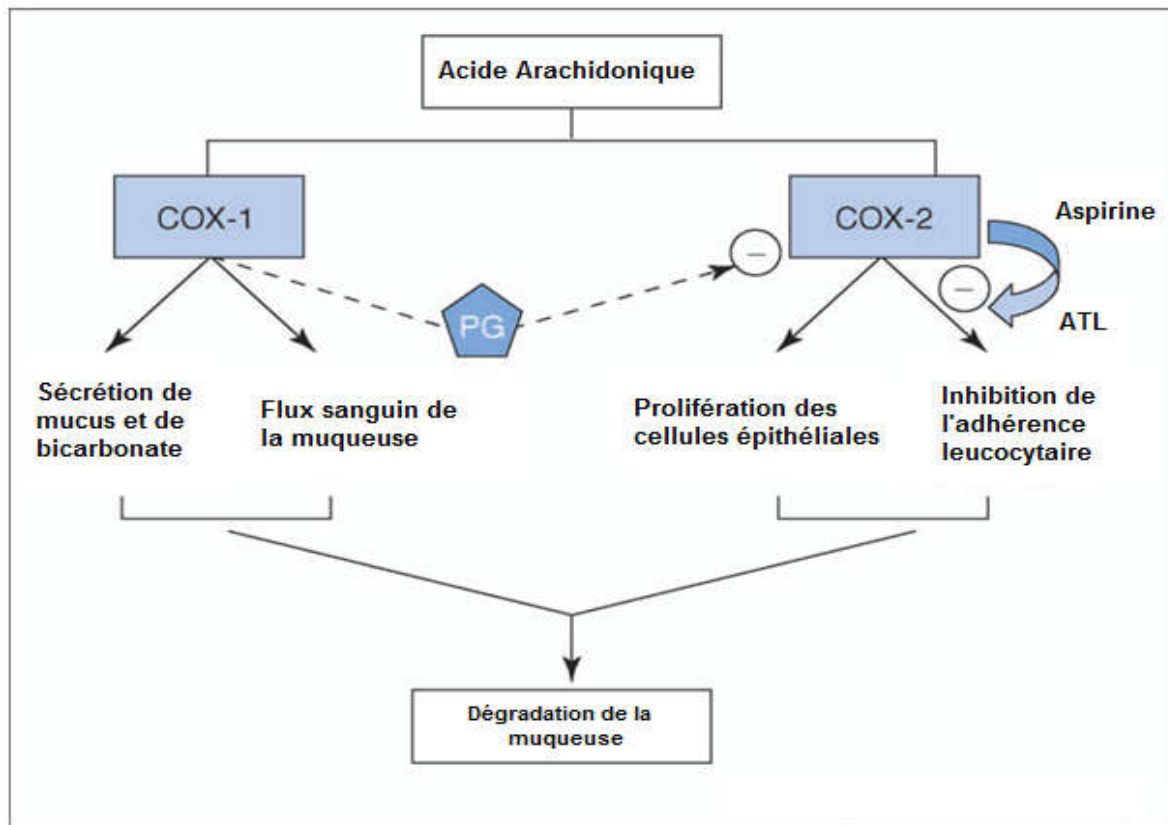


Figure 4: Rôles de la COX-1 et la COX-2 dans la défense de la muqueuse gastrique.

Les PGs (prostaglandines) sont synthétisées à partir de l'acide arachidonique sous l'action des COX-1 et COX-2 qui contribuent à la défense des muqueuses de façons distinctes. Les PGs dérivées de la COX-1 stimule la sécrétion du mucus, du bicarbonate et le flux sanguin dans la muqueuse, ceux de la COX-2 jouent un rôle dans la régulation de la prolifération de cellules épithéliales et l'adhésion des leucocytes-endothéliaux. Les PGs dérivées de la COX-1 semble inhiber l'expression, et éventuellement l'activité, de la COX-2. L'inhibition des COX-1 et COX-2 est nécessaire pour que les lésions gastriques surviennent chez les animaux sains. Lorsque la COX-2 est acétylée par l'aspirine, elle produit ATL (Aspirin-triggered lipoxin), qui peut inhiber l'adhésion leucocytaire-endothéliales et contrecarrer ainsi les effets pro-adhésifs de l'aspirine. Ce faisant, ATL (*aspirin-triggered lipoxin*) limite l'étendue des lésions gastriques qui autrement seraient causées par l'aspirine. En effet, quand un inhibiteur de la COX-2 est administré avec de l'aspirine, la formation de ATL est inhibée et beaucoup plus les niveaux de lésions gastriques sont observés (d'après Wallace, 2004).

La suppression de l'adhésion leucocytaire atténue l'effet ulcérogène des AINS dans le modèle animal. Il est aussi clairement établi que les COX-2 interviennent dans la défense de la muqueuse gastrique. En présence de l'Aspirine, la COX-2 est acétylée au niveau de la sérine (en position 532) site catalytique de l'enzyme. Cette acétylation par l'aspirine conduit au blocage du site et par conséquent la COX-2 ne peut plus métaboliser l'acide arachidonique en prostaglandine H_2 (PGH_2). Cependant, la COX-2 acétylée est toujours en mesure de convertir l'acide arachidonique en acide 15-hydroxyeicosatetraénoïque (15-RHETE), qui peut être ensuite métabolisé par la 5-lipoxygénase en 15(R)-epi-lipoxine A_4 encore nommé *aspirin-triggered lipoxin* [ATL]

(Birnbbaum *et al.* 2007). La lipoxine est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoire et gastroprotectrice (Wallace *et al.* 2005).

2.3- Syndrome de Zollinger-Ellison

La survenue d'ulcère gastroduodénal est aussi favorisé par le syndrome de Zollinger Ellison (Harris et Misiewicz 2001). C'est un ulcère exceptionnel. Il est lié à une hypersécrétion d'acide induite par une sécrétion tumorale de gastrine (gastrinome).

2.4- Autres facteurs

Le tabagisme et le facteur génétique interviennent comme cofacteurs.

3- La gastroprotection

Le tractus gastro-intestinal est un environnement dynamique ayant comme rôle primaire de servir de voies de transit pour les nutriments destinés aux besoins alimentaires de l'organisme. Inhérent à ce premier rôle, le tractus gastrique est le siège de nombreuses attaques (microbes, toxines, agents nécrosant etc....) conduisant à des inflammations chroniques si le système de protection gastrique s'affaiblit.

Les ulcères gastriques, maladies inflammatoires, sont dus à un déséquilibre entre les facteurs de protection à savoir la sécrétion du mucus, l'intégrité de l'épithélium gastrique et sa capacité à s'opposer à la rétrodiffusion des ions H^+ et les facteurs d'agression notamment la sécrétion acide et de pepsinogène. L'infection aux *Helicobacter pylori* à l'origine des gastrites ulcéreuses, les déficiences nutritionnelles ou la prise de caféine ou d'alcool, le tabagisme et la prise prolongée d'anti-inflammatoires non stéroïdiens dans le traitement des maladies inflammatoires sont les causes qui expliquent la survenue des ulcères gastriques. Dans les conditions physiologiques normales la paroi gastrique développe des mécanismes pour pallier à la nécrose de l'épithélium gastrique.

3.1- Définition

La gastroprotection est l'ensemble des processus préservant l'intégrité de l'épithélium gastrique et sa capacité à s'opposer aux facteurs agressifs nécrosant la muqueuse gastrique. Selon Bi et Kaunitz (2003) les mécanismes de gastroprotection peuvent être subdivisés en mécanisme de défenses pré-épithéliale, épithéliale et sub-épithéliale. L'harmonie fonctionnelle de l'épithélium gastrique suggère que cette

subdivision n'est qu'arbitraire. Ces mécanismes de gastroprotection sont extrêmement importants pour la santé humaine car les dommages causés par la sécrétion acide de l'estomac constituent un facteur non négligeable dans la survenue et la persistance des ulcères. La gastroprotection implique des processus qui englobent les mécanismes de défenses locale, hormonale et nerveuse (Mitchell *et al.* 2008).

3.2- Histologie du tissu gastrique

La paroi de l'estomac est formée de quatre tuniques. De la lumière gastrique vers l'extérieur on a : la muqueuse (constituée de l'épithélium de surface, de lamina propria et de la muscularis mucosae), la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse. Sur le plan topographique, l'estomac est arbitrairement subdivisé en trois régions (El-Zimaity 2007). Le cardia est proximal à l'œsophage, suivi du corps de l'estomac ou le fundus et l'antra pylorique qui est la zone distale (figure 5). Selon la classification fonctionnelle, l'épithélium gastrique présentent deux types de glandes : les glandes oxyntiques et les glandes pyloriques (Schubert et Peura 2008). Selon les mêmes auteurs, les glandes oxyntiques recouvrent le corps gastrique ou le fundus et les glandes pyloriques recouvrent l'antra et le pylore (figure 6). Ainsi la surface épithéliale gastrique présente des différences cytologiques. La surface épithéliale du fundus est constitué de cellules pariétales ou oxyntiques sécrétant le HCl et les facteurs intrinsèques (petite glycoprotéine indispensable à l'absorption de vitamine B-12), de cellules principales sécrétant le pepsinogène et des cellules endocrines sécrétant des hormones à activité paracrine (Les cellules G sécrétant la gastrine, les cellules ECL qui sécrète l'histamine et les cellules D sécrétant la somatostatine) (Dockray 1999). La partie antrale de l'estomac ne renferme pas de cellules principale et pariétale mais contient des cellules D et G (El- Zimaity 2007).

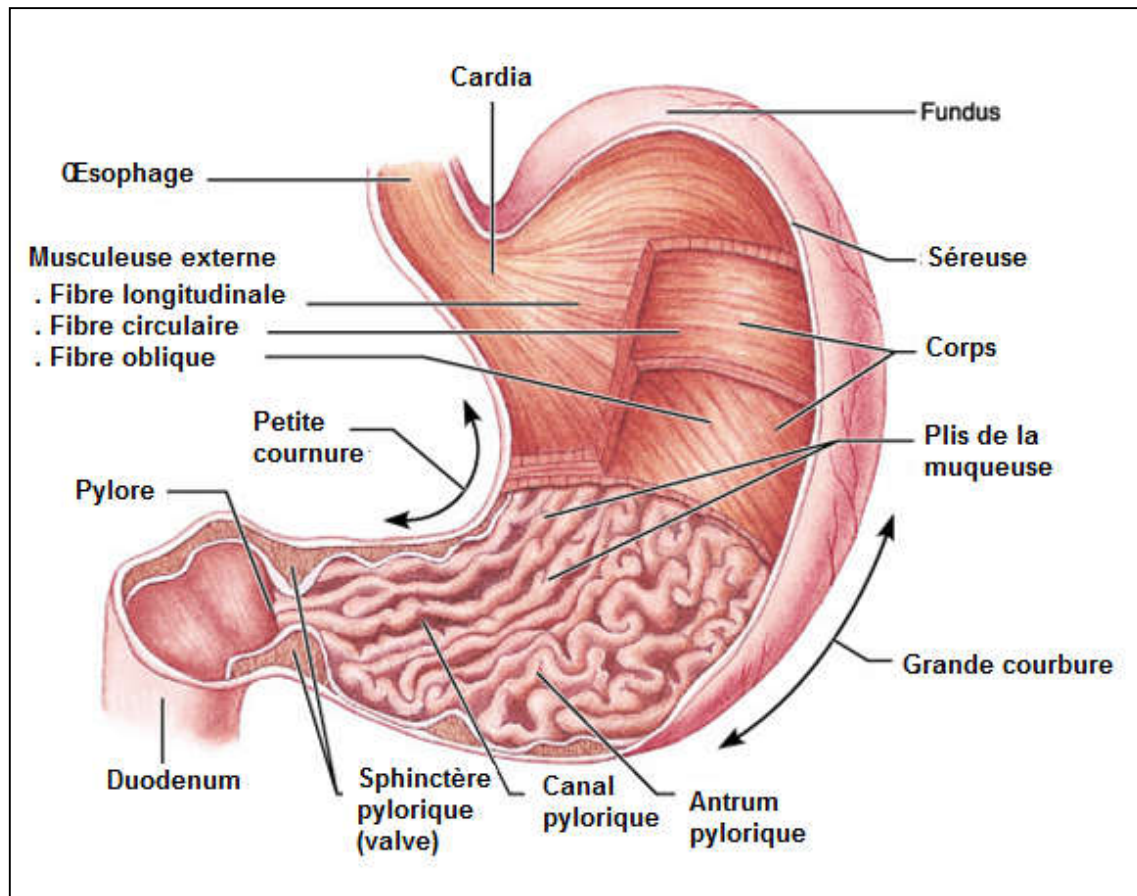


Figure 5 : Coupe longitudinale de l'estomac.

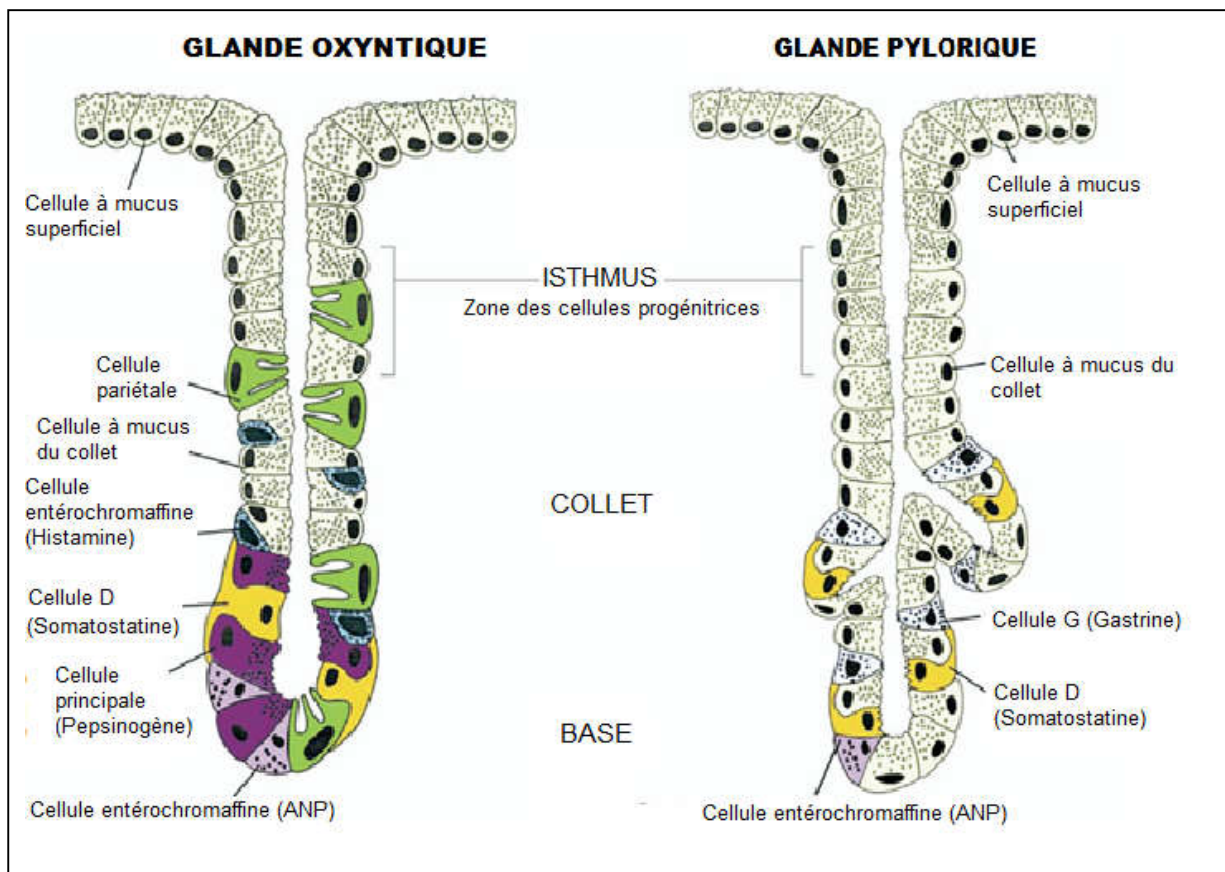


Fig 6: Anatomie fonctionnelle de la muqueuse gastrique
(d'après Schubert et Peura 2008)

3.3- Epithélium gastrique

L'épithélium gastrique est un tissu cylindrique et monostratifié, formé d'une seule couche cellulaire. Il est organisé en plis et invagination (crypte) formant un tissu à structure prismatique qualifiée de dents de brosse. La surface épithéliale gastrique présente une surface recouverte de mucus, de bicarbonate, de phospholipide, de protéine de choc thermique et de peptides en feuille de trèfle (*Trefoil Factor Family*). A cause de la présence des phospholipides, les cellules de l'épithélium gastrique sont hydrophobes et empêchent la rétrodiffusion de l'acide et des agents nécrosant hydrosolubles. Tout ce qui passe la barrière de la muqueuse produit une inflammation du tissu sous-jacent, aboutissant à une affection appelée gastrite. Ainsi une érosion persistante de la paroi de l'estomac peut provoquer des ulcères gastriques (Pocock et Richards 2004).

La surface des cellules épithéliales est électriquement et métaboliquement couplée à des jonctions gaps. Ces jonctions gaps jouent un rôle important dans la protection de

la muqueuse gastrique. Les protéines de choc thermique sont générées par les cellules épithéliales via ces jonctions en réponse à des stress tel que l'augmentation de température, du stress oxydatif, des agents cytotoxiques. Ces protéines de choc thermique luttent ainsi contre la dénaturation des protéines cellulaires et donc contre la mort cellulaire par stress. Les protéines en feuilles de trèfle interviennent également dans l'intégrité de l'épithélium gastrique. Elles interagissent avec la mucine pour stabiliser le gel du mucus. Elles stimulent également la migration des cellules progénitrices donc joue un rôle important dans le processus de cicatrisation des ulcères gastriques (Koike *et al.* 2007)

L'épithélium gastrique, à part les cellules glandulaires, est formé de cellules épithéliales de revêtement développant des jonctions intercellulaires spécifiques à l'instar des jonctions serrées (*tight junction*), des desmosomes, des interdigitations et des jonctions gaps. Il s'agit des cellules M (figure 7) ou cellule à micro plis (*Microfold cell*), des dendrocytes, des lymphocytes intraépithéliales, des cellules mucosécrétrices caliciformes ou cellules à gobelet (*goblet cell*), des entérocytes (Yu et Qian 2009). Les jonctions serrées développées par ces cellules constituent la première barrière à franchir par les substances nécosantes dans la protection de la muqueuse gastrique. Ces cellules synthétisent au niveau de leurs jonctions serrées des molécules de liaison telles que le β -catenin, E-cadhérine renforçant les liaisons intercellulaires en les rendant plus solides. Ces jonctions serrées empêchent également la diffusion des substances nocives, des microorganismes à travers l'épithélium. Les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique sont dans un état d'accroissement dynamique, de migration et de desquamation (déperdition de cellules). En effet, les cellules de l'épithélium gastrique possèdent une capacité de renouvellement très élevées. Dans les conditions physiologiques, chaque 4 à 7 jours, les cellules épithéliales se renouvellent c'est-à-dire les cellules âgées ou endommagées sont enlevées et remplacées par de nouvelles cellules à partir de cellules souches indifférenciées qui migrent à partir du col des glandes gastriques dans la région de l'isthme. En effet, une cellule souche de l'isthme subit plusieurs divisions pour donner un amas de cellules progénitrices qui vont se différencier en différents types de cellules épithéliales adultes.

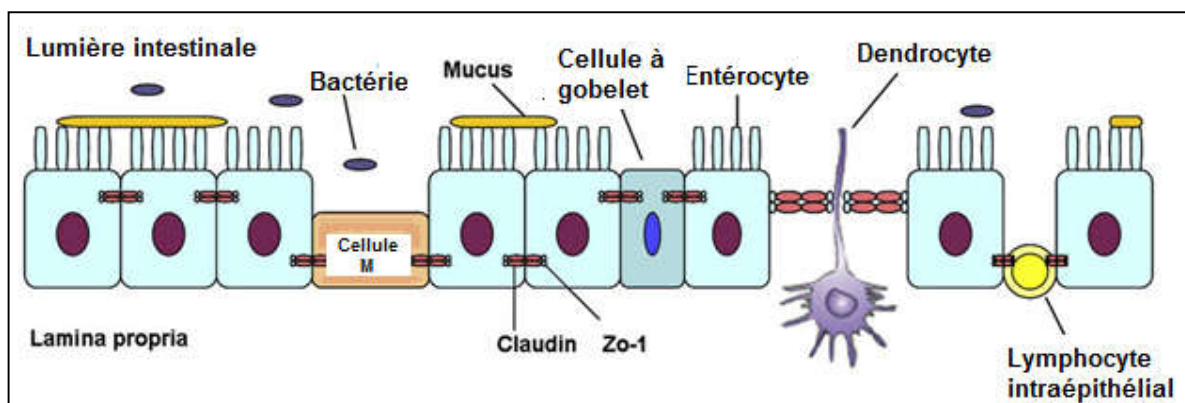


Figure 7: Les cellules de l'épithélium gastrique

L'épithélium gastrointestinal renferme les entérocytes, les lymphocytes intraépithéliaux, les cellules à gobelet, les cellules à micro plis, les dendrocytes. Elles servent à une barrière entre les contenus de la lumière du tube gastrique et les tissus sous jacent de ce dernier. Ces différentes cellules épithéliales expriment des jonctions complexes protéiniques, des jonctions serrées avec les cellules adjacentes. Toutefois les jonctions serrées sont variables selon les différentes cellules épithéliales (d'après Yu et Qian 2009).

Ce renouvellement régulier des cellules âgées et/ou endommagées renforce l'intégrité de l'épithélium gastrique. Ainsi lorsque l'épithélium gastrique subit une lésion, le renouvellement des cellules endommagées se fait rapidement par la migration des cellules progénitrices. Cette rapide migration des cellules mères est indépendante de la prolifération des cellules souches, prolifération qui se réaliserait après plusieurs heures. La prolifération des cellules souches est sous la dépendance de facteur de croissance. Les récepteurs des facteurs de croissance épidermiques (Epidermal Growth Factor-Receptor : EGF-R) sont prioritairement exprimés dans les cellules mères des cellules épithéliales. Le Transforming Growth Factor alpha (TGF- α) est le facteur mitogénique importants exprimé dans les cellules souches. Les EGF-R activent les TGF- α et les Insulin-like growth Factor (Tétreault *et al.* 2005). La fixation de PGE2 ou de gastrine sur les récepteurs aux EGF provoque une trans-activation du récepteur et à son tour stimule la synthèse de ces facteurs de croissance (Slice *et al.* 2003, Guo *et al.* 2002).

3.4- Le mucus gastrique

Le mucus gastrique est un gel transparent, visqueux, élastique formé de l'eau et de glycoprotéines principalement la mucine (Hiruma-Lima *et al.* 2006). La mucine, importante composante du mucus est une glycoprotéine de poids moléculaire élevé synthétisée par les cellules épithéliales de la muqueuse. Elle est caractérisée par un nombre variable de séquences peptidiques riche en sérine, thréonine et proline ayant des liaisons en position ortho avec les chaînes d'oligosaccharides. Dans les conditions

physiologiques normales, les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique expriment la mucine MUC1, MUC5AC et MUC6 (Vilkin *et al.* 2008). Le mucus est produit par les cellules à mucus superficiel et les cellules à mucus du collet. Les glandes pyloriques ne contiennent que peu de cellules peptiques et pas de cellules pariétales mais surtout les glandes à mucus responsable de la sécrétion du mucus. On nomme mucus visible la couche extracellulaire de 1 à 1,5 mm d'épaisseur qui tapisse toute la muqueuse gastrique. Ce mucus est en partie précipité par l'HCl et il forme des filaments (un gel) muqueux. Le mucus contenu dans les cellules épithéliales de surface est qualifié de mucus invisible. Le mucus visible forme une double barrière de protection. Sa suppression diminue la résistance aux stress chimiques, thermiques, mécaniques. Cette barrière évite un contact direct entre les cellules de l'estomac et le suc gastrique (HCl et pepsine). Le pH à la surface de la barrière est de 1,5 alors qu'il est de 7 en zone profonde au contact des cellules. Les cellules à mucus produisent également des ions bicarbonates (HCO_3^-) qui neutralisent localement les ions H^+ . La sécrétion du mucus est stimulée par les prostaglandines surtout les PGE2 (figure 8) et le monoxyde d'azote (Wang *et al.* 2005).

Les prostaglandines sont un groupe d'hormones autacoïdes dont la synthèse provient de l'acide arachidonique. Le précurseur est constitué de phospholipide membranaire. Sous l'action des phospholipases A_2 les acides arachidoniques contenus dans ces phospholipides membranaires sont libérés et serviront de précurseur à la synthèse des prostaglandines (figure 8). L'acide arachidonique peut alors être oxydé soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer) conduisant à la formation des leucotriènes soit par les cyclooxygénases donnant les endoperoxydes qui seront à l'origine des prostaglandines. La conversion de l'acide arachidonique par les cyclooxygénases aboutit premièrement à la synthèse de l'endoperoxyde PGG_2 qui se transforme sous l'action de peroxydase en PGH_2 (Martel-Pelletier *et al.* 2004). Enfin sous l'action des prostaglandines synthases spécifiques, la PGH_2 est transformée en thromboxane (TXA_2), prostaglandines (PGF_2 , PGD_2 , PGE_2), ou prostacycline (PGI_2). La biosynthèse des prostaglandines et des thromboxanes à partir des PGH_2 ne se fait pas d'une manière identique dans tous les tissus. Ainsi la synthèse des thromboxanes sous l'influence de la thromboxane synthase, prédomine dans les plaquettes sanguines et macrophage, celle des prostacyclines prédomine dans les cellules endothéliales, les PGF sont synthétisées dans l'utérus, deux isoformes de PGD synthase sont découvertes dans le cerveau et les mastocytes.

Toutes les cellules de l'épithélium gastrique synthétisent les PGs surtout les PGE₂. Par rapport aux autres cellules de l'épithélium gastrique, les cellules pariétales font une synthèse importantes de PGE₂ (Ota *et al.* 1988). On note également le long du tube digestif les récepteurs aux PGE₂ tels que les EP1, 3, 4 (Ding *et al.* 1997). La fixation de PGE₂ à ces récepteurs induit les effets décrits précédemment.

Le NO est synthétisé par les cellules de l'endothélium à partir d'un acide aminé précurseur, la L-arginine qui donne NO et L-citrulline par oxydation (Yates 2001). Il joue un rôle dans la gastroprotection par stimulation du flot sanguin, de la synthèse et la sécrétion du mucus et du bicarbonate (Kalia *et al.* 2000, Pan *et al.* 2005). Il stimule aussi la synthèse de prostaglandines (Uno *et al.* 1997) La réaction de synthèse est catalysée par le Nitric Oxyde Synthase (NOS). Le NOS est initialement classé en calcium calmoduline dépendant (cNOS) et en calcium calmoduline indépendant (iNOS). Le NO provenant d'une synthèse catalysée par le NOS constitutif joue plusieurs rôle biologique parmi lequel celui de la gastroprotection. Le NO catalysé par le NOS inductible est un médiateur dans le processus pro-inflammatoire.

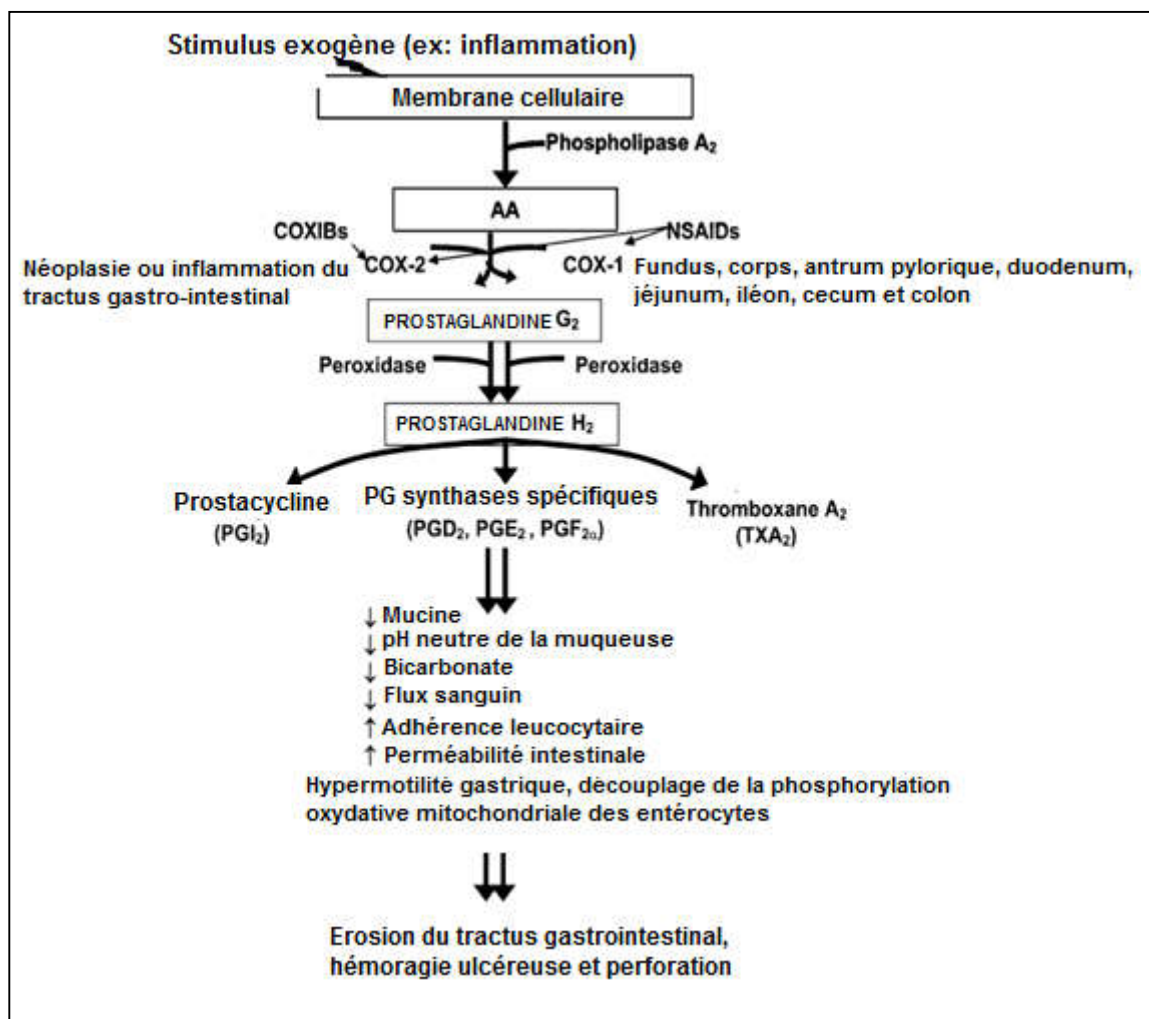


Figure 8: Rôle de prostaglandines (PGs) dans le tractus gastro-intestinal (GIT) et les effets des AINS sélectif (coxibs) et non sélectif.

Suite à un stimulus exogène (par exemple, inflammation), des phospholipides membranaires des cellules libèrent l'acide arachidonique (AA) sous l'action de phospholipase A2. Les deux enzymes la COX-1 et la COX-2 catalysent la conversion de AA en diverses PGs. La COX-1 est l'isoforme prédominante dans le GIT normale (fundus gastrique, corpus, antre et / ou le pylore, le duodénum, le jéjunum, l'iléon, le caecum et du colon), tandis que l'expression de la COX-2 est une régulation positive au cours de pathologies inflammatoires ou néoplasiques. Les AINS non sélectifs (exemple : carprofène, étodolac, flunixin méglumine, kétoprofène, indométacine et phénylbutazone) inhibent la COX-1 et la COX-2, tandis que les coxibs (exemple : célécoxib, rofécoxib, lumiracoxib, parécocoxib, valdécoxib) inhibent seulement COX-2 mais est sans effet sur la COX-1. Les mécanismes potentiels des AINS dans la toxicité du GIT sont entre autres: (1) augmentation de la perméabilité épithéliale intestinale (2) découplage de la phosphorylation oxydative mitochondriale, (3) hypermotilité gastrique (4) diminution de la sécrétion des cellules épithéliales de bicarbonates, (5) diminution de la sécrétion de mucine; (6) diminution du débit sanguin; (7) diminution du pH neutre de la muqueuse et (8) infiltration leucocytaire dans la muqueuse GIT après une blessure. La perte de ces mécanismes de protection du GIT peut conduire à l'érosion de la muqueuse, des ulcères, des saignements et une perforation (**d'après Radi et al. 2006**).

4- L'hyperchlorhydrie

L'hypersécrétion chlorhydro-peptique constitue un maillon incontournable de l'ulcérogénèse. On constate généralement une capacité sécrétoire acide en moyenne plus élevée chez les ulcéreux que chez les sujets normaux.

En effet la muqueuse gastrique possède une capacité extraordinaire de sécréter l'acide par les cellules pariétales selon un processus faisant intervenir la phosphorylation oxydative. Les cellules pariétales situées dans les glandes muqueuses du corps et du fundus de l'estomac sécrètent les ions hydrogènes dans la lumière gastrique par un mécanisme de pompe à proton au cours duquel intervient un tri phosphatase adénosine hydrogène - potassium spécifique (H^+ , K^+ , ATPase). Cette sécrétion est sous le contrôle de multiples facteurs parmi lesquels on a les facteurs hormonaux, nerveux et chimiques (Schubert et Peura 2008). Il est démontré que toute distension de l'estomac provoque une production acide par un mécanisme réflexe. En effet lorsqu'une forte tension est appliquée sur l'estomac, les mécanorécepteurs situés dans la muqueuse oxyntique sont sensibilisés et envoient un signal qui induit par boucle réflexe la libération de l'acétylcholine par les nerfs vagues (Ito *et al.* 2008). Selon les travaux d'Ian *et al.* (2003) le bol alimentaire dans l'estomac, en exerçant une tension sur l'estomac, induit une stimulation nerveuse vagale ou hormonale des cellules G qui libèrent la gastrine. La gastrine à son tour stimule les *Enterochromaffin-Like Cells* (ECL) qui produisent l'histamine. La gastrine, l'histamine et l'acétylcholine stimuleront concomitamment les cellules pariétales qui produiront l'acide (figure 9). L'acétylcholine et la gastrine en se liant à leurs récepteurs respectifs permettent une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire. L'histamine se lie au récepteur H_2 , augmente l'activité de l'adénylcyclase (AC) et l'AMPc intracellulaire via la protéine G_s . L'AMPc et le Ca^{2+} augmentent l'activité de l'ATPase H^+K^+ qui transporte les ions H^+ dans la lumière gastrique. Par contre la PGE2 réduit l'activité de l'AC et de l'AMPc intracellulaire via la protéine G_i et inhibe directement la sécrétion acide. Le NO et la PGE2 inhibent indirectement l'action de l'acide gastrique par stimulation de la sécrétion de mucus, du bicarbonate et augmentation du flot sanguin (Tanaka *et al.* 2001, Morschla *et al.* 2000, Uno *et al.* 1997). Pour Corrado *et al.* (1997) la fixation de l'acétylcholine sur les récepteurs muscariniques suite à une stimulation vagale associée à la production de l'acide par les cellules pariétales induit la libération de pepsinogène inactif. Par ailleurs le pepsinogène inactif se transforme en pepsine

active sous l'action de l'acide. Le pepsinogène ajouté à l'acide nécroserait la muqueuse en cas de défaillance en facteurs de protection.

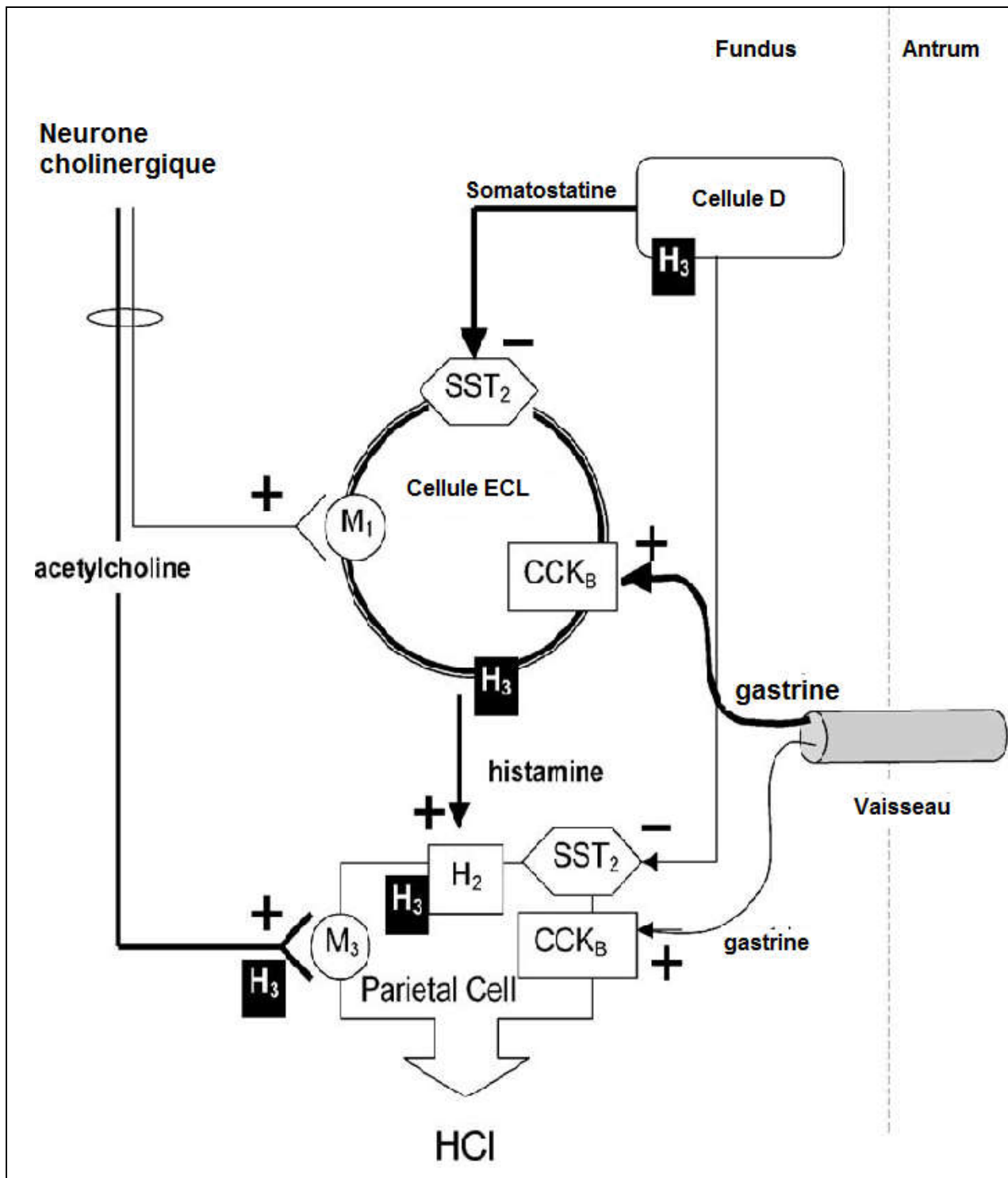


Figure 9 : Régulation de la sécrétion acide.

Relation entre l'acétylcholine, la gastrine, l'histamine dans le contrôle de la sécrétion acide.

Récepteurs muscariniques M_1 , M_3 ; Récepteurs à l'histamine H_2 , H_3 ; Récepteurs à la somatostatine SST_2 ; Récepteurs au cholécystokinine CCK_B également récepteur de la gastrine (D'après Barocelli et Ballabeni).

IV- Le traitement de l'ulcère gastroduodenal

Le traitement de l'ulcère passe par l'utilisation des antiacides, des antagonistes des récepteurs à histamine de type 2, des anticholinergiques, des PGs et des antibiotiques qui éradiquent les germes potentiels du tractus gastrique notamment *Helicobacter pylori* qui induit la diminution de la sécrétion du mucus et du pH gastrique (Johanna Henriksnas *et al.* 2006).

En effet, les antiacides tous comme les antagonistes des récepteurs H₂ et les anticholinergiques inhibent la sécrétion acide basale (non stimulée) et stimulée. De ce fait ces substances empêchent la nécrose de l'épithélium gastrique et dans le cas des antagonistes des récepteurs H₂ accélèrent la cicatrisation des plaies ulcéreuses.

Par ailleurs il existe des anti-ulcéreux qui n'agissent ni par neutralisation, ni par inhibition de la sécrétion acide gastrique. Parmi ceux ci, le sucralfate est un complexe de sel d'hydroxyde de polyaluminium de sulfate de sucrose. Son action est principalement locale et il peut, à l'instar des PGs, agir comme un cytoprotecteur. Il adhère au tissu de granulation et empêche la diffusion de l'acide chlorhydrique vers la base de l'ulcère. Enfin dans la plupart des traitements médicaux on associe à ces substances des antibiotiques tels que l'amoxicilline, le clarithromycine afin d'éradiquer les *Helicobacter pylori*, principale bactérie impliquée dans la récurrence des ulcères.

V- Caractéristiques botanique et ethnobotanique d'*Aloe buettneri*

Aloe buettneri A.Berger (figure 10) est une plante à fleur (Phanérogame) de la famille des Liliaceae à laquelle appartient le lys, l'oignon, l'ail etc...Il fait partie des plantes grasses ou succulentes. Ses fleurs réparties sur une ou plusieurs hampes ressemblent à de petites trompettes de couleur verdâtre ou jaune-verdâtre. C'est une plante herbacée, à rhizome court, n'émettant jamais de rejet. Ses feuilles glabres, vert claires, quelques fois tachetées à bords épineux, long d'environ 40 cm et large de 15 cm sont succulentes, à base largement embrassant (Brunel *et al.* 1984).

Connu au Togo sous plusieurs appellations: *Adiadi* en *Ewé*, *Fradjo* en *Tem*, *Yoblaniago* en *Moba*, *Aloe buettneri* ou Aloe sauvage est utilisé traditionnellement pour traiter les dermatoses diverses, les mycoses cutanées, les plaies chroniques, l'ictère et les inflammations. Adjanooun et al. (1986) ont révélé que le décocté des feuilles d'*Aloe buettneri* est utilisé dans le traitement des dermatoses et des plaies

incurables. Selon les mêmes auteurs la racine séchée, écrasée en poudre et mélangée à la sauce d'amande de noix de palme serait un puissant remède contre l'ictère. Selon Berhaut (1988) le jus tiré des feuilles mises au dessus d'un foyer est utilisé dans le traitement de certaines affections gastro-intestinales, des ulcères. Ces feuilles sont également utilisées contre la peste et le choléra aviaire. Au Burkina-Fasso, elle est utilisée pour ces propriétés antifongiques notamment dans le traitement des mycoses chez les personnes vivant avec le VIH : PVVIH (Nikiéma *et al.* 2009). Les Camerounais l'utilisent pour traiter les dysenteries, la toux, la dysménorrhée, l'empoisonnement alimentaire et la douleur lombaire (Adjanohoun *et al.* 1996). Sur le plan de la recherche pharmacologique, Telefo *et al.* (2002, 2004) ont montré que les extraits aqueux des feuilles d'*Aloe buettneri* exercent un effet oestrogénique sur l'ovaire *in vivo* comme *in vitro*. Tan *et al.* (2006) ont exploré le potentiel toxique de l'extrait semi- méthanolique des feuilles d'*A. buettneri* et ont montré qu'il est non toxique à une utilisation aigue chez les souris. Ils montrent que l'extrait semi-méthanolique inhibe l'ulcère gastrique induit par l'indométacine, le mélange HCl-ethanol chez des souris.



Figure 10 : Plants d'*Aloe buettneri* A. Berger (Liliaceae) mis en terre à la Faculté des Sciences

Deuxième chapitre : Réparation tissulaire

I- La réparation tissulaire

1- Introduction

L'intégrité du tissu de revêtement est d'importance capitale qu'il s'agisse de l'épithélium cutané, bronchique, gastrique... Ces épithéliums protègent l'organisme contre toutes atteintes exogènes ou endogènes. Toutefois, ces tissus subissent parfois des agressions qui causent des dommages allant de la simple lésion aux graves blessures voire aux grandes plaies. La restauration de l'intégrité de ce tissu joue un rôle important dans les processus inflammatoires chroniques tels que l'asthme, les plaies ulcéreuses cutanées ou gastriques. *A. buettneri* est utilisée traditionnellement au Togo et d'autres nations ouest africaines dans le traitement des plaies chroniques cutanée et gastrique.

Objectif

Pour confirmer ces propriétés traditionnellement reconnues pour la plante, nous nous sommes fixés pour objectif d'évaluer son effet dans différents modèles d'agression tissulaire à savoir '*in vitro*' comme '*in vivo*'.

2- Agression tissulaire '*in vitro*'

2.1- Matériel

Les cellules épithéliales bronchiques humaines : les cellules 16HBE et les cellules H292 ont été utilisées. Ces cellules sont cultivées respectivement dans le DMEM/F12 (*Bulbecco's modified eagle medium : Nutrient mixture F-12*) et RPMI (*Roswell park memorial institute medium*) supplémentés en L-Arginine (concentration finale 200 mM), pénicilline/streptomycine (concentration finale 100 UI/ml- 100µg/ml) et du serum de veau foetal (SVF) à 10% tous provenant de **In vitrogen**. La Trypsine 0.5% EDTA (Acide éthylène diamine tétra acétique) provenant du même fournisseur est utilisée pour décoller les cellules dans les flacons de culture. Le PBS (*Phosphate buffer solution*) utilisé pour rincer les cellules est aussi fourni par *In vitrogen*.

2.2- Mise au point de la technique

Les cellules sont cultivées dans des flacons de culture de 50 cm³ dans un milieu à SVF 10%, incubées à 37°C sous 5% de dioxyde de carbone (CO₂). A confluence, elles sont repiquées dans les boîtes de Pétri 353001bd. Lorsque les cellules arrivent de nouveau à confluence dans les boîtes de Pétri, elles sont sevrées c'est-à-dire le milieu de culture à SVF 10% est changé par un milieu à SVF 0,3% pendant 48H. A la

fin de ces quarante-huit heures, trois lésions de longueur 3 mm chacune, sont réalisées dans chaque boîte de Pétri à l'aide d'une pointe bleue stérile. Les cellules sont rincées par du PBS. On ajoute aux cellules contenues dans les boîtes de Pétri un nouveau milieu dont la concentration en SVF est fonction de la technique envisagée (SVF à 0,3, 1, 3, 10%). Les photos de la lésion sont prises à intervalles réguliers (6h) à l'aide du microscope LEICA 10446360 (grossissement 3,6X 5X 1,25) couplé à un appareil photo cool SNAP relié à un ordinateur. La surface de la lésion est alors évaluée à l'aide du logiciel 'ImageJ'. Le résultat, exprimé en pourcentage de cicatrisation est calculé selon la formule ci-dessous :

Pourcentage de cicatrisation= (Surface de la lésion initiale – Surface de la lésion au temps t/ Surface de la lésion initiale) x 100.

2.3- Validation de la technique

Les cellules sont traitées comme indiquées plus haut. Dans le but de valider la technique, quatre lots composés de 3 boîtes de Pétri chacun sont constitués. Les lots I et II sont sevrés 48 h avant la lésion et cultivés dans un milieu SVF 10% après la lésion. Les Lots III et IV sont sevrés 48 heures avant la lésion et cultivés dans un milieu à SVF 0,3%. Dans une série d'expérience, le TGFβ (20 ng/ml) ou son solvant (soluté physiologique) est ajouté au milieu dans les boîtes de Pétri des lots II et IV juste après la lésion et le rinçage. A la place du TGFβ, les lots I et III reçoivent 100 µl de NaCl à 0,9%.

2.4- Effet de l'extrait ou des fractions d'extrait sur la réparation tissulaire

Un extrait hydroalcoolique de feuilles d'*A. buettneri* est préparé à cet effet. Les feuilles sont récoltées, séchées sous climatisation et mises en poudre. La poudre est macérée dans une solution hydroalcoolique pendant 24 h et filtrée. Le filtrat obtenu est évaporé et un extrait qui servira pour les tests biologiques est obtenu. Pour évaluer l'effet de l'extrait sur la réparation tissulaire, les cellules traitées comme précédemment sont sevrées (le milieu à SVF 10% est remplacé par un SVF 0,3%) 48 h avant la lésion. Après la lésion, les cellules sont cultivées dans un milieu à SVF 0,3%. Cent microlitre (100 µl) d'extrait dilué dans le NaCl à différentes concentrations (cellules traitées) ou de NaCl (contrôles) sont ajoutés au milieu dans les boîtes de Pétri. La lésion est évaluée comme précédemment.

La même technique est utilisée dans la recherche des fractions actives après fractionnement de l'extrait. Les fractions ont été utilisées à la concentration de 2,5 et 10 µg/ml. Ici aussi, 100 µl de chaque fraction ont été ajoutés au milieu de culture après la lésion.

3- Agression tissulaire '*in vivo*'

3.1- Modèle d'hyperéosinophilie dans l'asthme : modèle murin de 8 jours

3.1.1- Matériel

Une solution saline stérile (0,9% de NaCl) contenant 0,5 mg/ml d'ovalbumine adsorbée sur l'adjuvant (hydroxyde d'aluminium, 20 mg/ml) est utilisée pour sensibiliser les souris *balb/c*. Pour le contrôle, une solution saline d'hydroxyde d'aluminium à la concentration de 20 mg/ml est utilisée. La solution saline d'ovalbumine à 0,4 mg/ml est utilisée comme allergène. La kétamine (Imalgene®, Merial) et la xylazine (Rompun® 2%, Bayer) sont dissoutes dans une solution saline stérile pour des concentrations finales respectives de 50 mg/kg de kétamine et de 3,3 mg/kg de xylazine. Ce mélange est utilisé comme anesthésique pour la provocation allergénique à l'ovalbumine des souris.

3.1.2- Induction de l'asthme

Principe : la sensibilisation préalable des souris par l'ovalbumine active la réponse immunitaire spécifique. Une exposition ultérieure des souris au même allergène déclenche la réponse anaphylactique inflammatoire.

Mode opératoire : La solution saline d'ovalbumine (0,5 mg/ml) et d'hydroxyde d'alumine (20 mg/ml) est préparée et homogénéisée à 4°C pendant 4 h à l'aide d'un rotator à la température ambiante du laboratoire. Quatre lots de cinq souris chacun sont alors constitués. Tous les groupes sont sensibilisés, c'est-à-dire reçoivent une injection intrapéritonéale de solution d'ovalbumine-hydroxyde d'alumine (100 µl) les jours 0, 1 et 2. Les jours 5, 6 et 7, les souris des groupes III et IV reçoivent par instillation nasale 12,5 µl de la solution d'ovalbumine à 0,4 mg/ml, préparée une semaine au préalable, stockée à -20°C puis remise à la température du laboratoire. Les animaux des groupes I et II (contrôles) reçoivent à cet effet en instillation nasale du NaCl à 0,9%. Deux heures avant l'instillation de la solution d'ovalbumine ou de NaCl, les souris des groupes II et IV sont traitées par l'extrait (500 mg/kg p.o) alors que celles des groupes I et III par du NaCl à 0,9% p.o. Au jour 8, 18 à 24 h après la dernière administration d'OVA, un lavage bronchoalvéolaire (LBA) est réalisé par

administration d'une solution saline NaCl 0.9% - EDTA 2,6 mM (10 fois 500 µl), le liquide du lavage est recueilli, les souris sont thoracotomisées et le poumon prélevé. Les deux premiers liquides de lavage bronchaloéolaire (2x 500µl) recueillis sont centrifugés à 10.000 g à 4°C pendant 15 mn, le surnageant recueilli est stocké à -20°C et destiné au dosage des cytokines. Les 8 derniers liquides de lavage sont centrifugés à 10.000 g à 4°C pendant 5 mn. Le culot cellulaire est resuspendu dans 500 µL d'une solution froide de NaCl 0,9% - EDTA 2,6 mM. Les cellules totales sont comptées à partir d'un hémocytomètre (chambre de Neubauer). Le comptage différentiel des cellules est fait à partir d'un système de cytocentrifugation (cytospin 3, Shandon LTD). La concentration cellulaire de la solution resuspendue est réajustée à 250000 cellules/ml dans du NaCl 0,9% - EDTA 2,6 mM. 200 µl de cette solution est déposée au fond de la chambre de centrifugation, les lames sont placées dans la centrifugeuse, équilibrées. La centrifugation est alors mise en route pendant 10 mn à 700 tours par minute. Les lames sont ensuite retirées et colorées. Pour chaque lame au minimum 400 cellules sont comptées au total. Le compte différentiel des cellules est rapporté au nombre total de cellules. Les dosages de cytokines, IL-4 et IL-5, sont réalisés par test ELISA selon les recommandations du fournisseur (BD biosciences)

3.2- Modèle de blessure cutanée

3.2.1- Préparation du gel

Le gel est préparé à partir de Carbopol 974P NF (Goodrich, USA). Le carbopol (0,25 g) est dispersé dans 24 g d'eau distillée. Le mélange est agité en le remuant continuellement à l'aide d'un agitateur magnétique (IKA Magnetic stirrer IKA-Combimag RCT) à 800 rpm pendant 1 h. Le mélange, toujours agité, est neutralisé par ajout goutte à goutte d'une solution de NaOH à 1 mol/l. On obtient alors un gel translucide. Deux types de formulations de gel ont été préparés : le gel constitué uniquement de Carbopol (1%) et le gel contenant 2,5% d'extrait hydroalcoolique de feuilles d'*A. buettneri*.

3.2.2- Induction de la plaie cutanée

L'effet de l'extrait sur les blessures cutanées est évalué chez la souris. Une excision de diamètre 8 mm est faite sur le dos des souris qui résident une par cage. L'excision est réalisée après épilation et désinfection de la peau par la Bétadine®. Juste après l'excision une application topique du gel contenant l'extrait est faite sur la plaie. Deux

cents µl de gel uniquement sont appliqués chaque jour sur la plaie chez les souris du groupe contrôle alors que le gel contenant l'extrait d'*A. Buettneri* à 2,5% est appliqué dans les mêmes conditions chez le lot traité. Des photos de la plaie sont prises les jours J0, J1, J3, J5, J7, J9 et J11. La dimension de la plaie est évaluée par le logiciel 'image J'. Au onzième jour, les souris sont sacrifiées par surdose d'anesthésie. Une coupe de la cicatrice est prélevée pour l'évaluation histologique.

3.2.3- Traitement statistique

Tout au long de cette thèse les résultats obtenus sont traités par le logiciel GraphPad Prism 5.0. Ces résultats représentent des moyennes plus ou moins l'erreur standard sur la moyenne ($m \pm E.S.M.$). Une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de bonféronii est réalisée et le seuil de significativité est $P < 0,05$.

4- Résultats

4.1- Réparation tissulaire 'in vitro'

4.1.1- Réparation tissulaire en fonction de la concentration du milieu en SVF

Les cellules bronchiques, cellules H292 ont servi à la mise au point de la technique. La réparation tissulaire de ces cellules en culture lésée est fonction de la concentration du milieu de culture en SVF. En effet lorsque le milieu de culture RPMI contient 0,3% de serum de veau foetal (SVF) la réparation est lente et retardée alors que dans le milieu à SVF 1, 3 et 10% la réparation est très rapide. Trente-six heures après la lésion (figure 11) on note une réparation tissulaire complète (100% de cicatrisation) lorsque le milieu est à 1-10% de SVF alors que le pourcentage de cicatrisation dans le milieu à SVF 0,3% est de 60%.

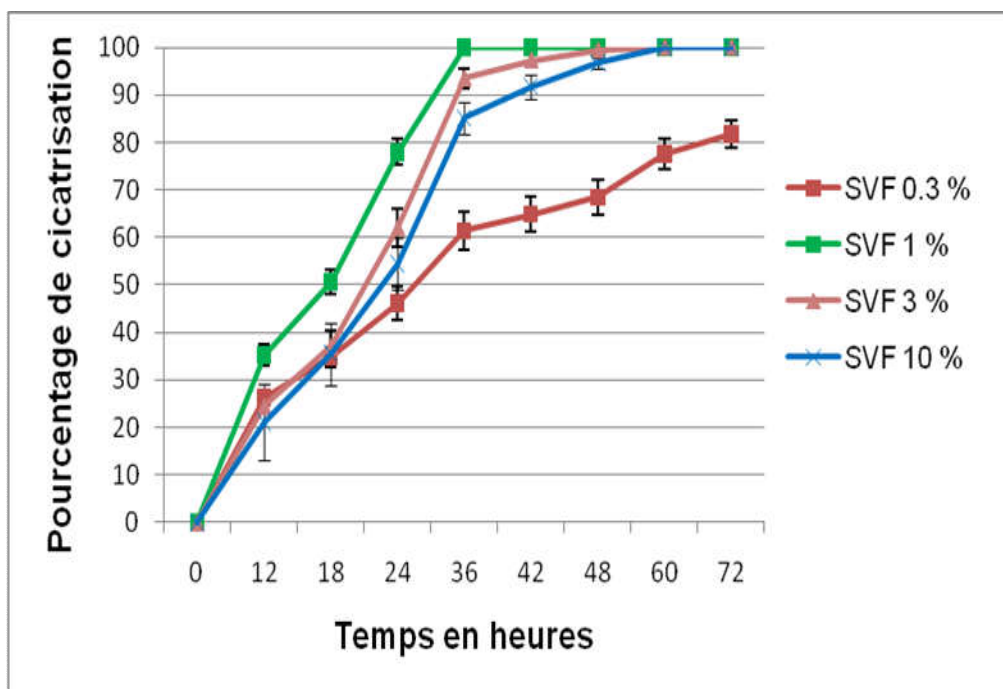


Figure 11: Réparation de la lésion des cellules H292 en culture dans un milieu à différentes concentrations de SVF

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont alors cultivées dans le RPMI à différentes concentrations de SVF. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes $\pm$ ESM, n= 9 essais.

4.1.2- Effet du TGF β sur la réparation tissulaire

L'ajout du TGF β (20 ng/ml), un facteur de croissance des cellules épithéliales n'influe pas sur la vitesse de réparation de la lésion tissulaire chez les cellules 16HBE lorsque le milieu de culture est à 10% de SVF (figure 12). On note par contre une légère augmentation de la vitesse de réparation chez les cellules H292 lorsqu'on ajoute du TGF β au milieu de culture à 10% de SVF (figure 13). Toutefois lorsque les deux types cellulaires sont cultivés dans leur milieu respectif mais cette fois ci à 0,3% de SVF, l'ajout du TGF β induit une augmentation de la vitesse de réparation tissulaire. Les cellules se comportent comme dans un milieu à 10% de SVF. L'effet du facteur de croissance TGF β est bien perceptible dans ce cas. La réparation est la résultante de la prolifération et la migration cellulaires.

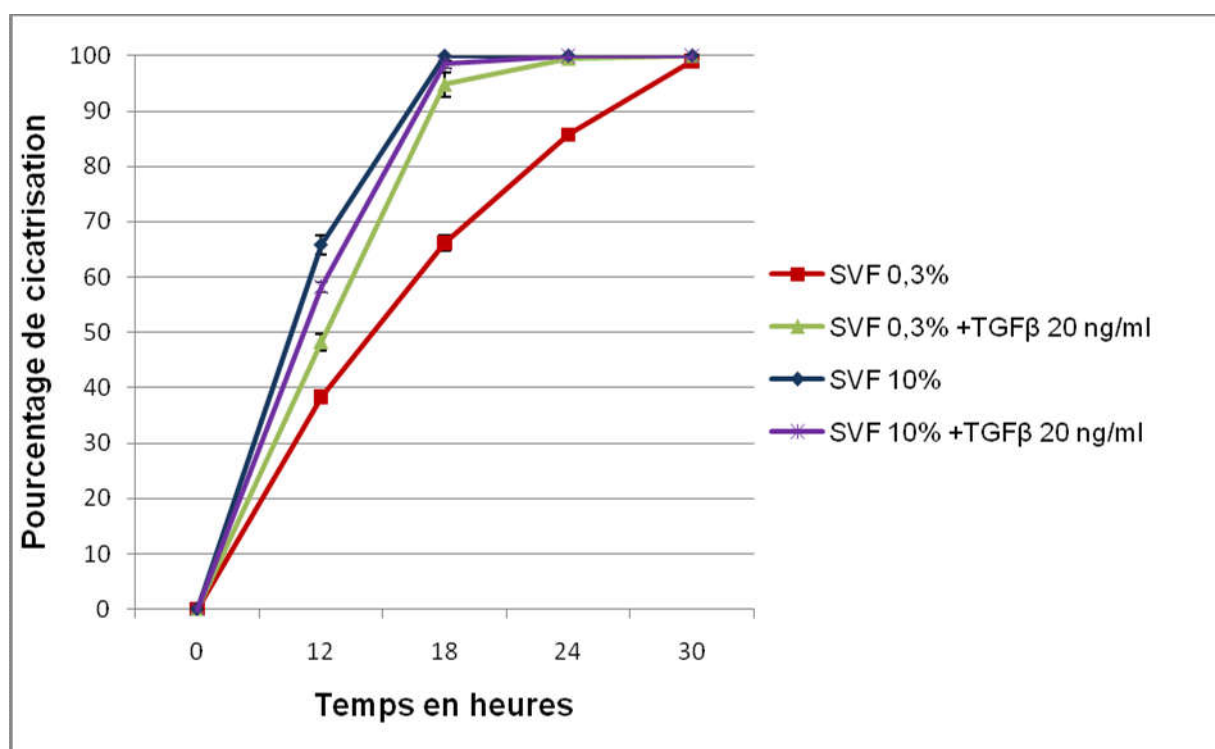


Figure 12: Effet de TGF β sur la réparation tissulaire de cellules 16HBE

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 à différentes concentrations de SVF. Le TGF β (20 ng/ml) est ajouté au milieu de culture une seule fois juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

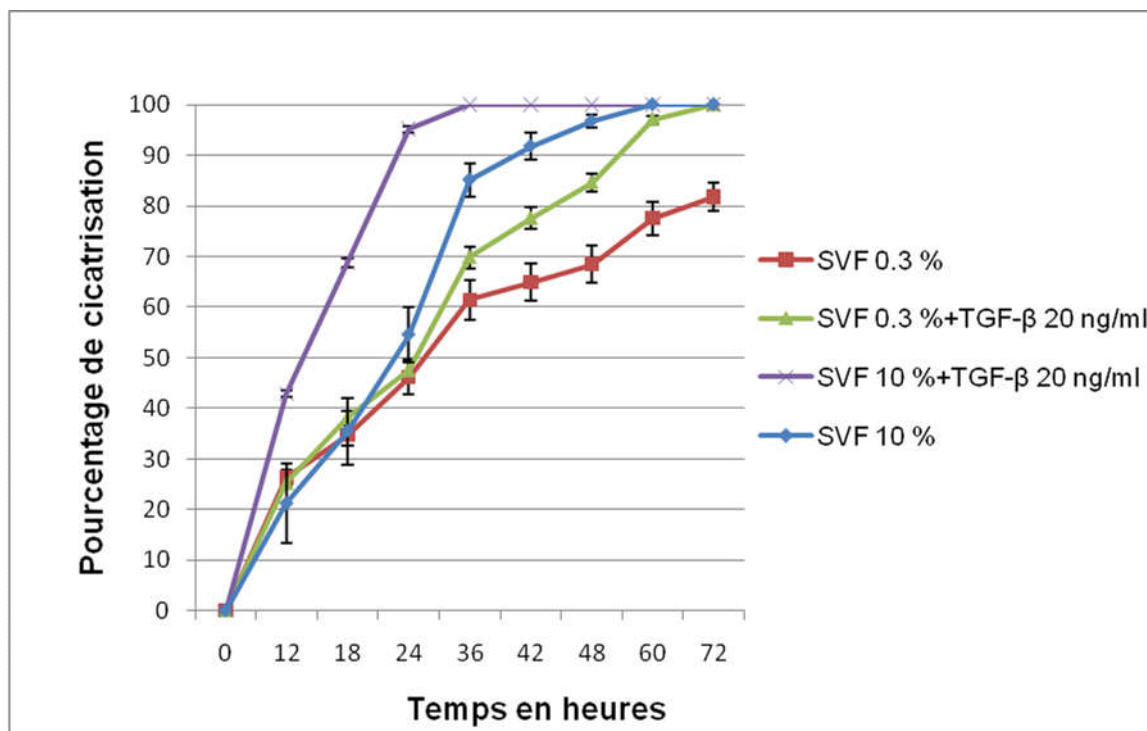


Fig 13: Effet de TGFβ sur la réparation tissulaire de cellules H292

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI à différentes concentrations de SVF. Le TGF β est ajouté au milieu de culture une seule fois après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± ESM, n= 9 essais

4.1.3- Effet de l'extrait sur la réparation tissulaire

L'extrait d'*A. buettneri* potentialise la réparation tissulaire des deux lignées de cellules épithéliales bronchiques cultivées dans leur milieu de culture respectif à 0,3% de SVF. Dix-huit heures après la lésion, le pourcentage de cicatrisation chez les cellules 16HBE dans le milieu supplémenté en extrait à 50 µg/ml est presque de 100% alors que chez le contrôle, il est environ de 65% (figure 14). Dans les cellules H292, dès la 24ème heure déjà, on note une accélération du processus de réparation de 20% en présence de l'extrait à 50 µg/ml (figure 15).

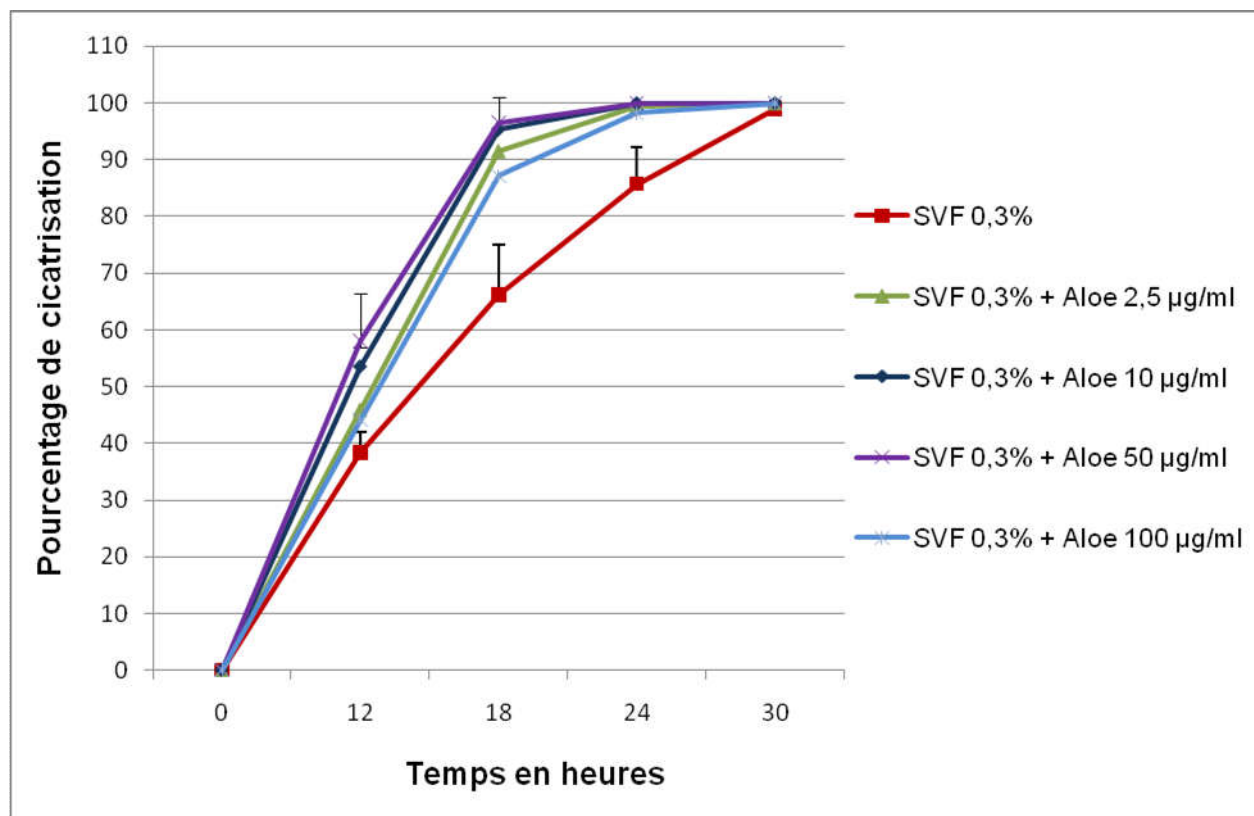


Fig 14: Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire des cellules 16HBE

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. L'extrait d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajouté une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

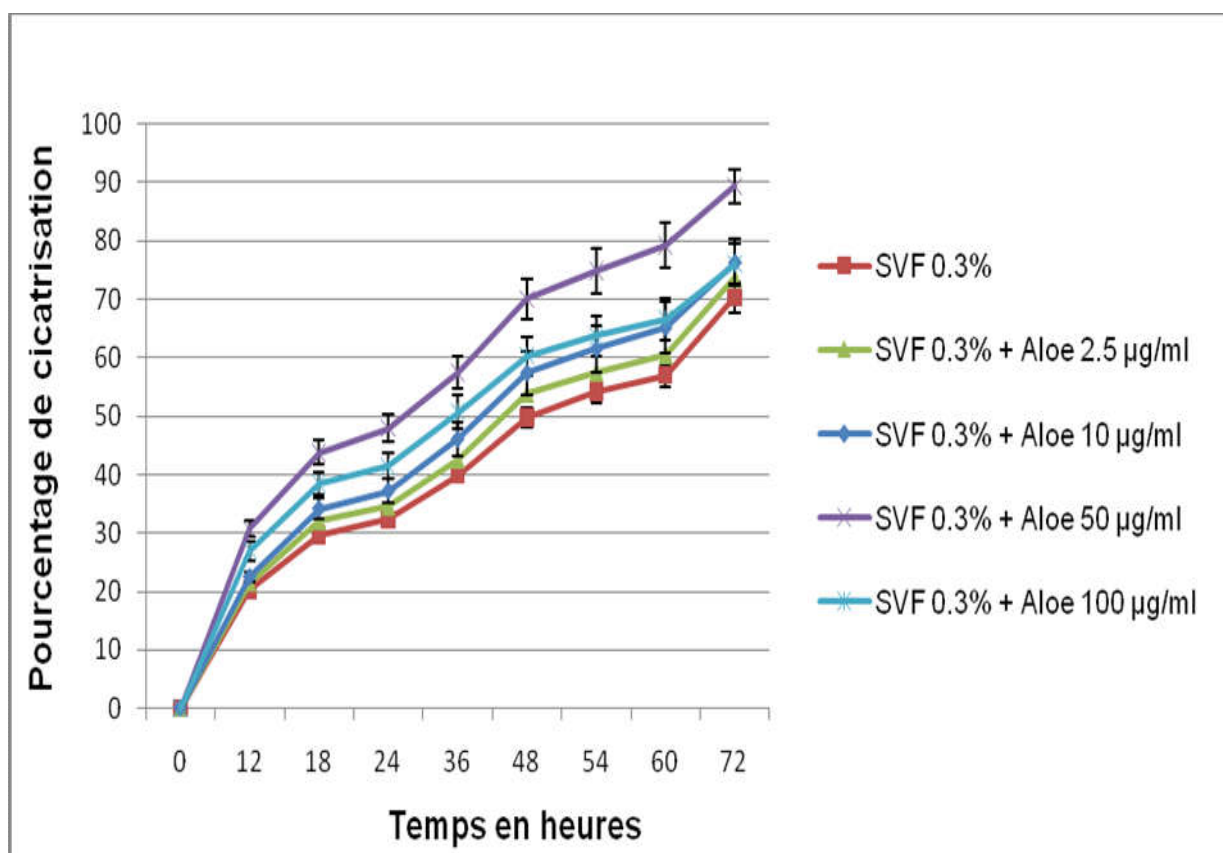


Fig 15: Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire des cellules H292

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. L'extrait d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajouté une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Le résultats est représenté sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

4.1.4- Recherche des fractions bioactives

4.1.4.1- Avec les cellules H292

La même technique utilisée précédemment dans l'évaluation de l'effet de l'extrait total d'*A. buettneri* est utilisée pour évaluer l'effet des fractions dans la réparation tissulaire. Le fractionnement de l'extrait total d'*A. buettneri* nous a permis d'obtenir sept fractions numérotées de 1 à 7 (voir page 100 chapitre 4 § 2.1). Les sept fractions ont été évaluées dans le modèle *in vitro* de cellules en culture lésées. Les deux lignées de cellules épithéliales bronchiques humaines ont servi à cet essai bio-guidé.

Les figures 16 à 22 représentent l'effet de chacune des 7 fractions sur la réparation tissulaire des cellules H292 .

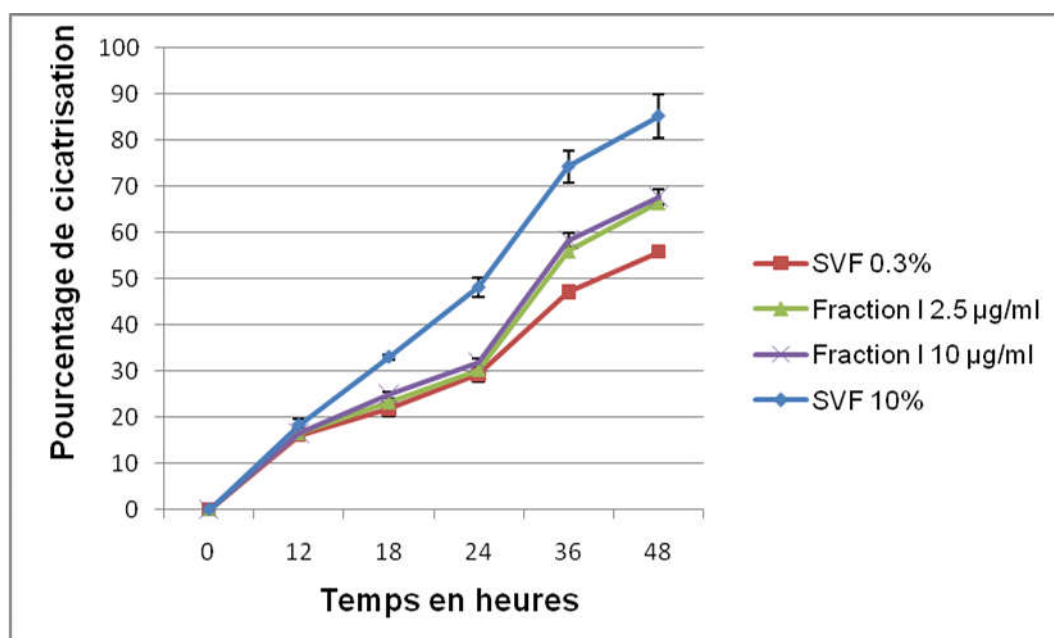


Figure 16 : Effet de la fraction I d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction I d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

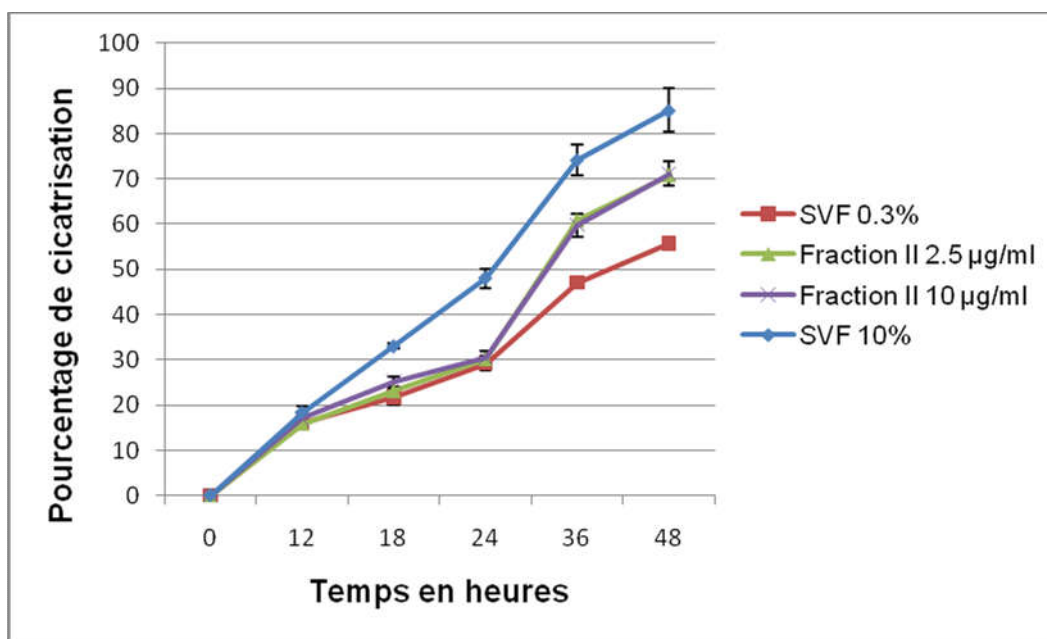


Figure 17 : Effet de la fraction II d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction II d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

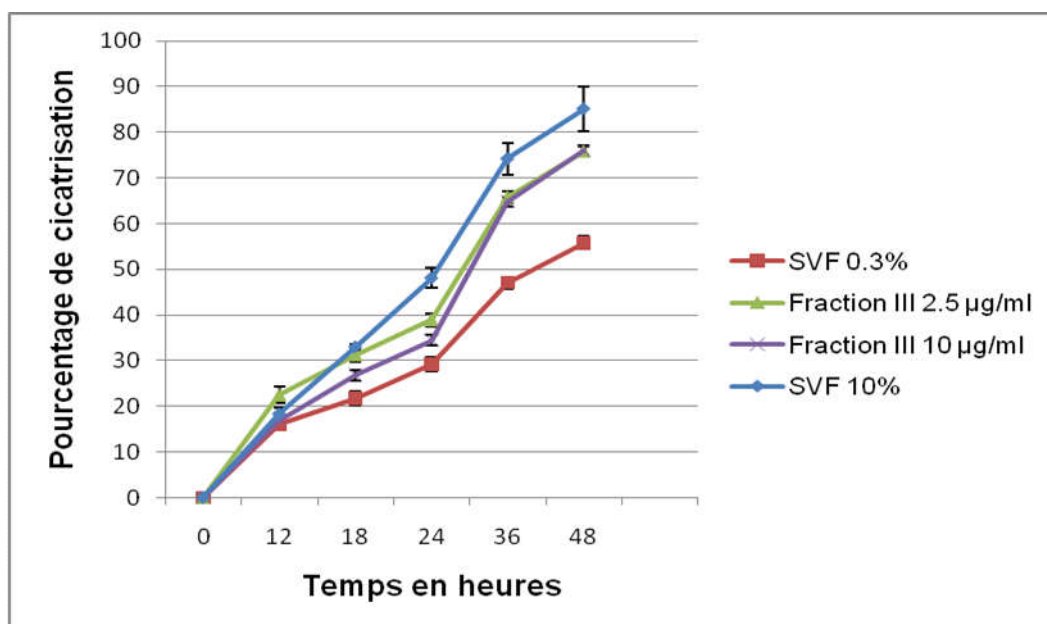


Figure 18 : Effet de la fraction III d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction III d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

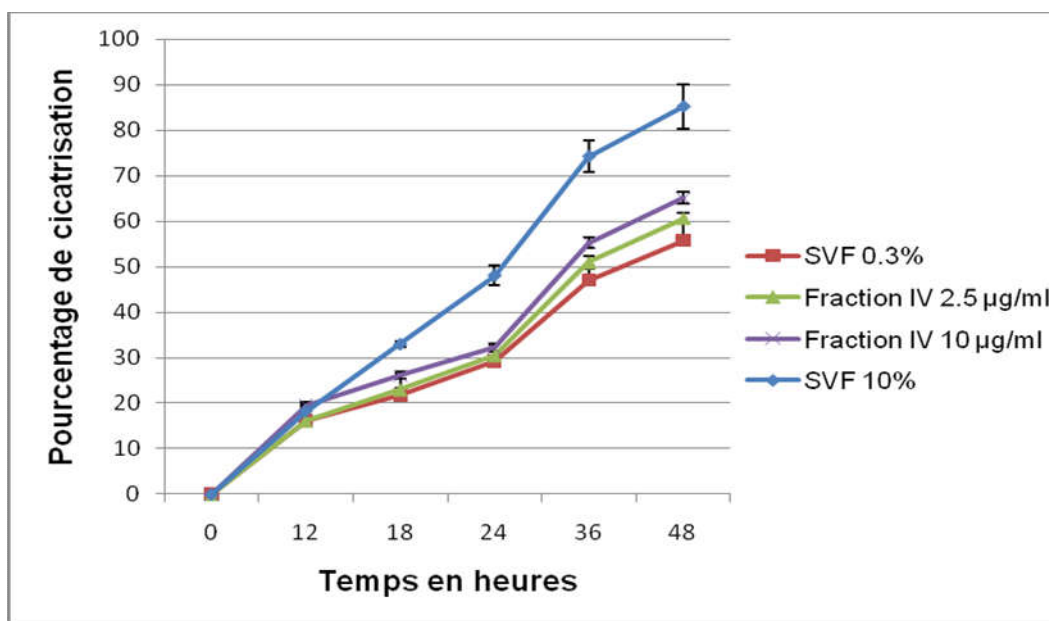


Figure 19 : Effet de la fraction IV d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction IV d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajouté une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

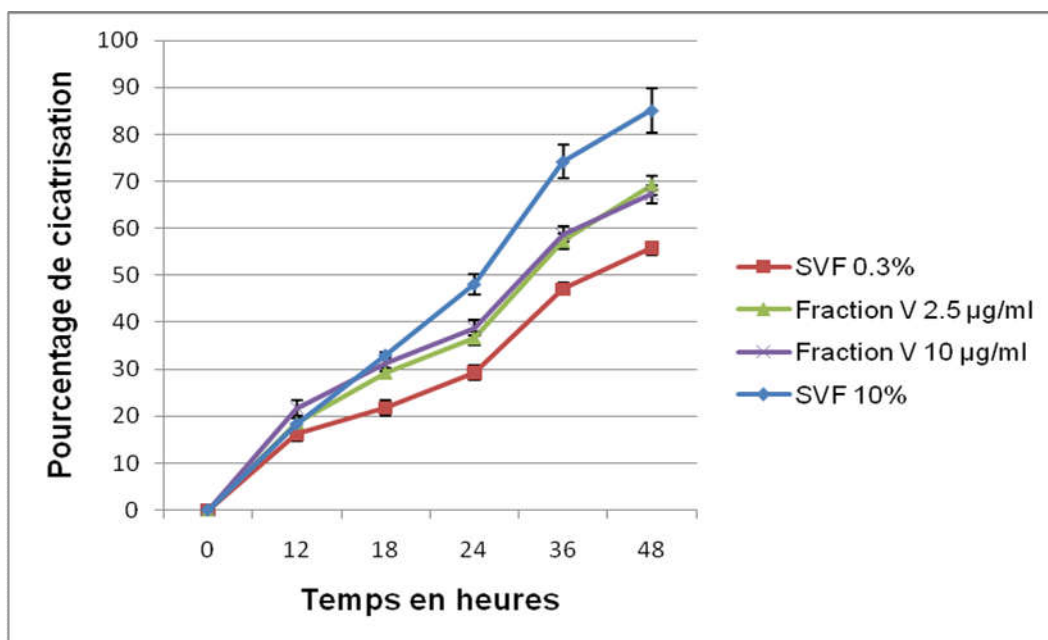


Figure 20: Effet de la fraction V d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction V d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajouté une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

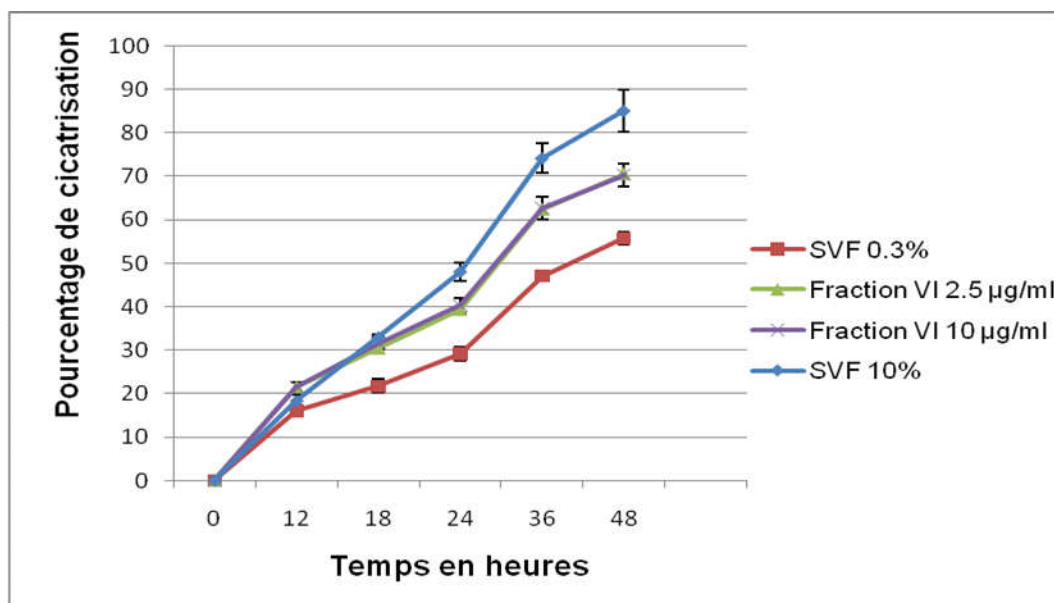


Figure 21 : Effet de la fraction VI d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction VI d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

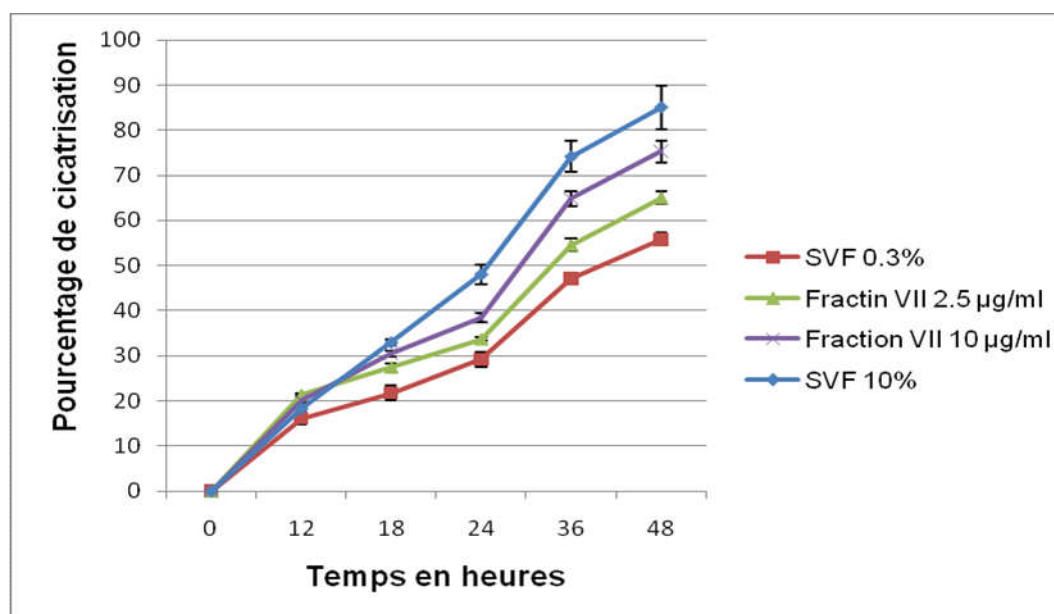


Figure 22 : Effet de la fraction VII d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à partir d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le RPMI 0,3% de SVF. La Fraction VII d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentration) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

4.1.4.2- Avec les cellules 16 HBE

Les figure 23 à 29 représentent l'effet de chacune des 7 fractions sur la réparation tissulaire des cellules 16HBE en culture lésée.

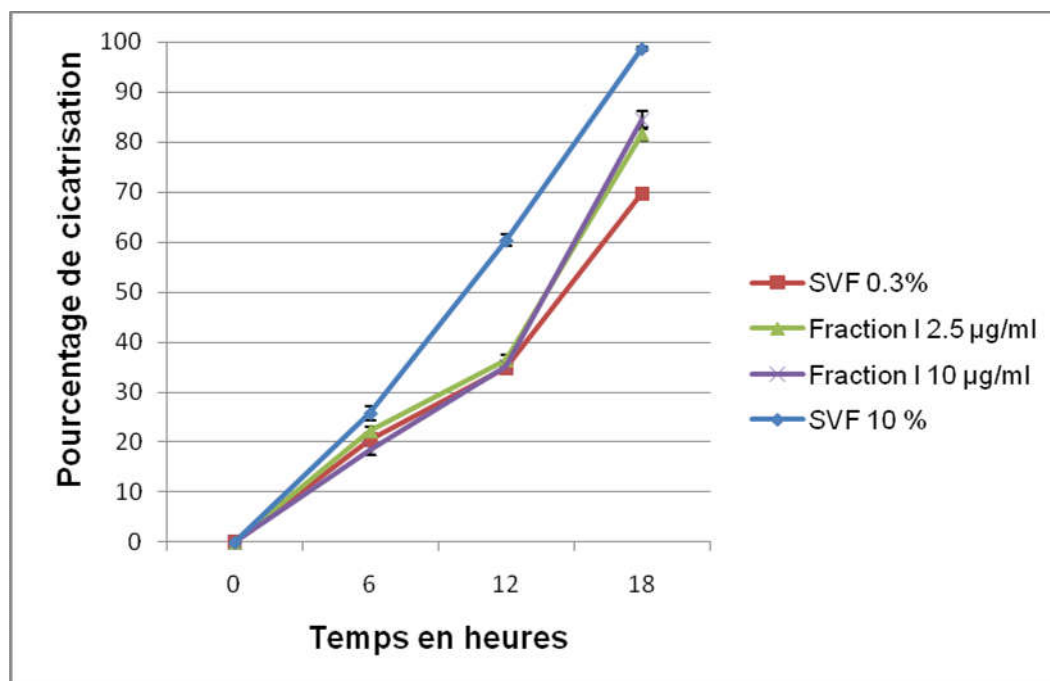


Figure 23 : Effet de la fraction I d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction I d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

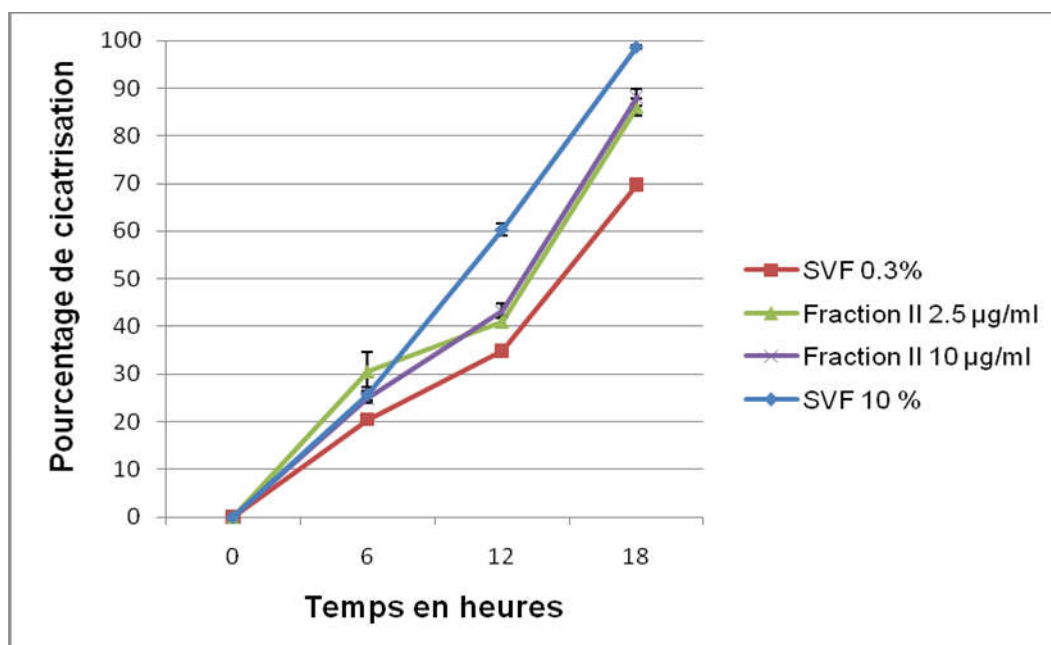


Figure 24 : Effet de la fraction II d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction II d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

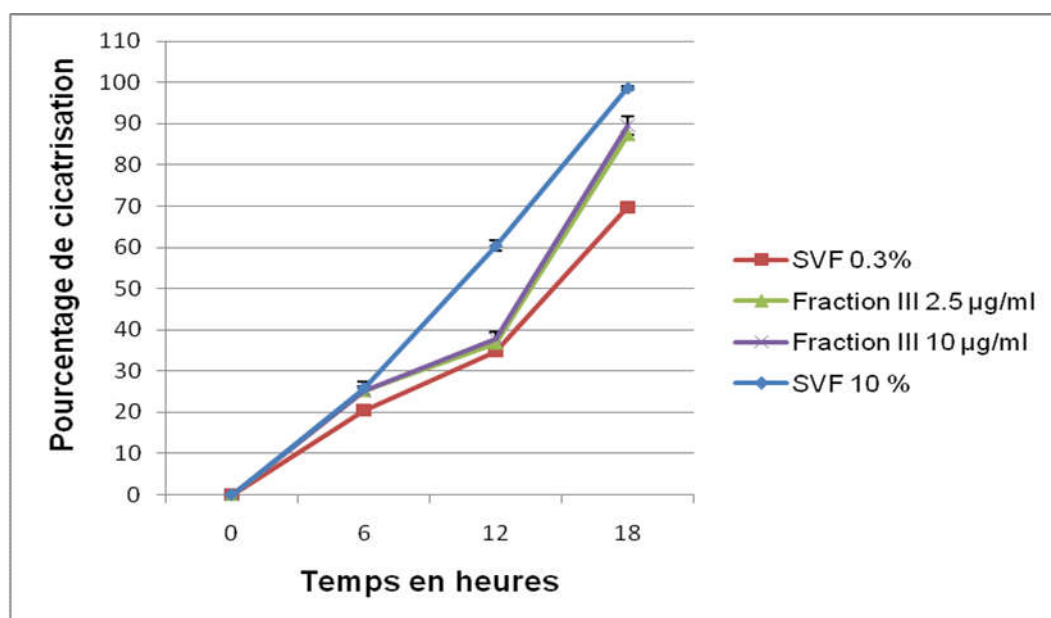


Figure 25 : Effet de la fraction III d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction III d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

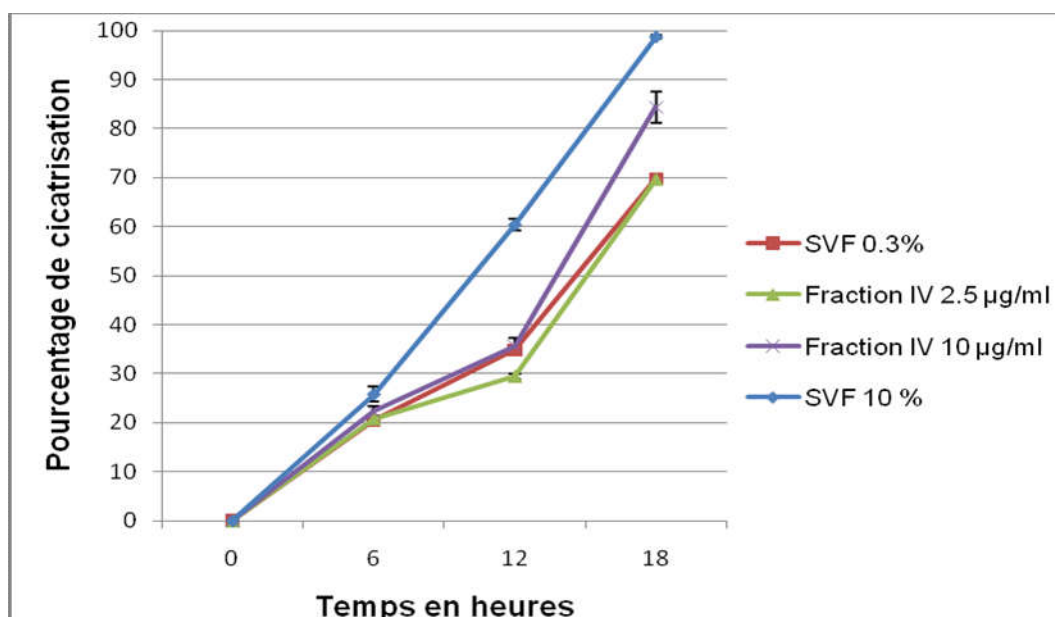


Figure 26 : Effet de la fraction IV d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction IV d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

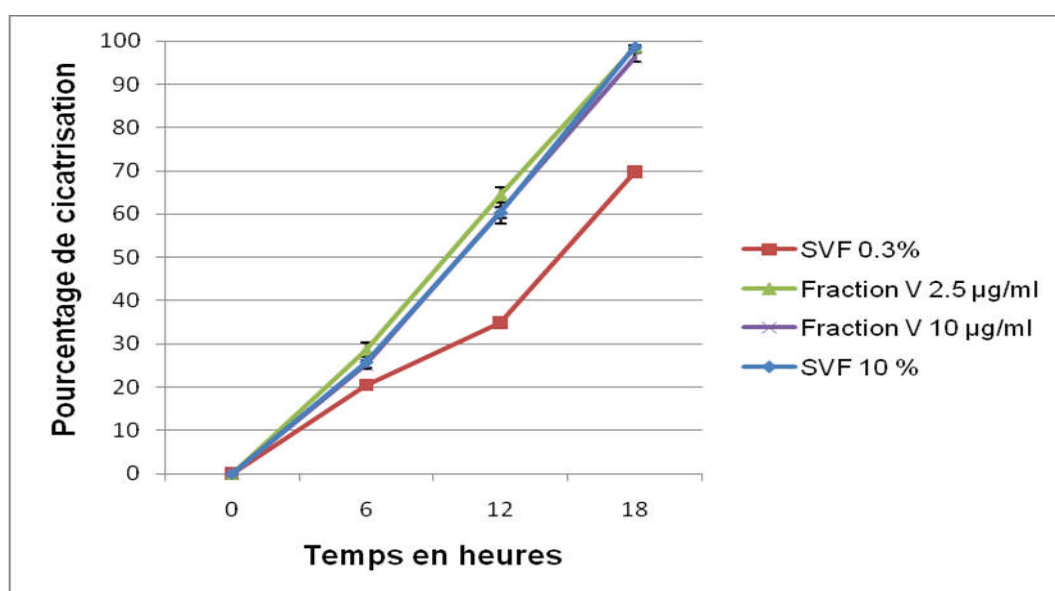


Figure 27 : Effet de la fraction V d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction V d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

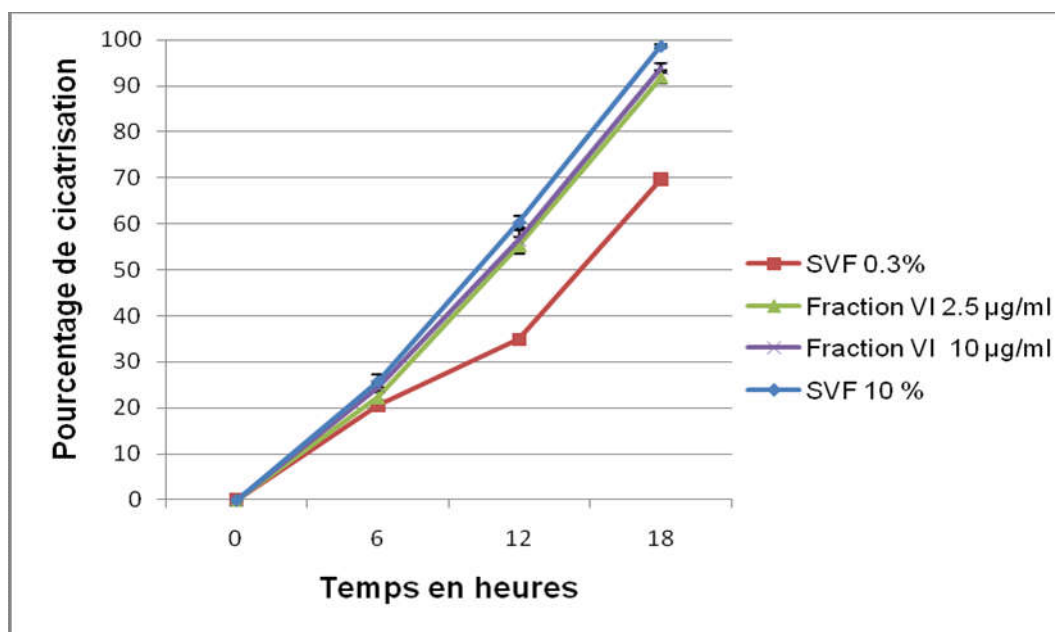


Figure 28 : Effet de la fraction VI d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction VI d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

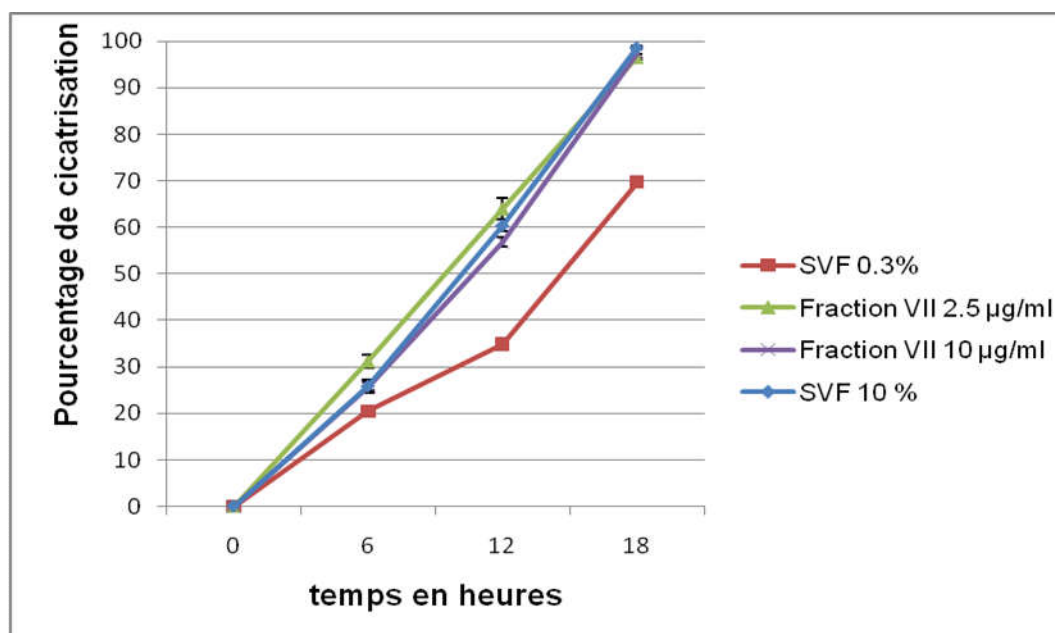


Figure 29 : Effet de la fraction VII d'*A. buettneri* sur la réparation tissulaire

La lésion est faite sur les cellules confluentes après 48 H de sevrage à l'aide d'une pointe bleue. Les cellules lésées sont cultivées dans le DMEM/F12 supplémenté en SVF à 0,3%. La fraction VII d'*A. buettneri* (100 µl de différentes concentrations) est ajoutée une seule fois au milieu de culture juste après la lésion. La réparation tissulaire est évaluée en pourcentage de cicatrisation. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ ESM, n= 9 essais

Les résultats obtenus dans les deux lignées montrent que la fraction IV est sans effet sur la réparation tissulaire, la fraction I a un léger effet mais tardif. Les fractions II et III potentialisent faiblement la réparation tissulaire, alors que les fractions V, VI, VII activent la réparation du tissu lésé.

4.2- Réparation tissulaire ‘*in vivo*’

4.2.1- Effet anti-asthmatique

L'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*A. buettneri* possède des propriétés antiasthmatiques utilisées par les tradipraticiens dans la population togolaise. Nous avons évalué son activité dans un modèle murin d'asthme avec hyperéosinophilie. Ce modèle est obtenu par sensibilisation des souris *balb/c* du même âge à l'ovalbumine en présence d'alum et provocation antigénique par administrations répétées d'ovalbumine par voie intra-nasale.

L'extrait administré par voie orale inhibe significativement l'afflux des cellules impliquées dans l'inflammation des voies aériennes. Le nombre de cellules totales retrouvées dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) chez les souris sensibilisées et non traitées, c'est-à-dire les souris du lot contrôle est de 214000 ± 18398 . Ce nombre est passé à 525000 ± 26457 soit une augmentation de plus de 145% chez le lot sensibilisé et provoqué par l'antigène (l'ovalbumine par voie intranasale), mais non traité (figure 30). L'infiltration cellulaire des voies aériennes ayant cours dans l'asthme est vérifiée dans ce modèle chez la souris. Le traitement des souris par l'extrait d'*A. buettneri* administré par voie orale les jours 5, 6 et 7, 2 heures avant la provocation antigénique à l'ovalbumine inhibe cette infiltration leucocytaire de 29%, le nombre de cellules totales dans le LBA étant 370833 ± 13128 .

On ne trouve pas d'éosinophiles chez les souris sensibilisées et non provoquées par l'antigène (OVA) ; par contre le nombre d'éosinophiles indicateurs de l'inflammation bronchique est de 210070 ± 21470 chez les souris sensibilisés, provoquées à l'ovalbumine et non traitées par l'extrait. Le traitement par l'extrait d'*A. buettneri* fait chuter ce nombre à 98933 ± 13228 , soit un pourcentage d'inhibition de 53% de l'afflux d'éosinophiles par l'extrait d'*A. buettneri* (figure 31).

Le dosage ELISA des interleukines (IL)-4 et -5 dans le LBA montre que les taux de ces deux cytokines augmentent dans le LBA après provocation allergénique à l'OVA. L'extrait inhibe significativement la production d'IL-4 (figure 33). Par contre, aucune modification du taux d'IL-5 n'est observée (figure 32).

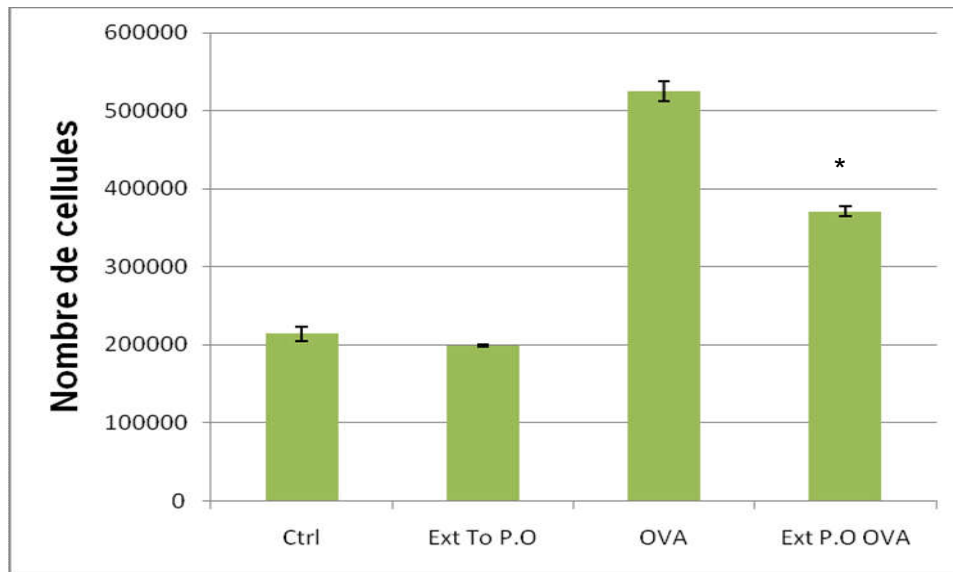


Figure 30 : Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur l'infiltration leucocytaire des bronches dans le modèle murin d'asthme.

Les cellules sont comptées dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire (LBA). Les résultats représentent les moyennes $\pm$ ESM cellulaires dans le LBA recueilli chez $n=5$ souris. * $P \leq 0,05$ (extrait d'*A. buettneri* chez la souris sensibilisée provoquée à l'OVA comparativement aux contrôles OVA). Ctrl : lot contrôle, Ext To P.O : lot sensibilisé et traité par l'extrait, OVA : lot sensibilisé et provoqué par l'antigène (ovalbumine), Ext P.O OVA : lot sensibilisé, provoqué par l'antigène et traité par l'extrait

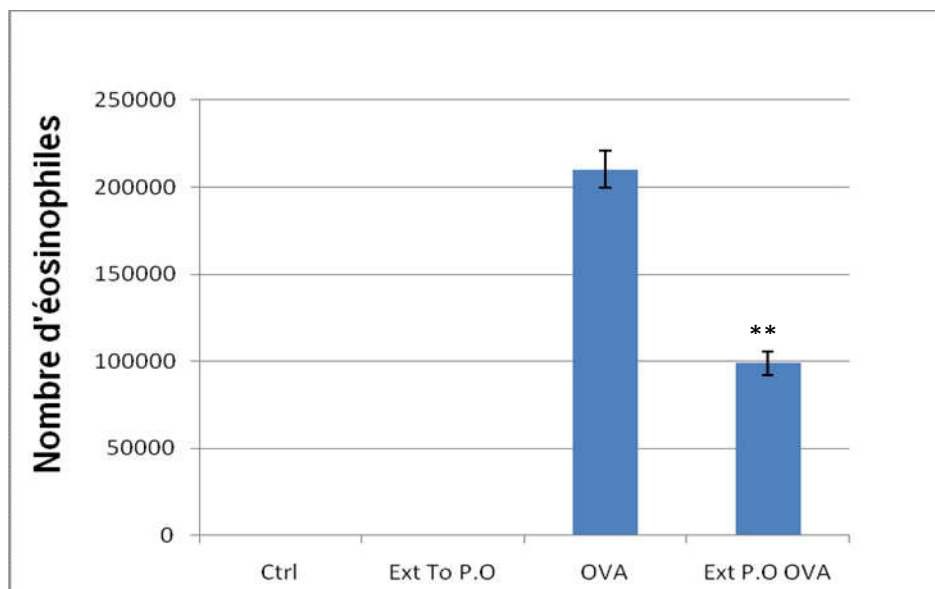


Figure 31 : Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur l'infiltration éosinophilique des bronches dans le modèle murin d'asthme.

Le comptage différentiel des cellules est effectué dans le liquide du lavage bronchoalvéolaire (LBA). Les résultats représentent les moyennes $\pm$ ESM des éosinophiles recueillis dans le LBA chez $n=5$ souris. ** $P \leq 0,01$ (traités comparés aux contrôles OVA)

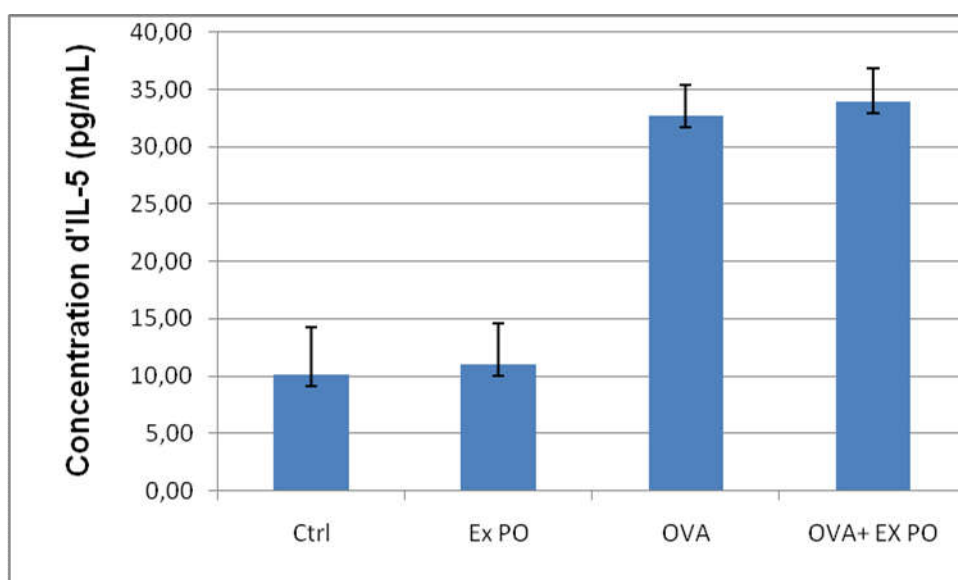


Figure 32 : Concentration d'IL-5 dans le LBA

Le dosage dans le LBA est fait par test ELISA. Les résultats représentent les moyennes $\pm$ ESM du LBA de 5 souris.

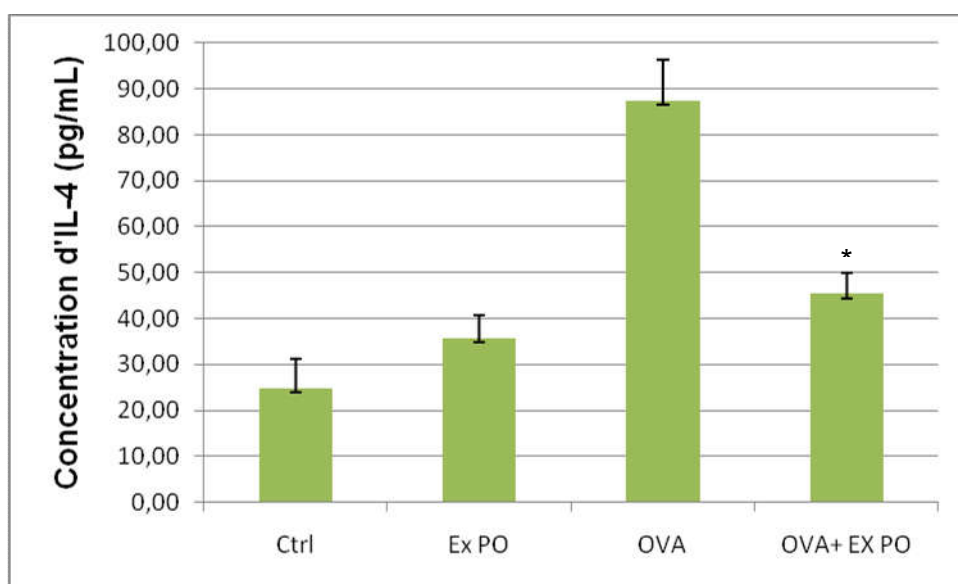


Figure 33 : Concentration d'IL-4 dans le LBA

Le dosage dans le LBA est fait par ELISA. Les résultats représentent les moyennes $\pm$ ESM du LBA de 5 souris. **P $\leq$ 0,01 (traités comparés aux contrôles OVA).

4.2.2- Cicatrisation de la blessure cutanée

L'application topique journalière du gel contenant l'extrait d'*A. buettneri* à 2,5 % stimule la cicatrisation cutanée chez les souris *balb/c* du même âge. La cicatrisation est évaluée par la diminution de la surface de la plaie. La différence entre les surfaces cicatrisées observées chez les témoins et les souris traitées est significative (ANOVA), et le test de bonferroni permet de visualiser la différence ($P < 0,05$) à partir du cinquième jour de traitement. La surface de la plaie qui était de l'ordre de $0,25 \pm 0,02$ cm² au jour J0 est passée à $0,17 \pm 0,03$ cm² chez le contrôle alors que chez le traité elle est de $0,09 \pm 0,01$ cm² au jour J9 (figure 34). La fermeture de la plaie est totale chez le lot traité au jour J11.

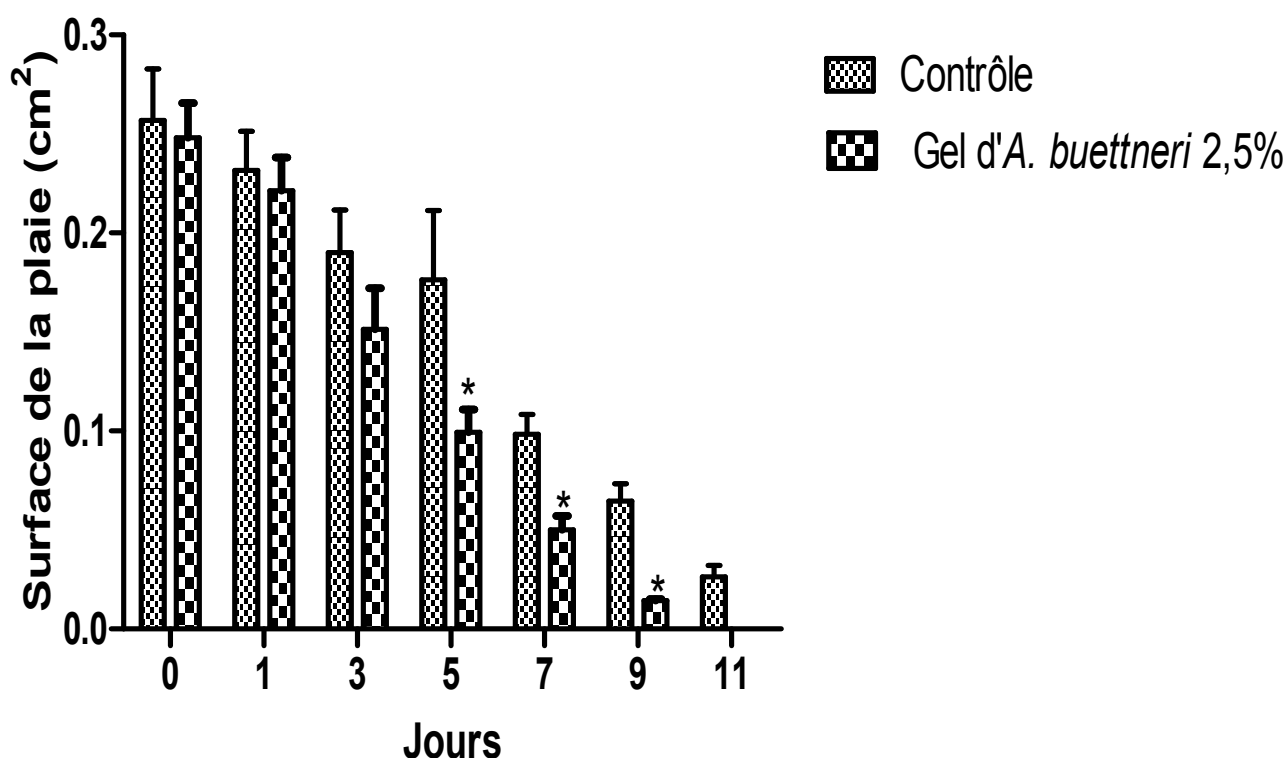


Figure 34 : Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur la cicatrisation de plaie cutanée chez la souris .

La plaie au dos de la souris est induite par excision cutanée de la peau . une application topique du gel de carbopol est faite une fois par jour sur la plaie. Les résultats représentent la moyenne $\pm$ ESM de la surface de la plaie chez 6 souris. * $P \leq 0,05$ (traités comparés aux contrôles)

Troisième chapitre : Effet antiulcéreux

I- Hypersécrétion gastrique.

1- Introduction

L'hyperchlorhydrie constitue un maillon incontournable de l'ulcérogenèse. On constate généralement une capacité sécrétoire acide en moyenne plus élevée chez les ulcéreux que chez les sujets normaux. Cette hypersécrétion peut être le résultat d'une régulation hormonale accrue due à la production excessive par les cellules entérochromaffines (ECL) de l'histamine ou à une stimulation vagale importante ou bien encore à une hypergastrinémie. L'objectif de cette partie est d'évaluer l'effet de l'extrait sur la sécrétion acide.

2- Expérimentation

2.1- Ulcère induit par l'acide acétique

L'ulcère est induit par application luminale dans le tube gastrique des rats wistar de l'acide acétique comme décrit par Cheng *et al.* (2004). Les rats wistar pesant entre 150 et 200g de poids corporel sont élevés à l'animalerie de la Faculté des sciences, Université de Lomé. Ils ont une alimentation standard, disposent permanemment d'eau et ont un cycle de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Ces rats serviront pour la suite des expériences. L'expérience est réalisée sur les rats à jeun pendant 24 h et qui sont subdivisés en 4 lots de 5 rats chacun. Ils reçoivent par gavage l'extrait (250, 500 mg/kg), l'eau ou le lansoprazole (30 mg/kg). Trente minutes après ils sont anesthésiés par l'éther. L'abdomen est excisé, l'estomac retiré et clampé aux niveaux du cardia et du pylore. 0,12 ml d'acide acétique (100%, E. Merck, Darmstadt, Allemagne) est injecté dans la séreuse de la portion clampé et à l'aide de seringue est retiré 45 s après. L'abdomen est alors suturé et les rats sont réintroduits dans la cage avec libre accès à la nourriture et l'eau. Huit heures plus tard, les rats sont sacrifiés après anesthésie à éthylcarbamate, l'estomac est prélevé, introduit dans une solution de formol à 10 % pendant 10 mn ensuite ouvert par la grande courbure et la dimension des lésions ulcéreuses est évaluée par planimétrie.

2.2- Effet de l'extrait sur le pH gastrique

Pour évaluer l'inhibition de la sécrétion acide induite par l'extrait, on travaille sur des rats à jeun depuis 24h (5 lots de 5 rats). L'extrait est administré par voie orale et deux

heures après ils sont sacrifiés l'estomac est prélevé et le pH du suc gastrique est mesuré à l'aide du pH-mètre.

2.3- Effet de l'extrait sur le volume de sécrétion et l'acidité gastrique

La méthode de 'Shay' rat est utilisée avec quelques modifications. Les rats sont mis à jeun 24 h avant le début de l'expérience. Quatre lots de 5 rats chacun est constitués. Ils reçoivent par gavage de l'extrait pour les lots traités, pour le lot contrôle de l'eau distillée et 30 mn après ils sont anesthésiés à l'uréthane. Une laparotomie est réalisée, l'estomac est isolé et ligaturé au niveau du pylore. Après ligature, l'abdomen est suturé. Quatre heures après les rats sont sacrifiés l'estomac prélevé, le liquide gastrique recueilli et mesuré. Ce liquide est ensuite centrifugé et le surnageant est titré avec le NaOH à 0.1N

2.4- Effet de l'extrait sur l'hyperchlorhydrie induite par l'histamine

La methode de Sadiq Yusuf *et al.* (2003). La cinétique de sécrétion acide est étudiée chez des rats à jeun depuis 24 h. Les rats à jeun sont anesthésiés à l'uréthane à la dose de 1g/kg b.w. L'œsophage et la trachée sont isolés et intubés. Une laparotomie est réalisée et l'estomac est intubé au niveau du pylore. L'abdomen est ensuite suturé. A l'aide d'une pompe péristaltique, l'estomac est perfusé avec le NaCl 9‰ à la vitesse de 1 ml/mn. Après 30 mn d'équilibration, le liquide de perfusion est recueilli à intervalle de 10mn pendant 2 H et titré par le NaOH à 0,1N. Vingt minutes après le début du prélèvement l'extrait ou le Nacl est injecté en intraveineux selon qu'il s'agit de contrôle ou de traité. L'hyperchlorhydrie est induite 20 mn plus tard par injection intraveineuse d'histamine (4 mg/kg). Quatre groupes de cinq rats sont constitués. Le groupe I, le groupe contrôle, reçoit 20 mn après le début du prélèvement du NaCl, 20mn plus tard du NaCl en intraveineux. Les groupes II (Histamine), III (extrait) et IV (cimétidine) reçoivent respectivement du NaCl, de l'extrait et de la cimétidine en injection i.v. 20 mn après le début du prélèvement et 20 mn plus tard une injection d'histamine.

3- Résultats

3.1- Inhibition de l'ulcère induit par l'acide acétique

0,12 ml d'acide acétique à 100% est injecté dans la séreuse de la paroi gastrique pendant 45 s. A la fin des 45 s il est retiré. Il induit les ulcérations de la muqueuse gastrique caractérisée par une abrasion de l'épithélium gastrique associé à une

nécrose ischémique. La dimension des lésions est de $13,60 \pm 0,51$ en unité arbitraire à raison de 25 mm^2 par unité arbitraire.

L'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*A. buettneri*, administré trente minutes avant l'induction de l'ulcère, inhibe significativement la lésion gastrique induite par l'acide acétique chez le rat wistar. La dimension des lésions gastriques est respectivement de $8,60 \pm 0,41$; $3,40 \pm 0,40$ et $8,80 \pm 0,37$ lorsque les rats sont traités respectivement par l'extrait d'*A. buettneri* à la dose de 250 et 500 mg/kg et la drogue de référence le lansoprazole à 30 mg/kg (figure 35).

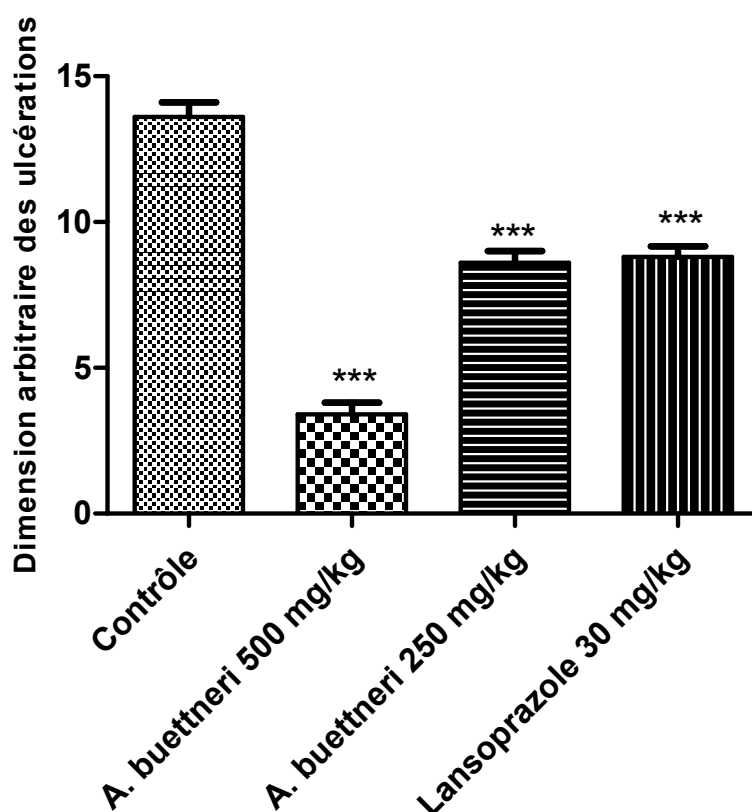


Figure 35: Effet de l'extrait d'*A. buettneri* administré par voie orale trente minutes avant l'induction de l'ulcère.

L'ulcère est induit par injection d'acide acétique (0,12 ml à 100%) dans la séreuse de l'estomac. Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. *** $P \leq 0,001$ (traités comparés aux contrôles)

3.2- Augmentation de pH gastrique

Le pH gastrique chez les rats contrôles est de $2,10 \pm 0,24$. L'administration de l'extrait 2 h auparavant induit une augmentation du pH gastrique. Chez les rats traités par l'extrait à la dose de 500 mg/kg le pH gastrique est passé de $2,10 \pm 0,24$ à $3,60 \pm 0,40$ (figure 36).

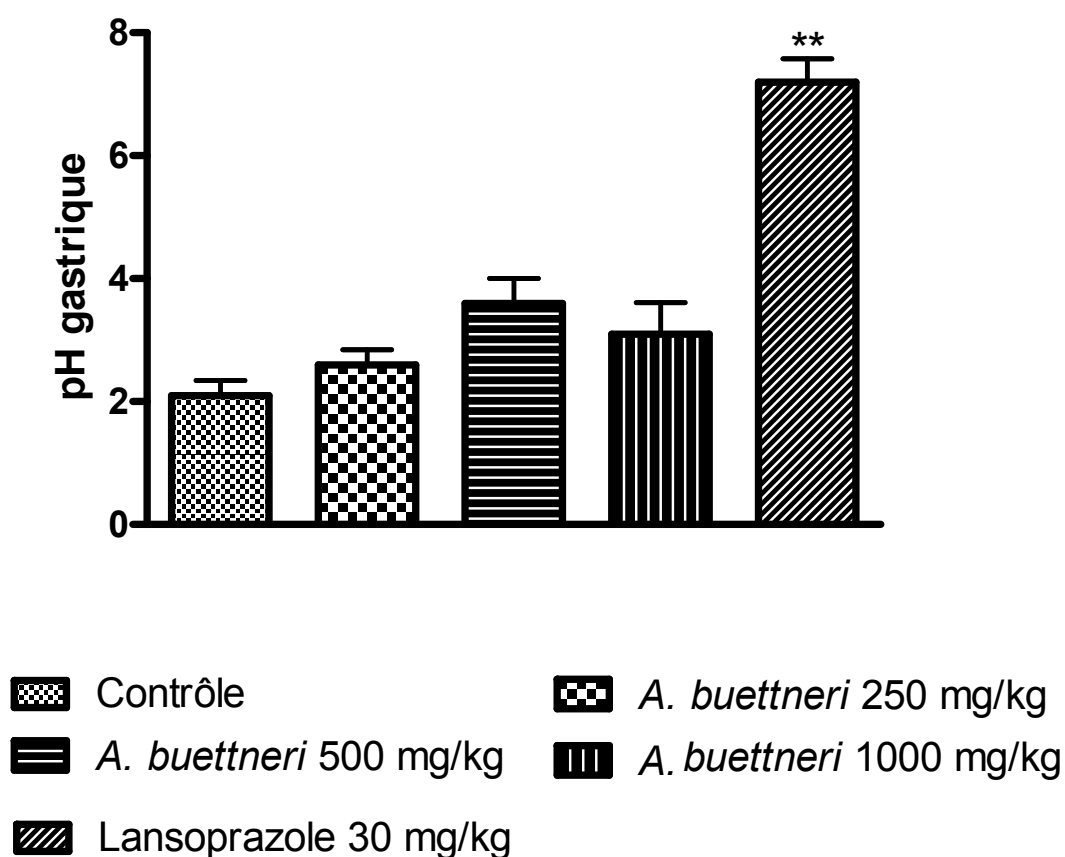


Figure 36 : Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur le pH gastrique

Le pH gastrique est mesuré par un pH mètre (papier pH) après 2 h de traitement par l'extrait d'*A. buettneri*. Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. ** $P \leq 0,01$ (traités comparés aux contrôles)

3.3- Diminution du volume et de l'acidité gastrique

Les résultats du tableau n°1 montrent que l'extrait induit une diminution du volume de la sécrétion gastrique tout comme une diminution de la production de HCl gastrique. Chez les rats témoins le volume de la sécrétion est de $0,56 \pm 0,04$ ml alors qu'il est de $0,24 \pm 0,04$ ml chez les rats traités à 500 mg/kg d'extrait. La production gastrique de HCl est inhibée par l'extrait de façon significative ($P \leq 0.05$) à la dose de 500 mg/kg.

Tableau 1: Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur le volume de la sécrétion et l'acidité gastrique

Traitement	Volume gastrique (ml)	Acidité gastrique (μmol)
Contrôle	$0,56 \pm 0.04$	$22,50 \pm 2.17$
Extract 500 mg/kg	$0,24 \pm 0.04^{**}$	$11,66 \pm 0.33^*$
Extract 250 mg/kg	$0,35 \pm 0.03$	$16,33 \pm 2.40$
Lansoprazole 30 mg/kg	$0,31 \pm 0.08^*$	$15,33 \pm 0.88$

La méthode de ligature du pylore est utilisée. Les résultats représentent les moyennes $\pm$ ESM de 5 rats.
* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$ (traités comparés aux contrôles)

3.4- Inhibition de l'hyperchlorhydrie induite par l'histamine

L'acidité gastrique des rats oscille en moyenne entre 8 et 9 $\mu\text{mol}/10$ mn chez les rats contrôles pendant les 2H d'expérience. Cette acidité basale est restée presque constante et n'est pas modifiée par l'administration d'extrait d'*A. buettneri* à 500 mg/kg. L'injection intraveineuse de l'histamine à 4 mg/kg, 20 mn plus tard à ce groupe de rats ne modifie pas non plus l'acidité gastrique basale. L'injection de l'histamine chez les rats du groupe II (qui ont reçu le NaCl 20 mn après le début de l'expérience) induit une augmentation significative de l'acidité gastrique ($P < 0,001$). L'acidité gastrique qui est de $7,80 \pm 0,86$ passe à $11,40 \pm 1,20$ μmol après 10 mn et atteint le maximum à $20,20 \pm 2,65$ μmol après 50 mn avant de chuter jusqu'à $15 \pm 2,07$ μmol à la fin des 2 heures d'expérience. Le pic induit par l'injection d'histamine chez ces rats est rapidement décapité par le traitement d'*A. buettneri* chez les rats qui ont reçu l'injection intraveineux de l'extrait avant l'injection d'histamine (figure 37).

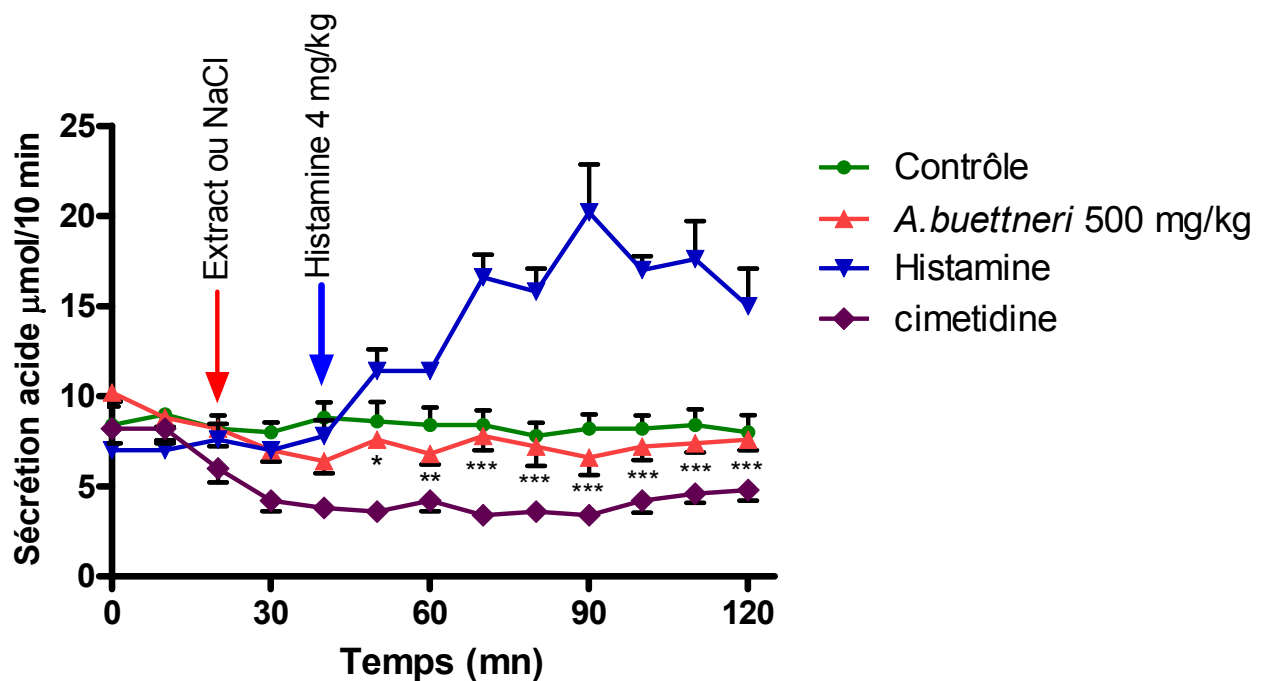


Figure 37 : Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur l'hyperchlorhydrie induite par l'histamine (4 mg/kg)
 La cinétique de la sécrétion acide est étudiée par perfusion gastrique. L'hyperchlorhydrie est induite par injection intraveineuse d'histamine à la dose de 4 mg/kg du poids corporel. Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$ (Histamine vs *A. buettneri* 500 mg/kg)

II- La gastroprotection

1- Introduction

Si la sécrétion chlorhydro-peptique est nécessaire pour provoquer l'ulcère, elle n'est généralement pas suffisante. La défense opposée par la muqueuse doit être en outre débordée, amoindrie ou inadaptée à un excès de sécrétion. En effet la muqueuse gastrique est exposée de façon permanente à des agressions exogènes (microbes, bactéries, produits chimiques) et endogènes (HCl et pepsinogène) et élabore des mécanismes de défenses naturelles. Parmi ces moyens de défense, on note la sécrétion du mucus gastrique, l'intégrité de l'épithélium, la régulation du flot sanguin. Ainsi l'effet de l'extrait dans la gastroprotection est évalué sur la production du mucus, les paramètres régulant cette production. L'effet de l'extrait est également évalué sur le stress oxydatif qui joue un rôle néfaste dans le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastroduodénale.

2- Expérimentation

2.1- Induction de l'ulcère par éthanol

L'ulcère gastrique est induit chez les rats 'wistar' selon la méthode de Galati et *al.* (1999). Les rats sont mis à jeun vingt quatre heures avant le début de l'expérience. Cinq lots de cinq rats chacun sont constitués. Trente minutes avant l'induction de l'ulcère les rats reçoivent par gavage l'extrait (250, 500, 1000 mg/kg) pour les traités, de l'eau distillée pour le lot contrôle et de lansoprazole (30 mg/kg) pour le lot de référence. L'ulcère est induit par administration orale aux rats de l'éthanol 95° à la dose de 1 ml/100g de poids corporel. Deux heures après l'induction les rats sont anesthésiés par une dose forte d'anesthésie (Ethylcarbamate) puis sont sacrifiés par dislocation de la vertèbre cervicale, l'estomac est prélevé et introduit dans une solution de formol à 10% pendant dix minutes. Il est ensuite ouvert par la grande courbure et la dimension des ulcérations est évaluée par planimétrie.

2.2- Dosage du mucus gastrique

Pour évaluer l'effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur la production du mucus gastrique la méthode de Tan et *al.* (2006) est utilisée. Les lots de rats sont constitués comme au préalable. L'extrait est administré par voie orale aux rats à jeun depuis 24h. Deux heures après ils sont sacrifiés comme précédemment, l'estomac est prélevé et ouvert. Le mucus est gratté à l'aide d'une spatule. Le produit obtenu est ensuite placé dans

un tube à essai contenant 4 ml d'eau distillée et pesé. Le poids du mucus est alors calculé par la formule suivante $P = B - A$

A= poids du tube contenant 4ml d'eau et B= poids du tube contenant 4 ml d'eau + mucus

2.3- Action de l'extrait sur l'ulcère gastrique potentialisé par L-NAME

La méthode de Maria et *al.* (1998) est utilisée. Les rats sont mis à jeun depuis 24H et privés d'eau 19 h avant le début de l'expérience. Six lots de 5 rats chacun sont constitués. L'ulcère est induit par l'éthanol 95° à la dose de 1 ml/100g de poids corporel chez des rats prétraités par le N(G)-nitro-L-arginine-méthyl ester (L-NAME) comme suit :

Groupe I, le groupe placebo, a reçu une solution saline (i.v.) et d'eau distillée (oralement), respectivement 45 et 30 mn avant l'induction de l'ulcère.

Groupe II, a reçu une solution saline (iv) et 500 mg / kg d'extrait *A. buettneri* (oralement), respectivement 45 et 30 mn avant l'induction de l'ulcère.

Groupe III a reçu de L-NAME 40 mg / kg (iv) et d'eau distillée (oralement), respectivement 45 et 30 mn avant l'induction de l'ulcère.

Groupe IV et V ont reçu L-NAME dans les mêmes conditions et l'extrait d'*A. buettneri* (oralement) à 250 et 500 mg / kg respectivement 30 minutes avant l'administration d'éthanol.

Groupe VI a été traité par L-NAME, comme indiqué précédemment et L-arginine (iv) à 400 mg / kg immédiatement avant l'injection de L-NAME.

Deux heures après l'induction de l'ulcère par l'éthanol 95°, les rats sont sacrifiés, l'estomac prélevé, traité comme indiqué ci-dessus et la dimension des lésions ulcéreuses est évaluée par planimétrie.

2.4- Action de l'extrait sur l'ulcère gastrique potentialisé par l'indométacine

L'ulcère est induit chez des rats prétraités par l'indométacine 4 h auparavant. Les rats mis à jeun la veille et sont subdivisés en quatre groupes de cinq rats.

Le groupe I, le groupe contrôle reçoit du NaCl (i.p) et d'eau (par voie orale) respectivement 4 h et 30 mn avant l'induction d'ulcère.

Le groupe II, reçoit du NaCl (i.p) et d'extrait à 500 mg/kg (par voie orale) respectivement 4 h et 30 mn avant l'induction d'ulcère.

Les groupes III et IV sont traités comme précédemment mais reçoivent à la place du NaCl de l'indométacine (300mg/kg) et 30 mn avant l'induction d'ulcère, de l'eau pour le groupe III, de l'extrait à 500 mg/kg pour le groupe IV. Deux heures après l'induction de l'ulcère les rats sont sacrifiés et la dimension des ulcérations est évaluée par planimétrie comme indiqué préalablement.

2.5- Effet antioxydant

2.5.1- Test au DPPH

Principe : Le radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur bleue intense bien caractéristique. Les antioxydants présents dans l'échantillon le réduisent ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.

Mise en œuvre : Une solution de DPPH est préparée à 100 mmol/l. La préparation est exacte si la lecture de la densité optique (DO) faite à 517 nm donne une absorbance qui se situe entre 1,03–1,035 (Kavegue *et al.* 2007). Six points de gamme (allant de 0 à 32 µg/ml) de quercetine dilués dans le méthanol sont préparés. L'extrait est aussi préparé à différentes concentrations dans le méthanol. A 1,5 ml de DPPH on ajoute 0,25 ml d'extrait ou de point de gamme de quercetine. Le point 0 jouant le rôle de blanc-réactif est un mélange de 1,5 ml de DPPH et de 0,25 ml du méthanol. Le mélange est rigoureusement secoué pendant 10 minutes et l'absorbance est lue à 517 nm. Pour chaque concentration, on a réalisé 3 replicats. Le pourcentage d'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous : Pourcentage d'inhibition = $\frac{\text{Absorbance initiale} - \text{Absorbance échantillon}}{\text{Absorbance initiale}} \times 100$

2.5.2- Test au AAPH 'ex vivo'

Principe : Le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochlorure (AAPH) est un initiateur chimique de l'oxydation lipidique qui, porté à 37 °C, produit un radical AAP° qui en milieu oxygéné produit un radical peroxy AAPOO°. La décomposition thermique de ce composé génère des radicaux libres à vitesse constante qui attaque la membrane des globules rouges en réagissant avec les acides gras (RH) donneur d'hydrogène. La membrane des globules rouges éclate et l'hémoglobine se retrouve dans le surnageant. Le suivi de l'hémolyse se fait par spectrophotométrie à 540 nm. L'ajout dans le milieu d'incubation de molécules ou d'extraits à activité antioxydante retarde l'apparition de l'hémolyse. L'analyse se fait en triplicate. La méthode est étalonnée en

fonction de concentrations connues en acide ascorbique ajoutées dans le milieu d'incubation.

Mise en œuvre : Du sang prélevé au niveau du sinus retro-orbital des rats wistar dans les tubes NFS (5-6 ml/rat) est centrifugé à 1500 tours/min pendant 10 minutes et le culot de globules rouges résultant est lavé trois fois avec 5 volumes du PBS (pH= 7,2) chaque fois. Au cours du dernier rinçage les tubes sont centrifugés à 3000 tours/mn pendant 10 minutes. Le culot obtenu après ce dernier rinçage est dilué dans 4 volumes du PBS. Six points de gamme allant de 0 à 500 µg/ml d'acide ascorbique sont préparés. L'extrait dissout dans le PBS est préparé à des concentrations allant de 100µg/ ml à 1500 µg/ml. Des tubes remplis de 0,5 ml de suspension d'hématies sont préparés. On ajoute à cette suspension 0,5 ml de chaque concentration d'extrait ou de points de gamme d'acide ascorbique. Au mélange on ajoute ensuite 0,5 ml d'AAPH et le tout est incubé pendant 3 h à 37°C. A l'issue de l'incubation le mélange est centrifugé à 3000 tours/mn pendant 5 minutes. L'absorbance du surnageant est lue à 540 nm. Le blanc est constitué de 1.5 ml de PBS et le contrôle positif de 1,5 ml du mélange PBS, AAPH, suspension d'hématies à la proportion de 1/3 chacun. Le pourcentage d'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous : Pourcentage d'inhibition = Absorbance initial (AAPH) – Absorbance échantillon / Absorbance initial x100

3- Résultats

3.1- Inhibition de l'ulcère induit par éthanol

Ethanol 95° à la dose de 1ml/ 100g de poids corporel induit les ulcérations de la muqueuse gastrique. C'est une lésion caractérisée par une abrasion de l'épithélium gastrique associée à une nécrose ischémique. La dimension des lésions est de $16 \pm 0,83$ en unité arbitraire à raison de 25 mm² par unité arbitraire.

L'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*A. buettneri*, administré trente minutes avant l'induction de l'ulcère, inhibe la lésion gastrique induite par l'éthanol chez le rat wistar (figure 38). Cette inhibition est respectivement de 23.75%, 33,75% à la dose de 250 et 500 mg/kg. Le lansoprazole, la drogue de référence induit une inhibition de 41.25%.

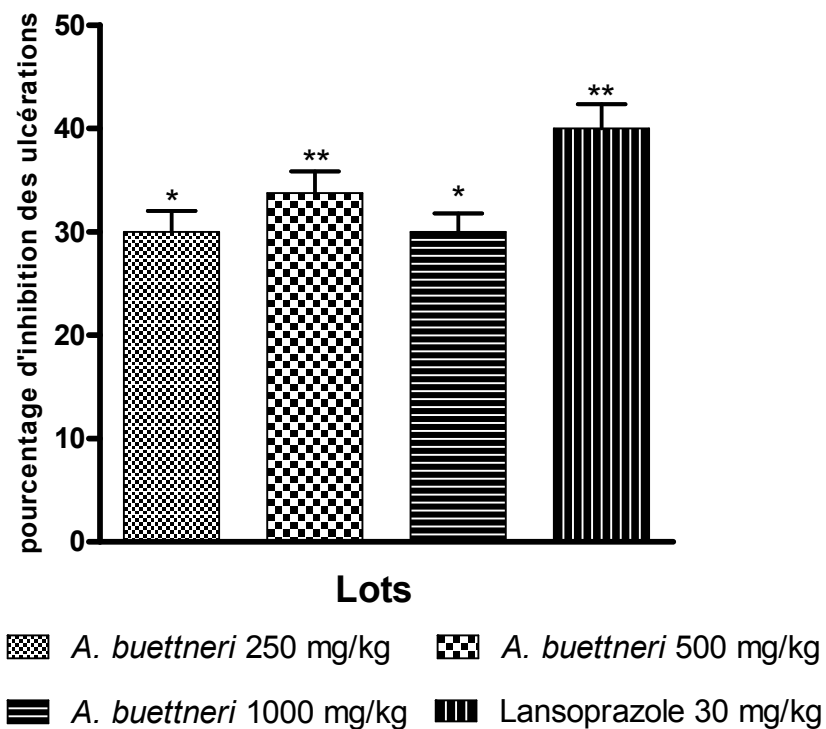


Figure 38: Effet de l'extrait d'*A. buettneri* administré trente minutes avant l'induction de l'ulcère par éthanol.

L'ulcère est induit par gavage d'éthanol 95 à 1ml/100g de poids corporel.

Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. Le pourcentage d'inhibition est calculé par rapport à la dimension des ulcérations chez le contrôle. ** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$ (traités comparés aux contrôles)

3.2- Stimulation de la production du mucus gastrique

L'extrait stimule la production du mucus gastrique chez les rats wistar à la dose de 250 et 500 mg/kg (figure 39). A ces doses le pourcentage d'augmentation de la production du mucus est respectivement de 245,71% et 497,14%. Une différence significative ($P < 0,05$) est observée entre les rats traités par l'extrait à la dose de 500 mg/kg et le contrôle.

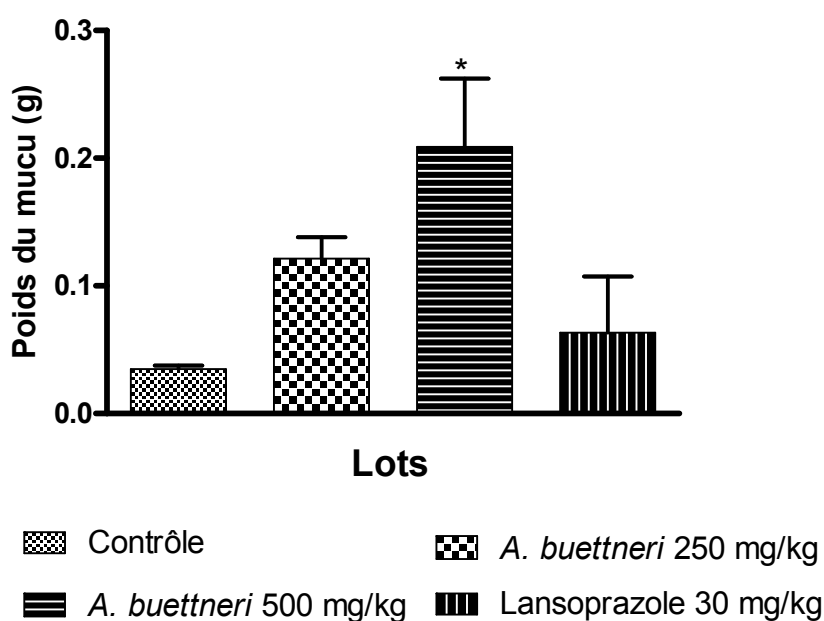


Figure 39: Effet de l'extrait d'*A. buettneri* sur la production du mucus

Le mucus gastrique produit après 2H de traitement par l'extrait d'*A. buettneri* est prélevé et pesé. Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. * $P \leq 0.05$ (traités comparés aux contrôles)

3.3- Potentialisation de l'ulcère par L-NAME et inhibition de l'ulcère par l'extrait

Le prétraitement des rats par le N(G)-nitro-L-arginine-méthyl ester (L-NAME) inhibiteur de la mono oxyde synthase (NOSc) potentialise l'ulcère induit par éthanol 95° à la même dose comme précédemment (figure 40). La dimension des ulcérations est passée de $15,40 \pm 0,40$ chez le contrôle à $19,20 \pm 0,20$ chez les rats prétraités par le L-NAME soit un pourcentage d'augmentation de 24,67 %. La potentialisation des ulcérations est significative ($P \leq 0,05$). L'administration de l'extrait d'*A. buettneri* inhibe significativement ($P \leq 0,001$) l'ulcère potentialisé par le prétraitement de L-NAME. La dimension des ulcérations est respectivement de $13,80 \pm 1,06$ et $9 \pm 0,83$ lorsque la dose d'extrait administrée est de 250 et 500 mg/kg. La L-arginine un donneur de Mono oxyde d'azote inhibe également la lésion induite par l'éthanol chez les rats prétraités par le L-NAME. La dimension des ulcérations est cette fois ci de $5,40 \pm 0,40$ unité arbitraire.

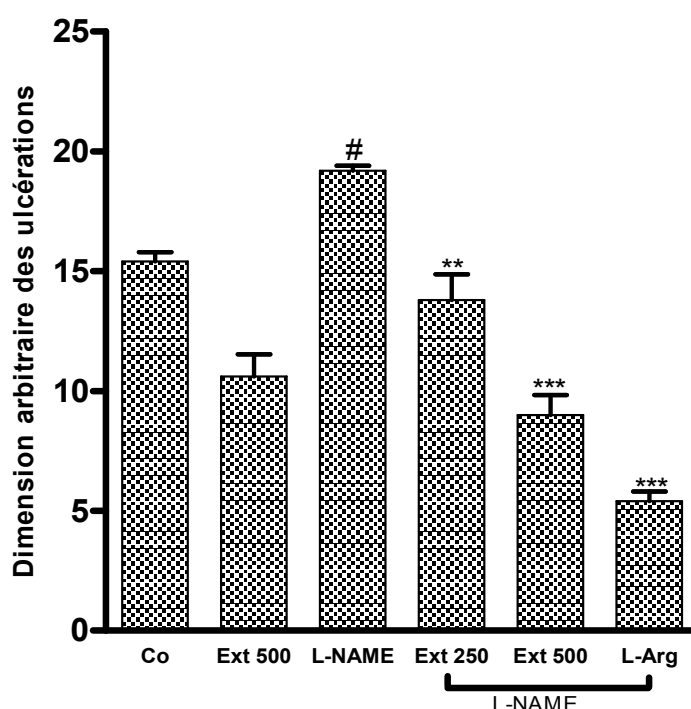


Figure 40 : Effet de l'extrait sur l'ulcère induit par l'éthanol chez des rats prétraités par L-NAME

Les rats sont prétraités par injection (iv) de L-NAME 45 mn et par administration d'extrait 30 mn avant l'induction d'ulcère. Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$ (traités comparés aux contrôles), # $P \leq 0,05$ (L-NAME comparé aux contrôles)

3.4- Potentialisation de l'ulcère par prétraitement d'indométacine

Le traitement des rats par l'indométacine à la dose de 300 mg/kg 4H avant l'induction potentialise l'ulcère induit par éthanol (figure 41). On note une augmentation significative ($P \leq 0,01$) de la dimension des ulcérations. De $15,40 \pm 0,40$ chez le contrôle la dimension des ulcérations est passée à $20,20 \pm 1,20$ chez les rats prétraités par l'indométacine, soit une augmentation de 31,16% (Figure 41). L'administration de l'extrait d'*A. buettneri* trente minutes avant l'induction de l'ulcère chez les rats prétraités par l'indométacine inhibe significativement ($P \leq 0,001$) la lésion muqueuse. La dimension de la lésion est de $10,83 \pm 0,83$ lorsque les rats sont traités par l'extrait à la dose de 500 mg/kg.

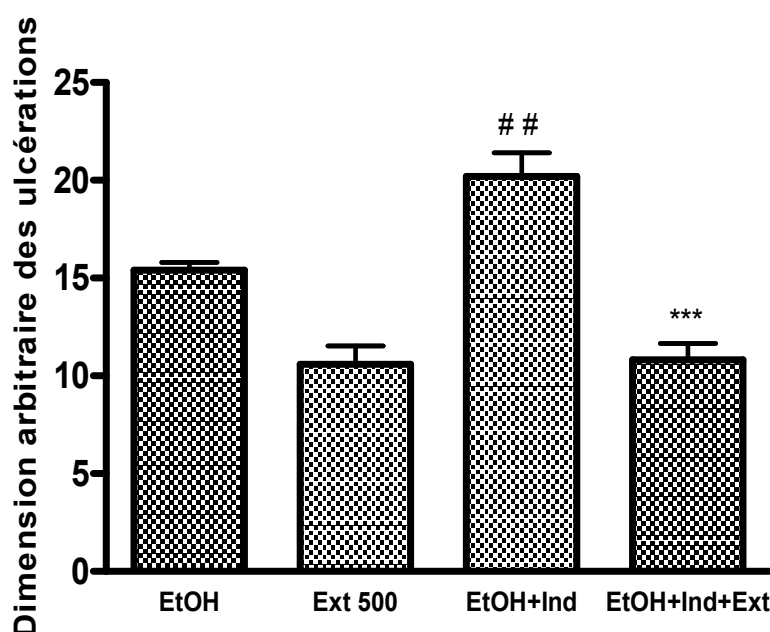


Figure 41 : Effet de l'extrait sur l'ulcère induit par l'éthanol chez des rats prétraités par l'indométacine

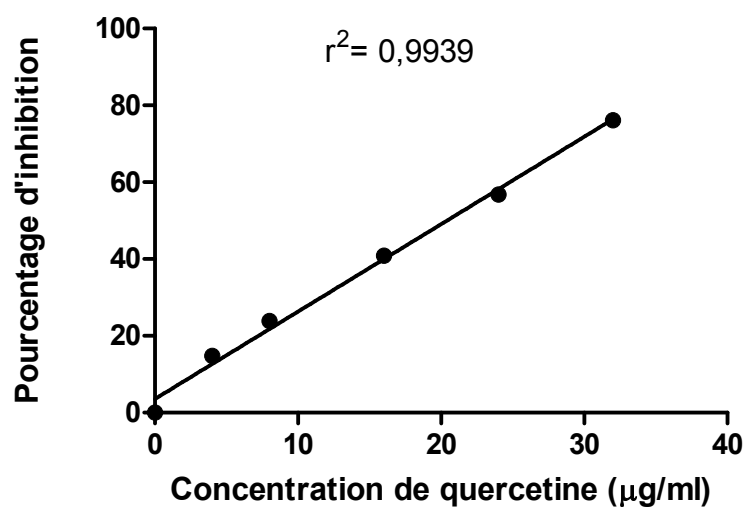
Les rats sont prétraités par administration d'indométacine 4H et d'extrait 30 mn avant l'induction d'ulcère. Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ E.S.M de lots de cinq rats. *** $P \leq 0,001$ (traités comparés aux contrôles), ## $P \leq 0,01$ (L-NAME comparé aux contrôles)

3.5- L'effet antioxydant

L'effet antioxydant de l'extrait est évalué de deux façons différentes. L'extrait a montré son effet antiradicalaire *in vitro*. Le test de DPPH *in vitro* en utilisant la quercetine comme produit de référence a permis de déterminer la CI_{50} de l'extrait qui est de 10mg/ml (figure 42 a et b).

L'effet antioxydant de l'extrait est aussi étudié 'ex vivo' en évaluant son effet dans la lipoperoxydation membranaire des hématies. Le test AAPH effectué en utilisant l'acide ascorbique comme produit de référence a permis de déterminer la CI_{50} de l'extrait qui est de 1mg/ml (figure 43 a et b).

a)



b)

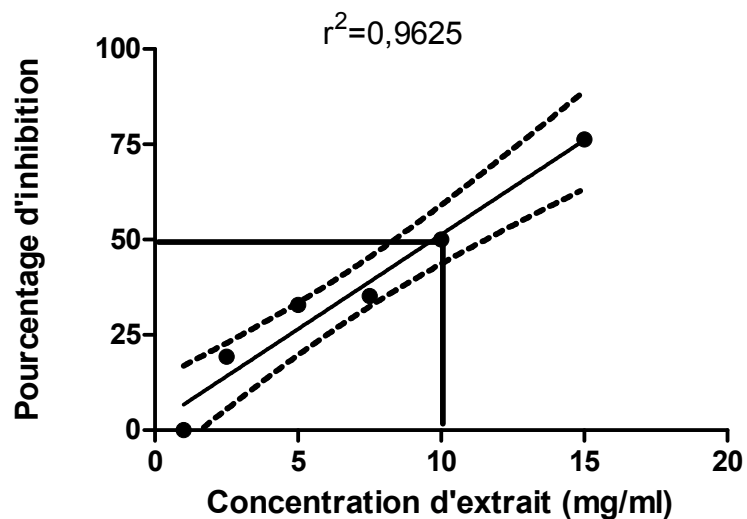
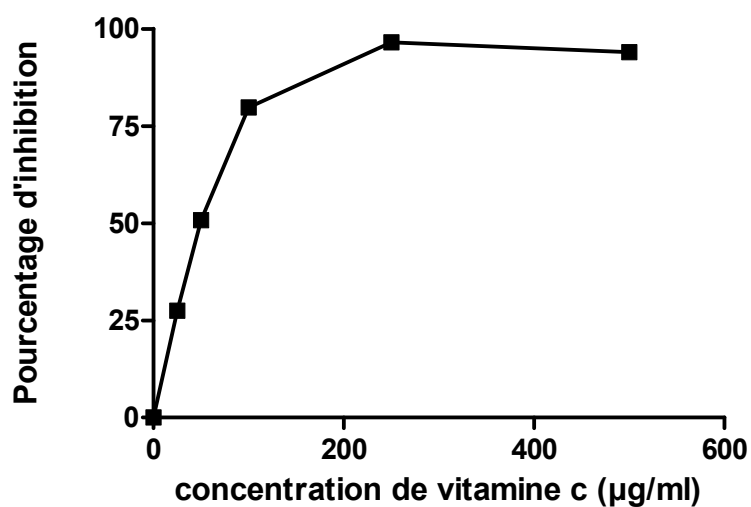


Figure 42 : Effet antioxydant de quercetine (a) utilisé contrôle positif et de l'extrait d'*A. buettneri* (b).

Le test antioxydant est réalisé in 'vitro' en utilisant le radical DPPH

a)



b)

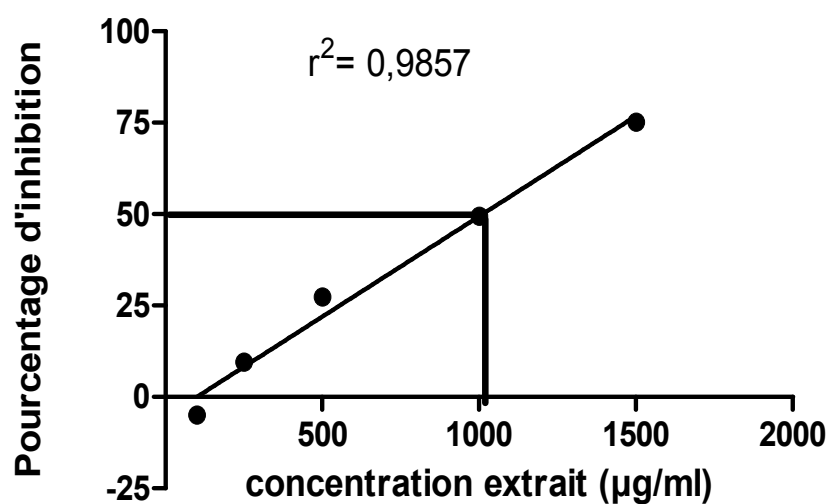


Figure 43 : Effet antioxydant d'acide ascorbique (a) utilisé contrôle positif et de l'extrait d'*A. buettneri* (b).

Le test antioxydant est réalisé ex 'vivo' en utilisant le radical AAPH

Quatrième chapitre : Etude phytochimique

I- Etude phytochimique

1.1- Collecte des plantes étudiées

Le matériel végétal utilisé est la feuille d'*Aloe buettneri* A. Berger. Les feuilles d'*A. buettneri* ont été récoltées dans la zone de VOGAN située environ à 50 Km au Nord-Est de Lomé (Togo). La récolte a été réalisée en saison pluvieuse durant le mois d'avril. Les plantes d'*Aloe* ont été déterrées. Ces plantes sont identifiées par le Laboratoire de Botanique de l'Université de Lomé (Togo) et ont été ensuite repiquées dans le jardin botanique à la Faculté des Sciences. Un échantillon de l'espèce est déposé à l'herbarium du Laboratoire de botanique sous le numéro 'UL-MET 001'.

Ce sont les feuilles de ces plants de l'université de Lomé qui ont été régulièrement prélevées, lavées à grande eau, séchées sous climatisation et réduites en poudre pour les besoins de l'étude.

1. 2- Extraction et fractionnement

1.2.1- Extraction

Quatre cents cinquante gramme (450 g) de poudre de feuilles séchées sous climatisation ont été extraits par macération dans 4 L d'un mélange éthanol : eau distillée (50: 50 v/v), sous agitation manuelle régulière pendant 72 heures. Après 72 heures, l'ensemble est filtré sur coton hydrophile puis sur papier filtre (Wattman). Le filtrat obtenu est ensuite évaporé à sec sous vide à 45°C à l'aide d'un rotavapor R114. L'extrait obtenu est une pâte de couleur brune, soluble dans l'eau. Le rendement d'extraction est de 24,25%.

1.2.2- Fractionnement

La technique utilisée pour le suivi des activités biologiques de l'extrait hydro-alcoolique total est le bio-guidage. Ainsi, l'extrait hydro-alcoolique a été fractionné sur gel de Sephadex LH20 (Sigma). La colonne utilisée est une colonne ouverte en verre (longueur 54 cm, diamètre 4 cm) remplie de Sephadex LH20 préalablement équilibré dans 46 mL de méthanol à une hauteur de 30 cm.

Pour le fractionnement, 3 g d'extrait sec ont été dissous dans 8 mL de méthanol/eau (5 : 3 v/v), puis déposés à la surface du gel. La phase mobile utilisée pour l'élution est le méthanol, suivi d'un gradient méthanol / eau pour finir avec de l'acétone / eau (50 / 50), pour le lavage à un débit de 2,4 mL/mn. Le premier recueil correspond aux 46 mL de méthanol ayant servi à équilibrer le gel ; ceci est suivi par la collection de

fractions de 10 mL d'éluat. Après analyse des profils par chromatographie sur couche mince (CCM) de chacune de ces 71 fractions suivant les conditions décrites en 1.4.1, les fractions ayant montré des profils chimiques appartenant à la même famille ont été regroupées pour obtenir au final 7 fractions.

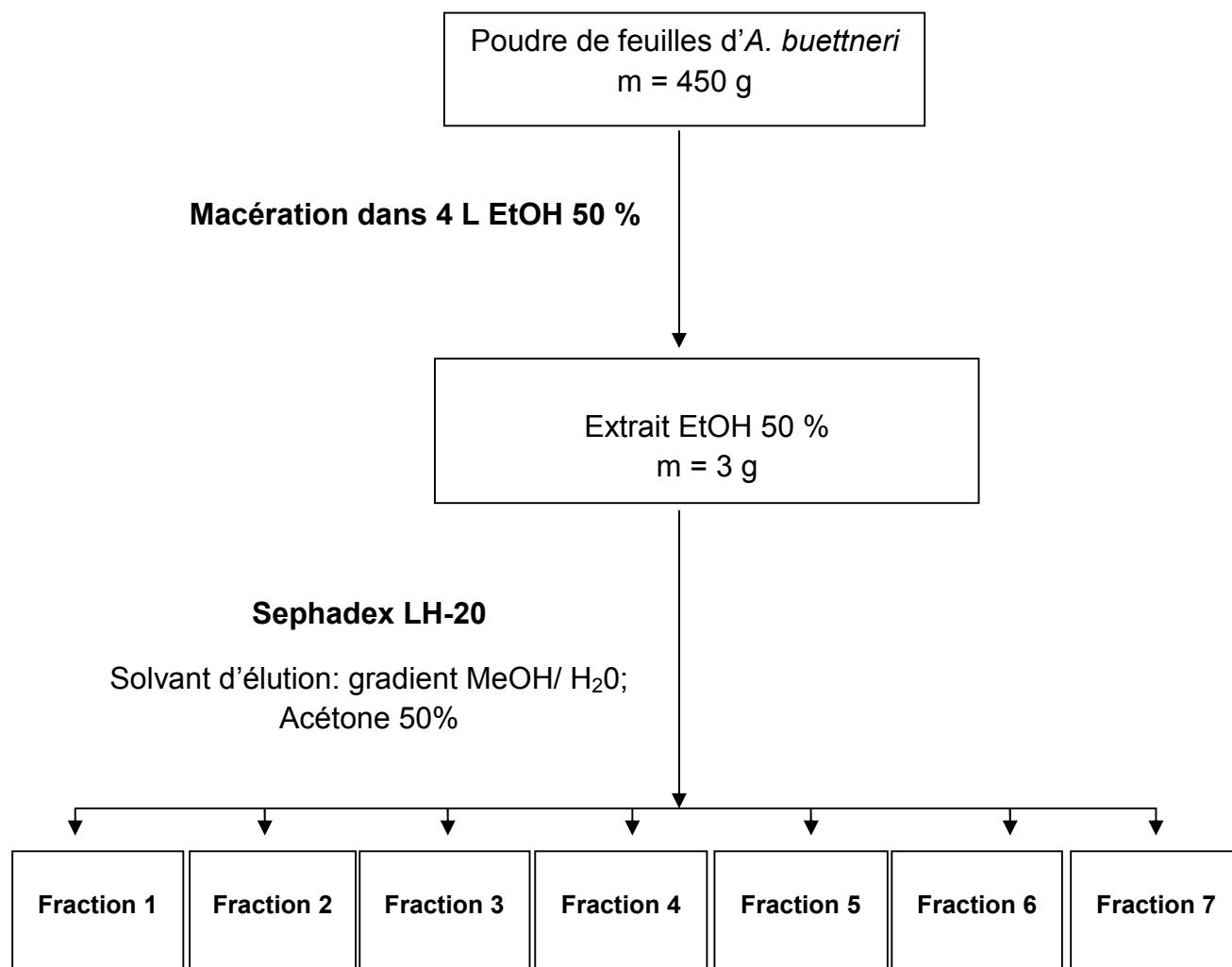


Figure 44: Résumé du protocole d'extraction et de fractionnement de l'extrait d'*A. buettneri*

1. 3- Analyse qualitative préliminaire et détermination quantitative

1.3.1- Analyse qualitative

Pour les besoins de l'étude, un criblage chimique préliminaire a été réalisé sur l'extrait hydro-alcoolique afin de vérifier la présence des grands groupes chimiques. Pour ce faire, une analyse qualitative préliminaire de l'extrait hydro-alcoolique brut d'*A. buettneri* a été effectuée au cours de nos travaux en DEA (diplôme d'étude

approfondie) et a révélé la présence de polyphénols (tannins et flavonoïdes) et d'alcaloïdes (Metowogo *et al.* 2008).

1.3.2- Détermination quantitative

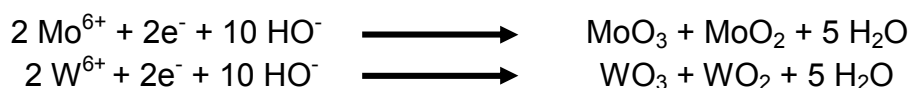
1.3.2.1- Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux de l'extrait hydroalcoolique de feuilles d'*A. buettneri* ont été quantifiés en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu.

Principe de l'essai:

Cet essai est basé sur une réaction d'oxydo-réduction utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

L'oxydation se fait suivant la réaction ci-après :



Durant le test, en présence de composés phénoliques, les fonctions phénols de ces derniers sont oxydées par le réactif de Folin donnant un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). Cette variation de coloration du jaune au bleu pourpre est proportionnelle à la quantité de polyphénols de l'extrait. Elle est évaluée par mesure de l'absorbance à 765 nm.

Mode opératoire :

L'extrait (50 mg) est dilué dans 5 mL de mélange méthanol : eau (1 :1) pour obtenir une absorbance finale comprise entre 0,5 et 1. Une gamme étalon est obtenue à l'aide d'acide gallique dissous dans le même solvant (6 points de concentrations de 0 à 0,25 mg/mL).

Pour le dosage, 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans un mélange méthanol-eau) sont ajoutés à 0,25 mL d'extrait dilué ou de solution de la gamme d'acide gallique. On ajoute ensuite 2 mL de Na_2CO_3 (carbonate de sodium) à une concentration de 1 M. Dans le « blanc » de la réaction, 0,25 mL du solvant de solubilisation est utilisé à la place de l'acide gallique ou de l'extrait à étudier. La valeur obtenue est considérée comme étant le point 0 mg/mL de la gamme.

Le mélange réactionnel, correspondant à chaque solution de la gamme d'étalonnage d'acide gallique ou de chaque échantillon à doser, est agité puis laissé 15 min au repos à température ambiante. La lecture de l'absorbance est faite en triple pour chacun des échantillons à 765 nm grâce à un spectrophotomètre d'absorption moléculaire à cuve (Pierron).

La concentration moyenne des polyphénols présents dans l'extrait végétal est exprimée en mg équivalent acide gallique/gramme d'extrait à l'aide de l'équation de la droite de calibration de l'acide gallique.

1.3.2.2- Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes contenus dans les polyphénols totaux précédemment dosés ont été quantifiés grâce à la méthode utilisant le chlorure d'aluminium.

Principe :

La présence d'une lacune électronique sur le chlorure d'aluminium (AlCl_3) (incolore) permet la formation d'une liaison covalente entre les doublets libres de l'oxygène et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes, produisant un complexe de couleur jaune. C'est cette variation de coloration proportionnelle à la quantité de flavonoïdes en solution qui est déterminée par mesure de l'absorbance à 415 nm.

Mode opératoire :

L'extrait est dissous dans l'eau et préparé à la même concentration que celle utilisée pour le dosage des phénols totaux. Une gamme étalon est préparée avec 6 concentrations de quercétol (1 à 100 $\mu\text{g/mL}$) en utilisant comme solvant de solubilisation de l'eau distillée. Pour le dosage, 1,2 mL de méthanol est ajouté à 0,400 mL d'extrait dilué ou de solution de la gamme de quercétol. Le chlorure d'aluminium à 10% (0,080 mL) est ajouté puis l'acétate de sodium 1M (0,080 mL) et la solution est complétée à 4 mL avec de l'eau distillée. Dans le blanc de la réaction, 0,400 mL du solvant de solubilisation (eau distillée) est utilisé à la place du quercétol. La valeur obtenue est considérée comme le point 0 mg/mL de la gamme étalon.

Le mélange réactionnel, correspondant à chaque solution de la gamme d'étalonnage de quercétol ou de chaque échantillon à doser, est agité puis laissé 30 min au repos à température ambiante. La lecture de l'absorbance est faite en triple pour chacun des échantillons à 415 nm grâce à un spectrophotomètre d'absorption moléculaire à cuve (Pierron). La concentration moyenne des flavonoïdes présents dans l'extrait végétal

est exprimée en mg équivalent quercétol/ g d'extrait à l'aide de l'équation de la droite de calibration de l'acide gallique.

1. 4- Analyse chromatographique

1.4.1- Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'extrait total hydroalcoolique de même que ses fractions enrichies ont été analysées par CCM (chromatographie sur couche mince). Les plaques utilisées comme phase stationnaire sont des plaques de silice (en aluminium) de chez Merck. Durant toute l'étude, différentes phases mobiles ont été utilisées selon le(s) extrait(s) étudié(s) à savoir :

- Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (100/17/13) ;
- Acétate d'éthyle/Acide acétique/Acide formique/Eau (100/11/11/26) ;
- Propanol/Eau (70/30) pour l'analyse des fractions très polaires riches en composés de type polysaccharides.

Différents réactifs ont été utilisés comme révélateurs :

- Le réactif de NEU (NP/PEG), qui permet une caractérisation des composés phénoliques sous UV (ultra violet) à 365 nm. Ainsi, en présence d'acides phénoliques, de flavonols, de flavones, ces derniers apparaissent respectivement sous forme de fluorescence bleue, jaune-orangée ou verte (Wagner et Bladt 2001, 2^{ème} éd).
- La vanilline sulfurique, qui permet de mettre en évidence les polysaccharides

1.4.2- Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

Méthode 1 :

Les différentes analyses ont été réalisées avec un système *Varian ProStar* muni d'un détecteur à barrette de diodes (DAD) *Varian Star* pour l'enregistrement des spectres UV/VIS et d'une pompe binaire *Varian Star* 230. Les injections ont été effectuées manuellement dans une boucle de 10 µL à l'aide d'une seringue de 100 µL. La colonne utilisée est une colonne Nucleodur EC 250/4,6 100 - 10 C 18 ec, 5µm, de *Macherey Nagel* munie d'une pré-colonne 8/4 remplie de la même phase stationnaire. Pour l'analyse, l'extrait total et les fractions ont été dissous dans de l'eau à des concentrations respectives de 10 mg/ml et 5 mg/ml puis analysés à un débit de 1

mL/min suivant un gradient acétonitrile / eau avec 0,1% d'acide trifluoroacétique, ainsi que consigné dans le tableau n° 2. La détection a été faite à 205, 280 et 324 nm.

Tableau 2: Gradient des phases mobiles méthode 1

Phase mobile	A : H ₂ O, 0,1 % TFA (acide trifluoroacétique: TFA)				
	B : ACN (acétonitrile)				
Gradient	Temps (min)	0	30	70	75
	% A	88	74	30	88
	% B	12	26	70	12

Méthode 2 : (optimisation des conditions d'analyse)

Certaines de nos fractions (3) se sont révélées plus actives et très polaires. Elles ont été analysées de même que l'extrait total par CLHP à l'aide d'une seconde méthode. Le système utilisé est un système *Varian 920 LC* muni d'un DAD (*diode array detection*), d'un four colonne et d'un injecteur automatique. La colonne utilisée est une colonne Nucleodur EC 250/4,6 100 - 10 C 18 ec, 5µm, de *Macherey Nagel* munie d'une pré-colonne 8/4 remplie de la même phase stationnaire. Pour l'analyse, l'extrait total et les fractions ont été dissous dans de l'eau à des concentrations respectives de 10 mg/mL et 5 mg/ml puis analysés par injection de 20 µg/mL à un débit de 1 mL/min à 30°C. La phase mobile utilisée est un gradient acétonitrile / eau avec 0,1% d'acide trifluoroacétique, ainsi que consigné dans le tableau n° 3. La détection a été faite à 205 et 280 nm.

Tableau 3: Gradient des phases mobiles méthode 2

Temps (min)	0	60
A : H ₂ O, 0.1% TFA	98	40
B : ACN	0	60

2- Résultats et commentaires

2.1- Extraction et fractionnement du matériel végétal

La quantité d'extrait total obtenu à partir de 450 g de poudre macérée dans une solution hydro-éthanolique à 50% est de 109 g, soit un rendement de 24,25%. 3 g de cet extrait ont été fractionnés. Le résultat des fractions obtenues est représenté dans le tableau n°4

Tableau 4 : Quantité de fractions obtenues à partir de 3g d'extrait

Fractions	Masses (mg)	Rendements (%)
Fraction I	359	12
Fraction II	961	62
Fraction III	416	14
Fraction IV	251	8
Fraction V	142	5
Fraction VI	243	8
Fraction VII	497	17

2.2- Dosage des polyphénols

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux déterminées par les méthodes de Folin- Ciocalteu et de chlorure d'aluminium respectivement sont consignés dans le tableau n° 5.

Les résultats obtenus montre une richesse en polyphénols de l'extrait total hydroalcoolique ($16 \pm 0,4$ mg EAG/ g d'extrait sec). Parmi ces polyphénols, une forte présence de flavonoïdes ($2,83 \pm 0,5$ mg EQ/ g d'extrait sec) a été démontrée grâce au dosage à l'aide du chlorure d'aluminium. Ces résultats confirment ceux obtenus avec les analyses qualitatives préliminaires.

Tableau 5: Teneurs relatives en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'extrait hydroalcoolique d'*A. buettneri*

	Polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g d'extrait)
Extrait hydroalcoolique d' <i>A. buettneri</i>	16 ± 0,4	2,83 ± 0,5

EAG = équivalent acide gallique, EQ = équivalent quercétol

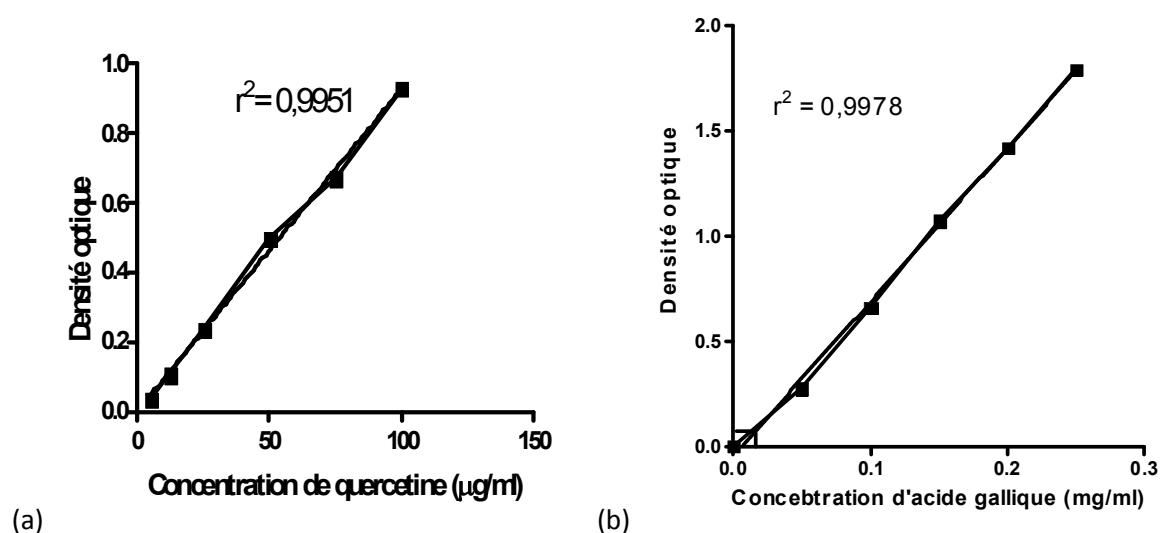


Figure 45: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique et du quercétol pour le dosage des phénols totaux (a) et des flavonoïdes totaux (b)

2.3- Profil CCM

Les profils CCM de l'extrait hydroalcoolique et de ses fractions enrichies sont présentés sur la figure n° 46 et 47.

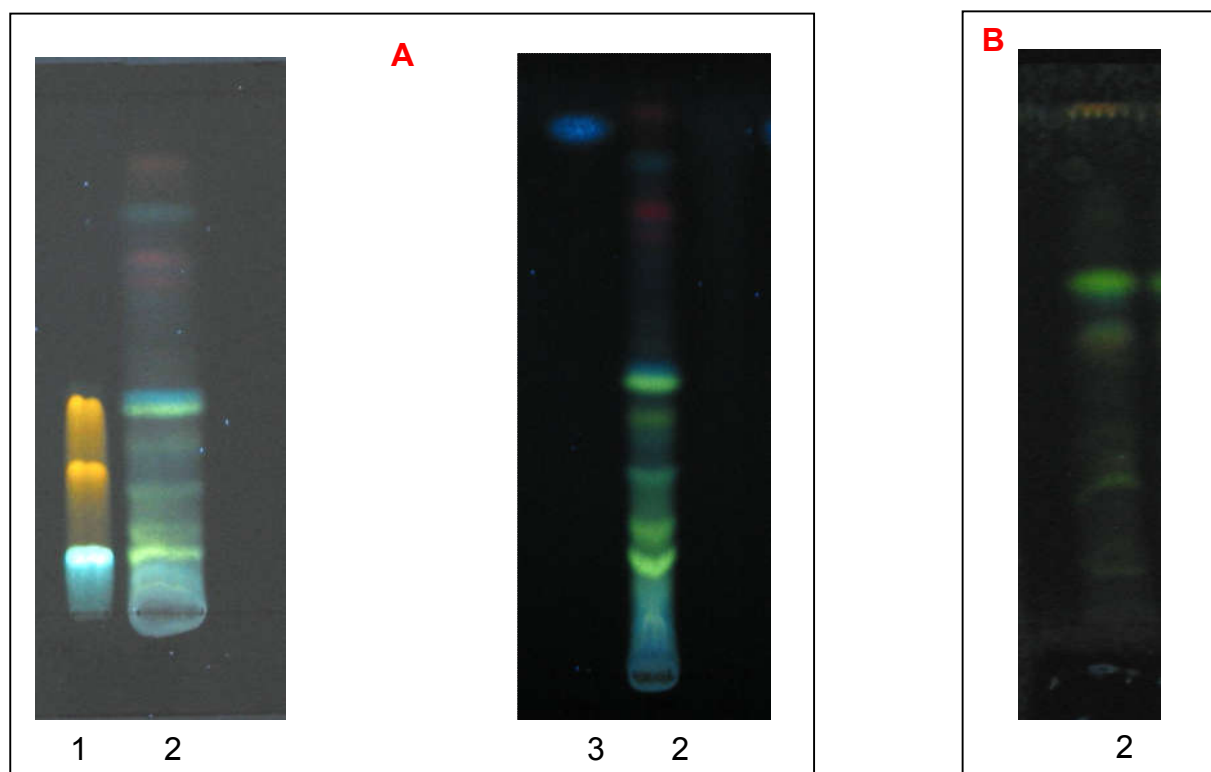


Figure 46: Profils CCM de l'extrait total en utilisant différents solvants

Phase stationnaire: Plaque de silice (*Merck*)

Phases mobiles: **A**, acétate d'éthyle/ méthanol/ eau (100/17/13)

B, acétate d'éthyle/ acide acétique/ acide formique/ eau (100/11/11/26)

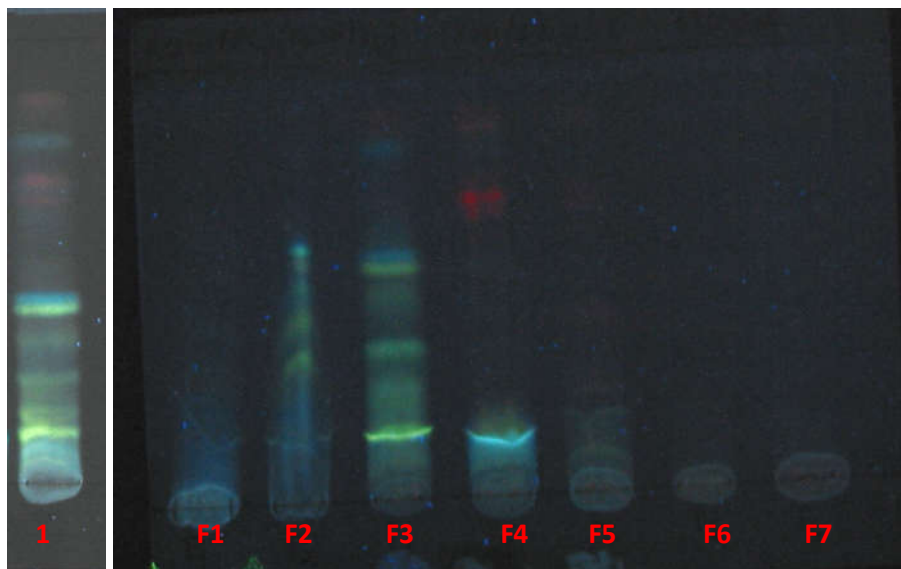
Dépôts : **1**, mélange de molécules témoins (Hypéroside, acide chlorogénique, rutine)

2, Extrait hydroalcoolique d'*A. buettneri*

3, Anthrone

Révélation : NP/PEG, observation à l'UV 365 nm.

L'analyse du profil CCM de l'extrait total et certaines de ses fractions enrichies confirme la forte présence de composés phénoliques probablement de type acides phénoliques (bandes de fluorescence bleue), flavonoïdes (probablement des flavones) (bandes de fluorescence verte).



Figures 47: Profils CCM de l'extrait hydroalcoolique et des fractions enrichies

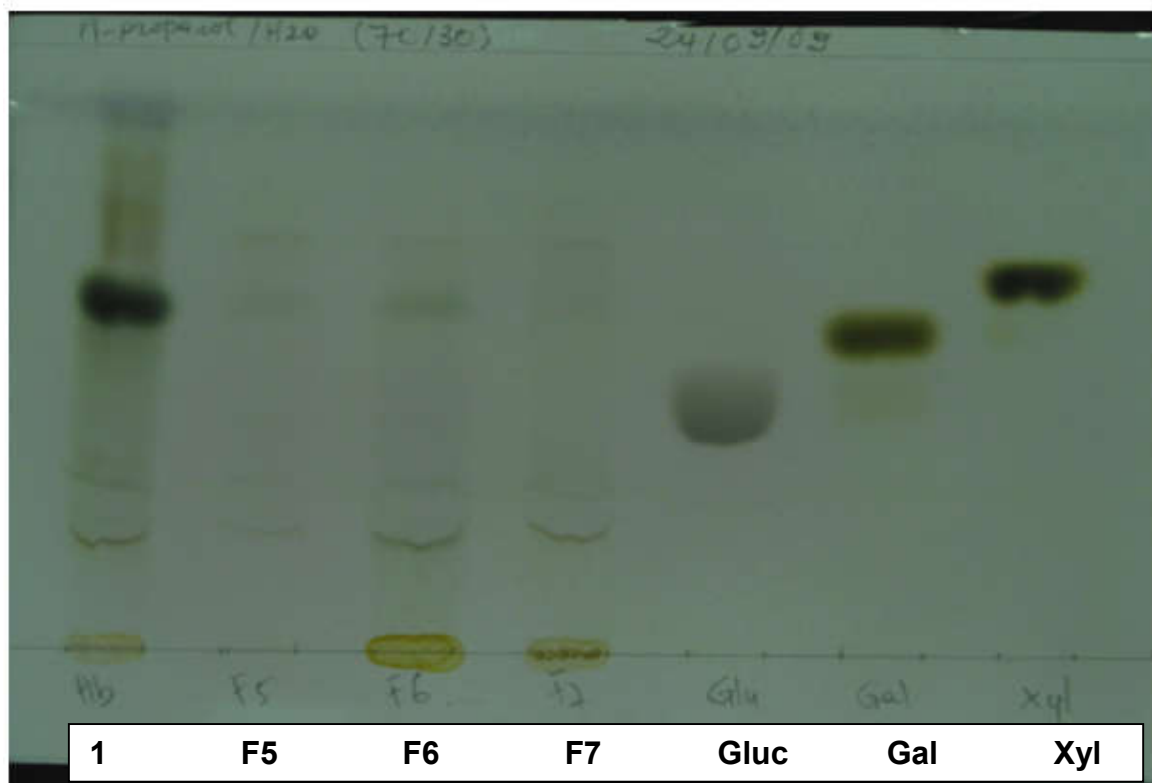
Phase stationnaire: Plaque de silice (*Merck*)

Phases mobiles: acétate d'éthyle/ méthanol/ eau (100/17/13)

Dépôts : extrait hydroalcoolique d'*A. buettneri* (1) + fractions F1 à F7

Révélation : NP/PEG, observation à l'UV 365 nm

La phase mobile 1-propanol/ eau (70/ 30) (Waksmundzka-Hajnos et *al.* 2008) s'est montrée meilleure pour la séparation des composés polaires contenus dans les fractions très actives F5 à F7 (figure n° 48). L'analyse de leur profil par comparaison à des composés de référence montre que ces molécules polaires seraient des composés de nature saccharidique.



Figures 48: Profils CCM de l'extrait hydroalcoolique et des fractions actives 5 - 7

Phase stationnaire: Plaque de silice (*Merck*)

Phases mobiles: propanol/ eau (70/ 30)

Dépôts : extrait hydroalcoolique d'*A. buettneri* (1) + fractions F5 à F7

témoins : glucose (Glu), galactose (Gal), xylose (Xyl)

Révélation : vanilline sulfurique, observation dans le visible

2.4- Analyse CLHP

2.4.1- Chromatogrammes obtenus avec la méthode 1

L'extrait hydroalcoolique et ses fractions enrichies ont été analysés par la méthode 1 en HPLC et les chromatogrammes ont été obtenus par détection à 205, 280 et 324 nm (figure n° 49 à 56). A ces longueurs d'ondes 18 composés majoritaires ont été observés. L'analyse des spectres d'absorption (Figure n° 57) de ces pics majoritaires révèle une présence majoritaire de composés de nature acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (pics 1, 2, 3, 6 et 15) grâce à leur spectre caractéristique (maxima d'absorption à 213 nm, 244 nm et 324 nm). Les pics 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17 présentent des spectres d'absorption caractéristiques de flavonoïdes (maxima d'absorption à 196 nm, 267 nm et 346 nm). Ces résultats confirment ceux obtenus avec la CCM.

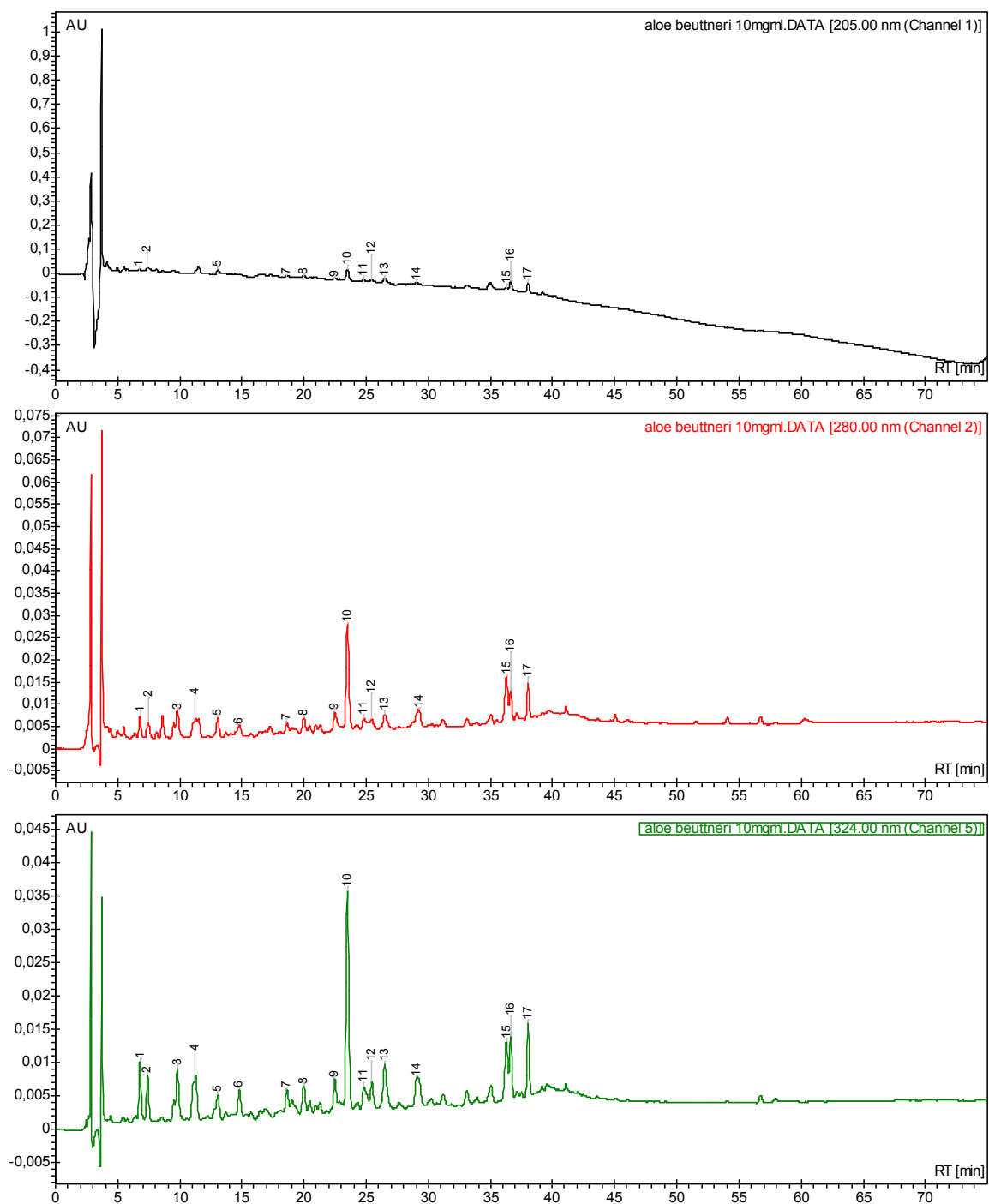


Figure 49: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. beutneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 1

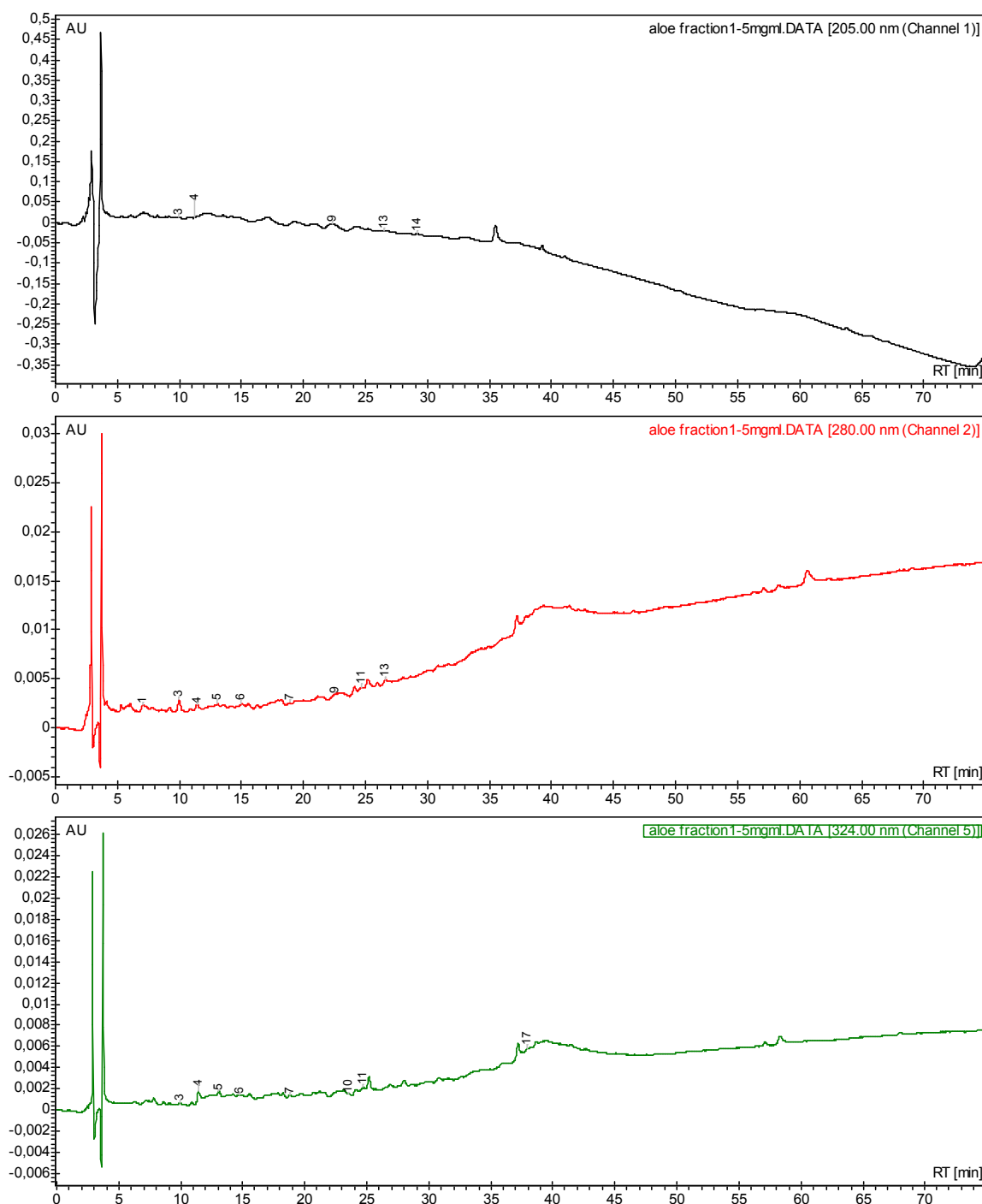


Figure 50: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F1 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 2

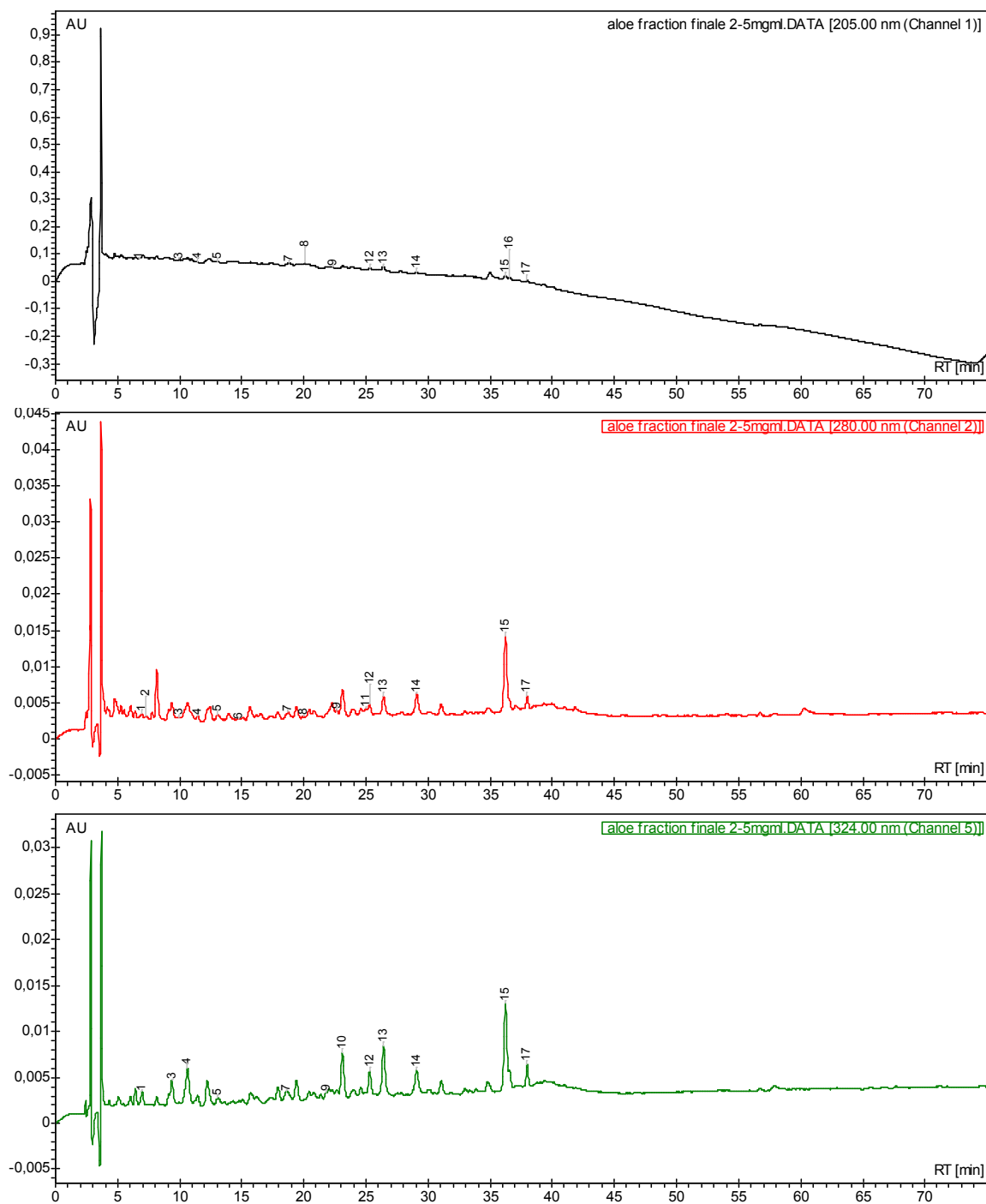


Figure 51: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F2 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 3

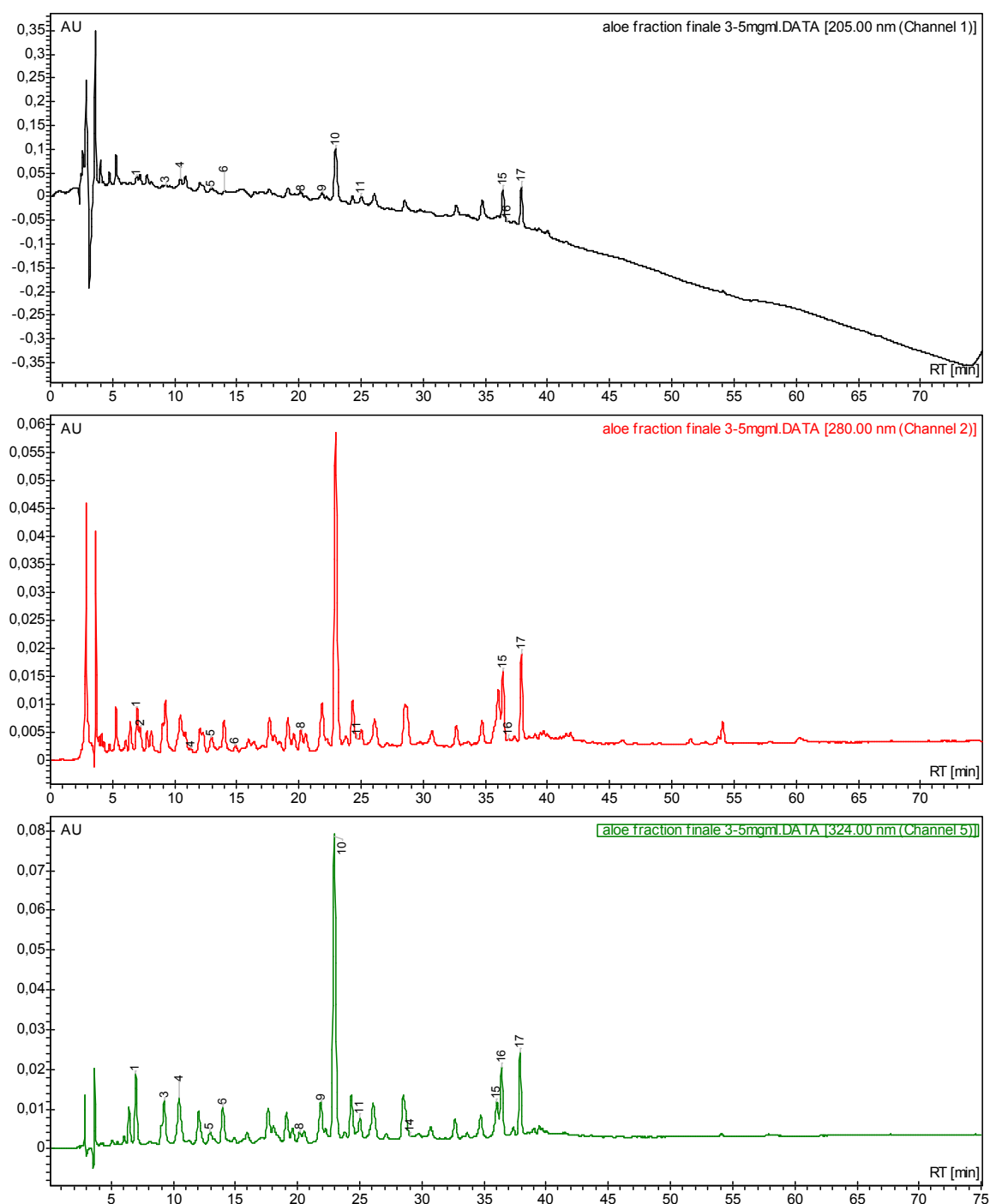


Figure 52: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F3 de l'extract hydro-alcoolique des feuilles de *A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 4

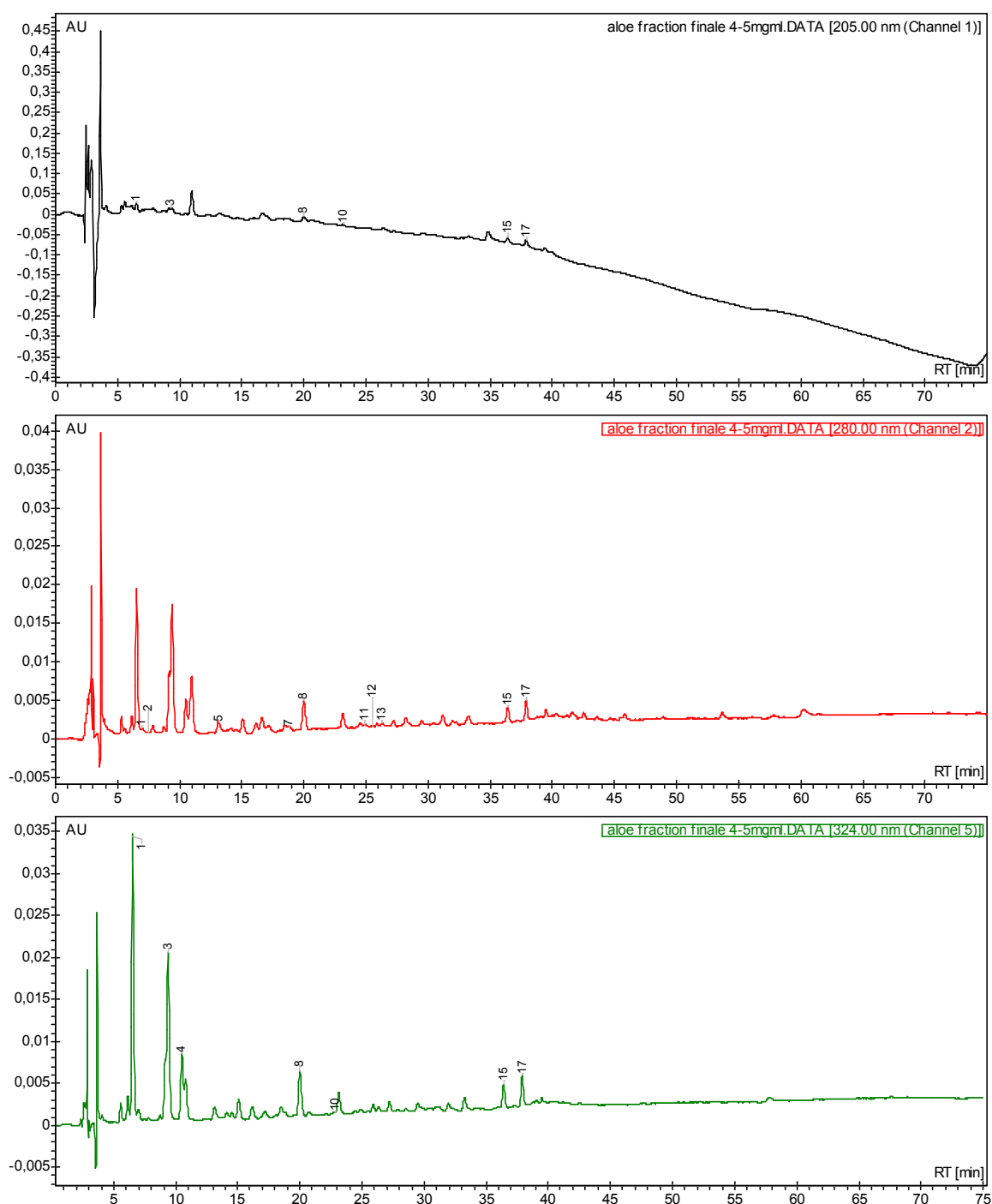


Figure 53: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F4 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 5

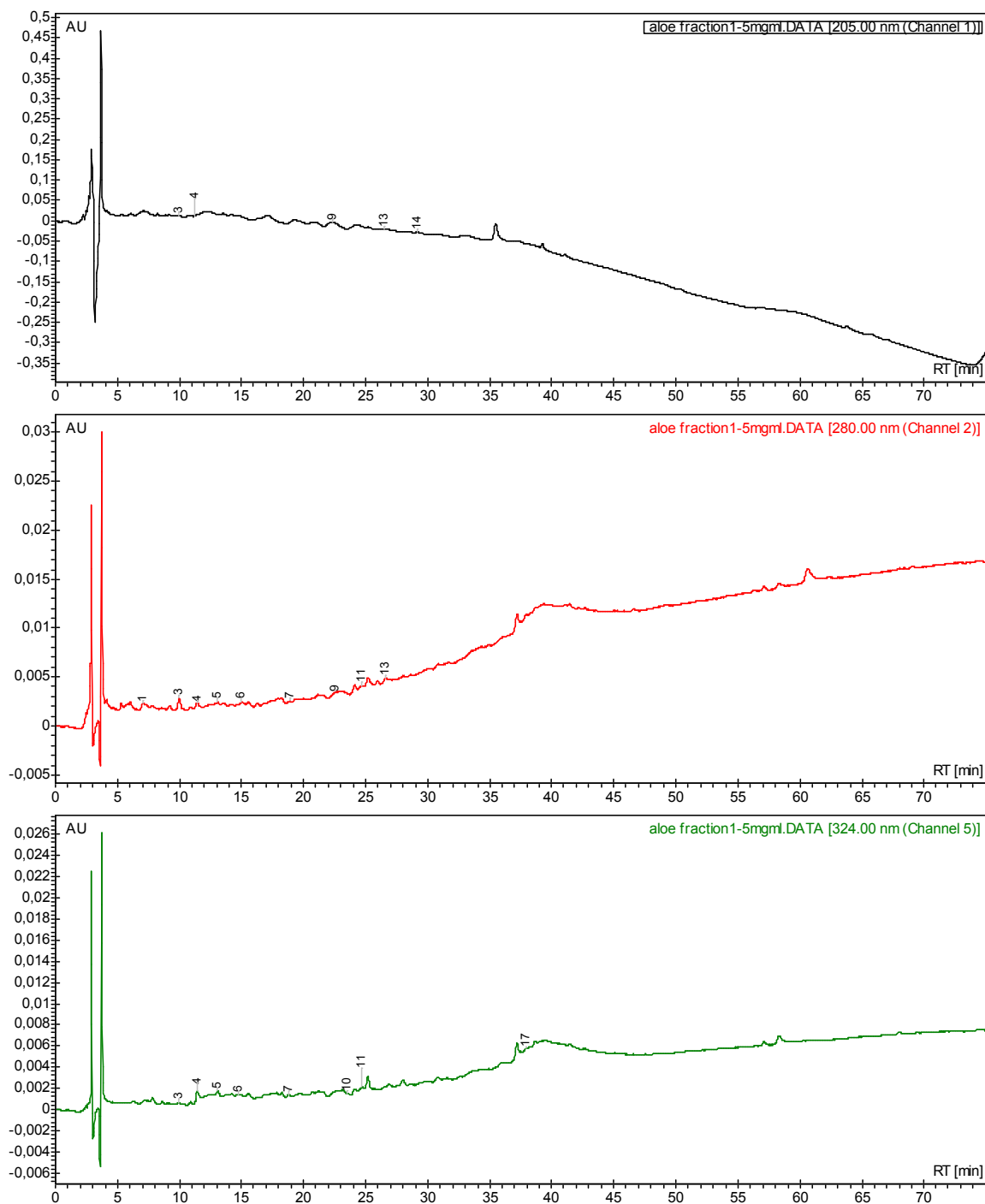


Figure 54: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F5 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 6

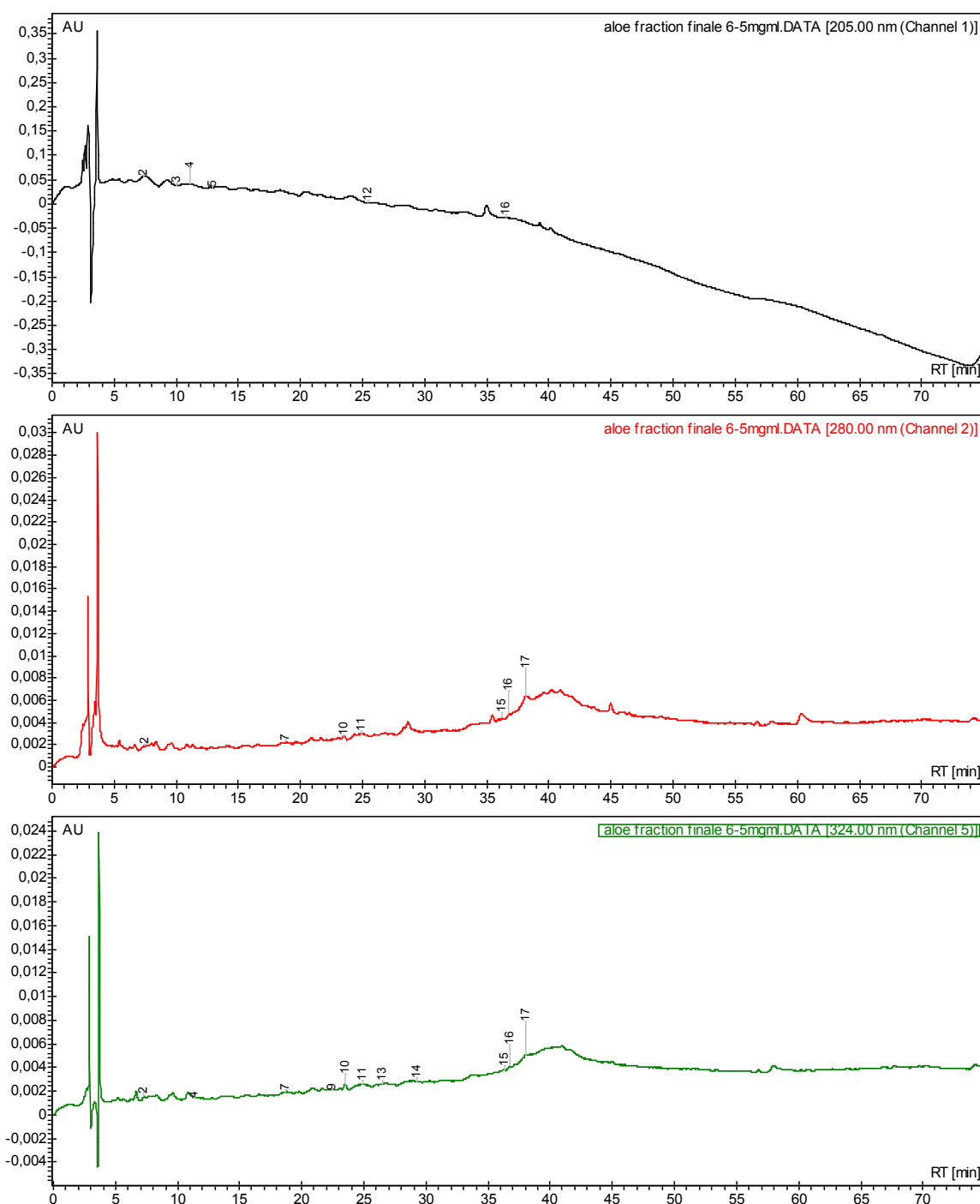


Figure 55: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F6 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 7

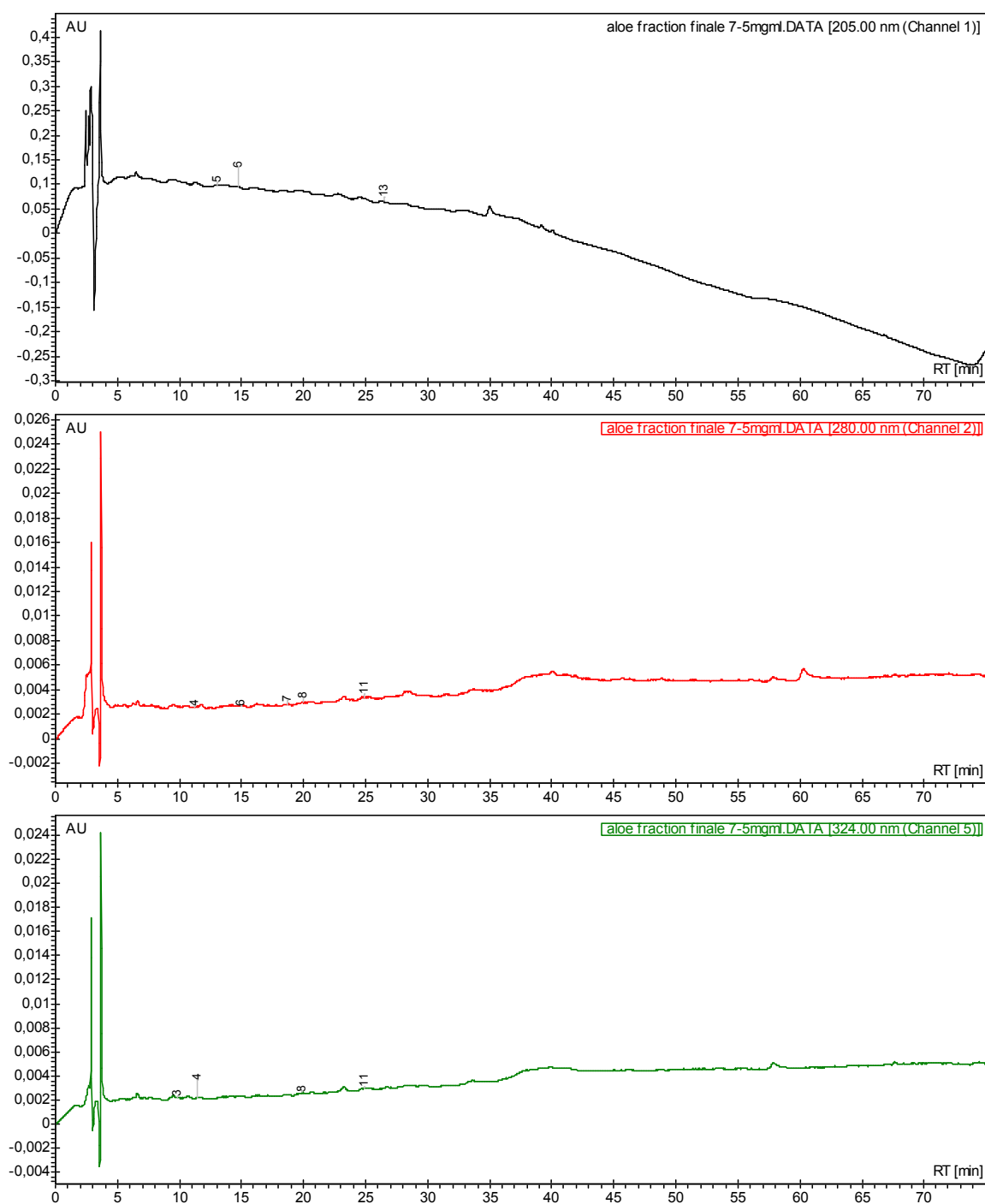
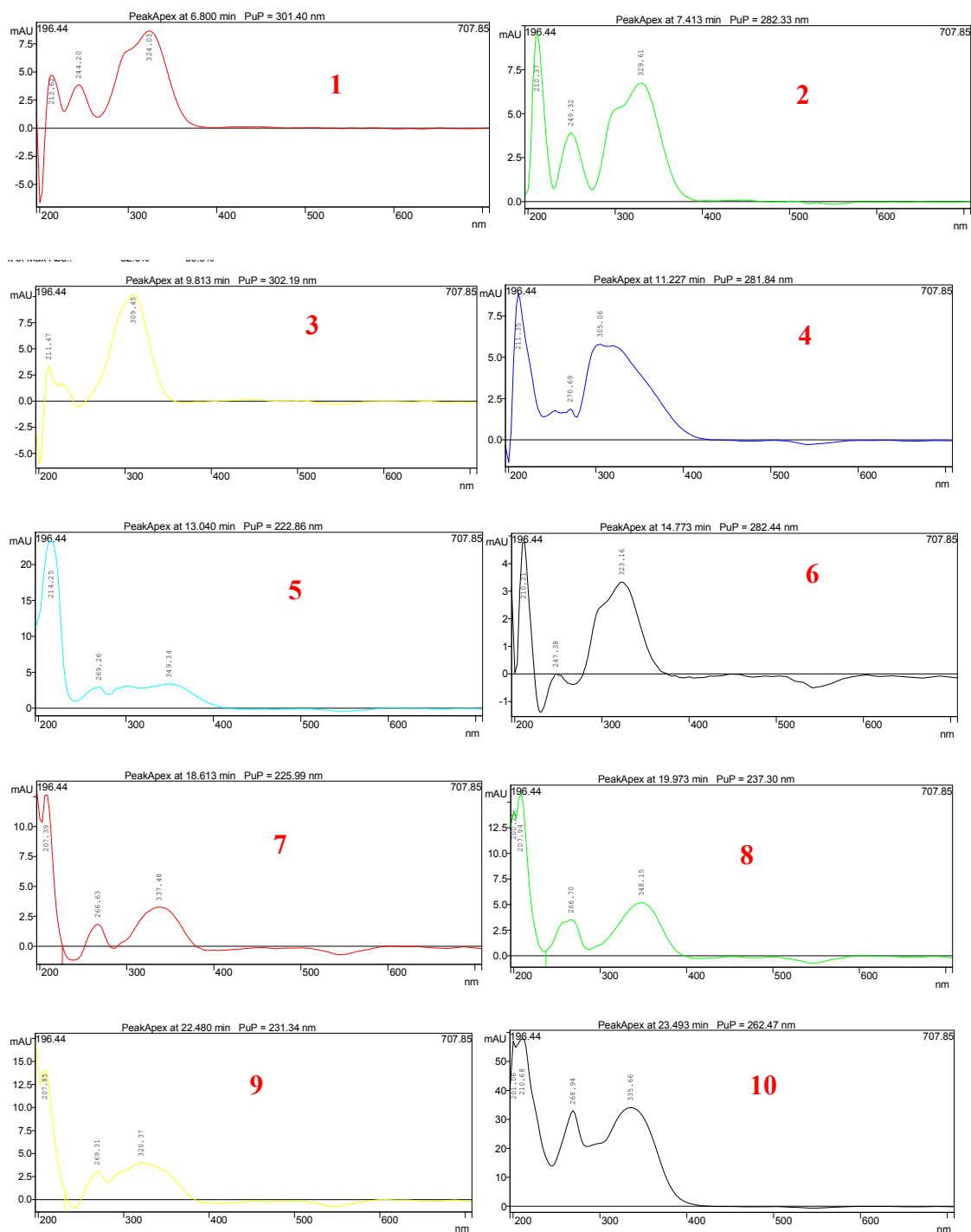


Figure 56: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F7 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)



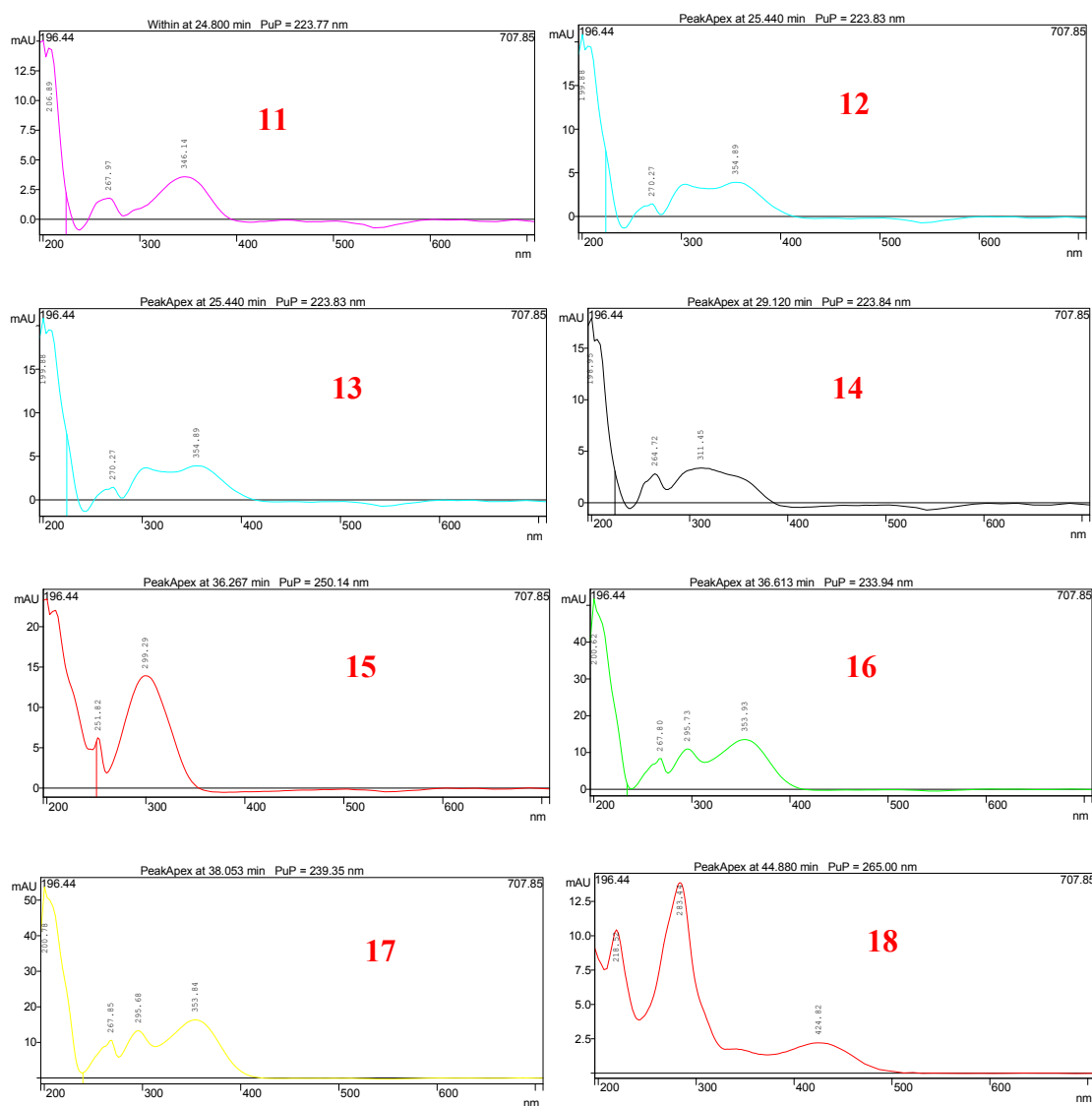


Figure 57 : Spectres d'absorption des pics majoritaires

2.4.2- Chromatogrammes obtenus avec la méthode 2

Les figures n°58 à 61 représentent les chromatogrammes obtenus en utilisant la méthode d'optimisation du CLHP (méthode 2) de l'extrait total et des fractions 5, 6 et 7. Ces chromatogrammes présentent les pics majoritaires avec leur temps de rétention. Les résultats obtenus en utilisant la **méthode 2** d'analyse HPLC confirment ceux obtenus par analyse CCM de l'extrait total et de ces fractions actives **V, VI, VII** (figure n°48). En effet, ces substances de nature très polaire (aucune rétention sur une colonne C18 en HPLC, élution avec un solvant très polaire en CCM), n'absorbant pas dans l'UV (Figure n° 62) du spectre d'absorption des pics majoritaires) et réagissant avec la vanilline sulfurique en CCM (bandes grises dans le visible) seraient des composés de nature polysaccharidique.

Afin d'identifier les composés phénoliques présents dans les fractions actives **I, II et III**, une quarantaine de témoins commerciaux de composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique ou de l'acide benzoïque, tanins oligomériques) ont été analysés avec la **méthode 2** CLHP.

La comparaison de leur spectre d'absorption et de leur temps de rétention avec ceux des pics majoritaires de l'extrait brut et de ces fractions actives **I, II et III** nous a permis d'identifier 4 composés. Il s'agit de l'**acide protocatéchique** (pic de RT= 13.92 min), l'**acide caféique** (pic de RT= 20.87 min), l'**homo-orientine** (pic de RT= 23.42 min) et de l'**acide férulique** (pic de RT= 27.26 min).

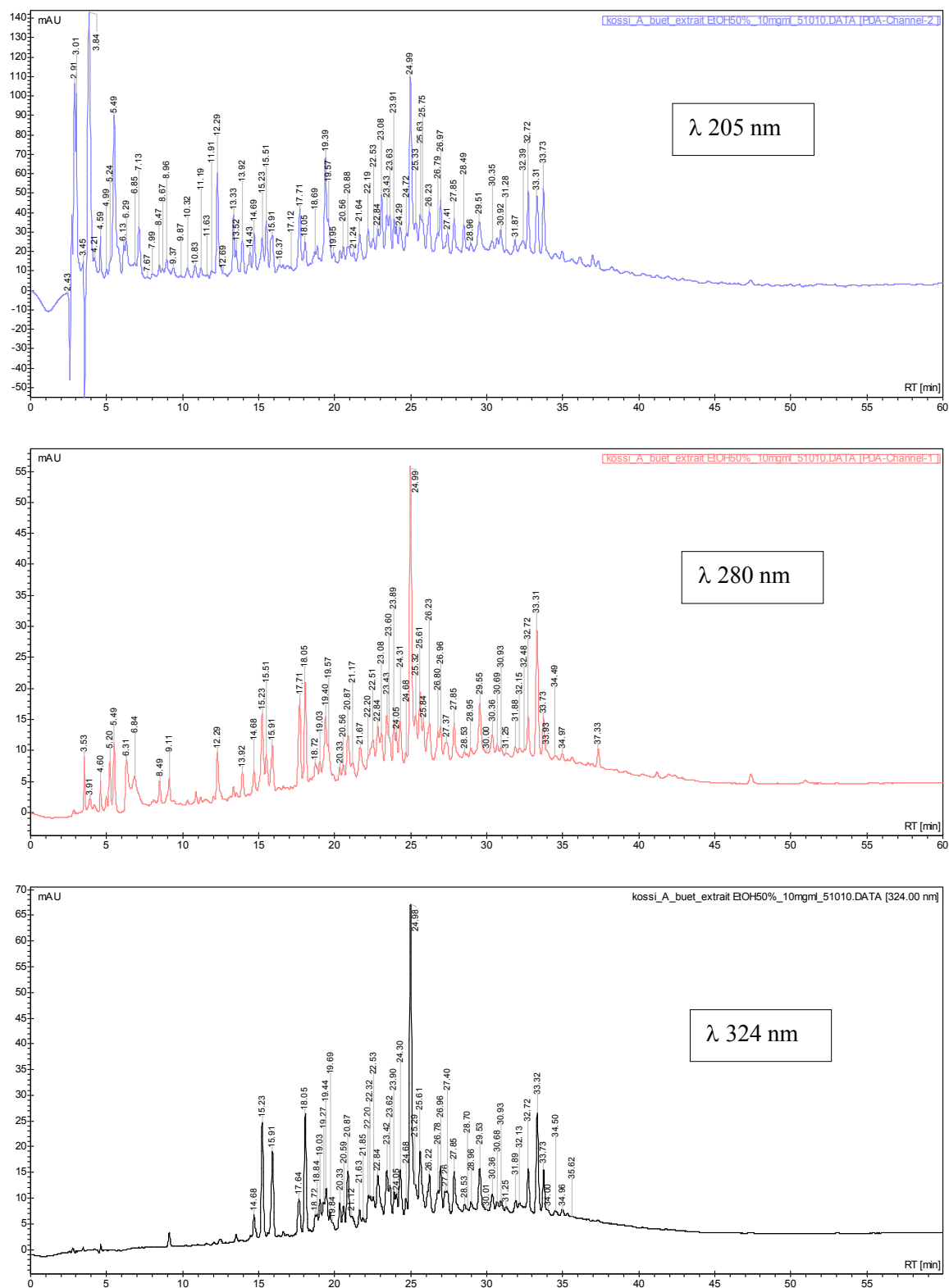


Figure 58: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

Fraction 5

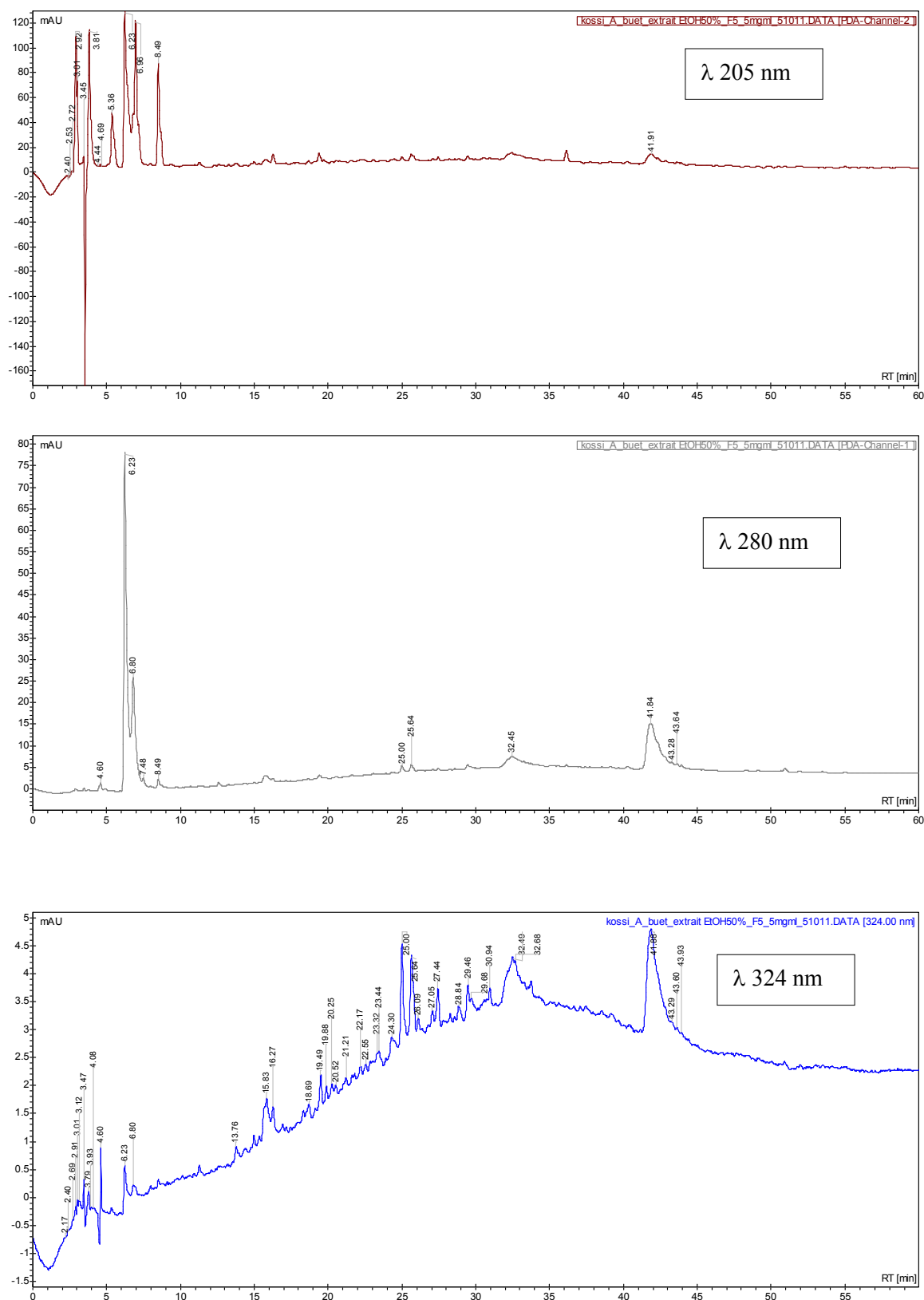


Figure 59: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F5 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

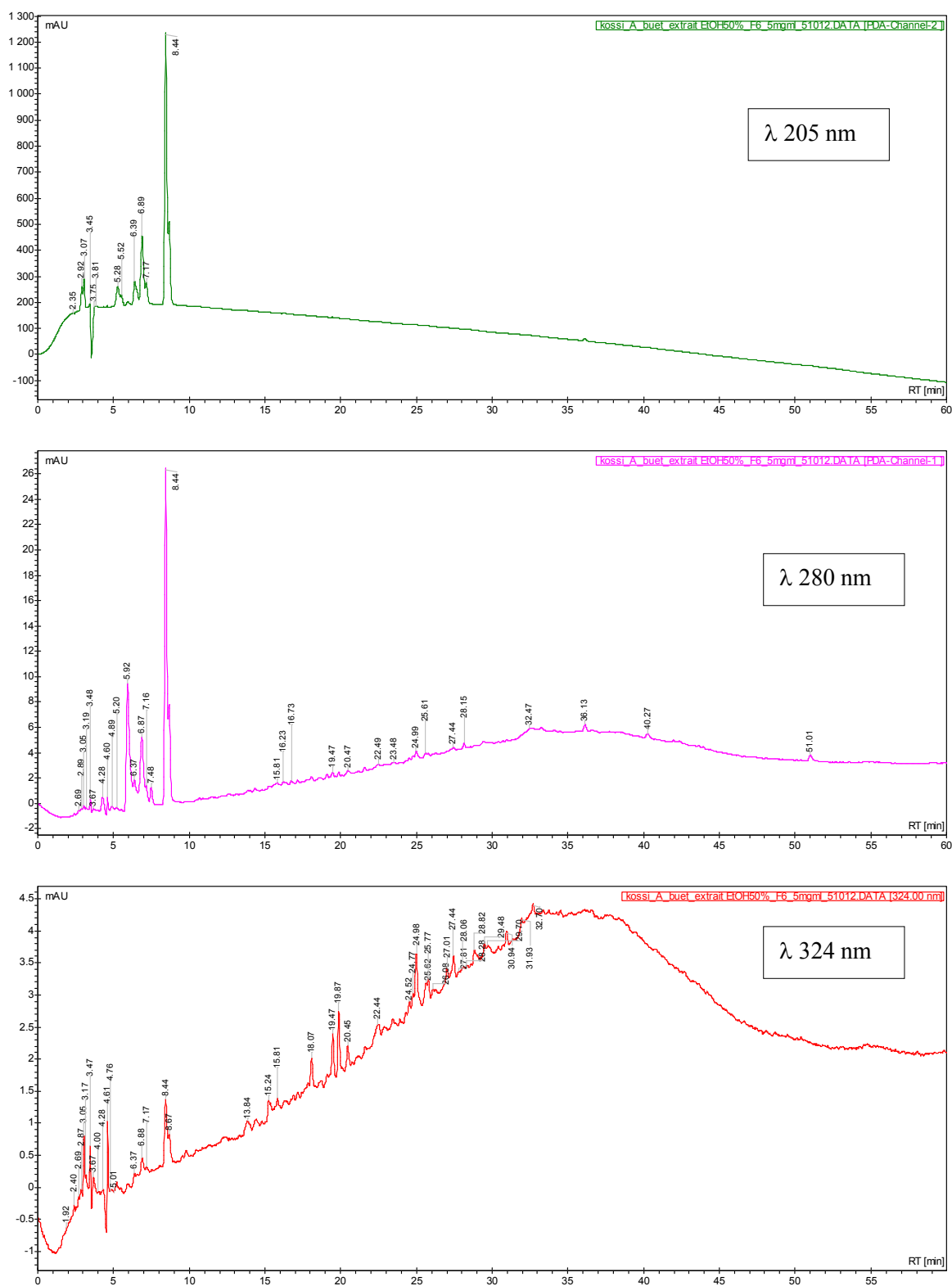


Figure 60: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F6 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)

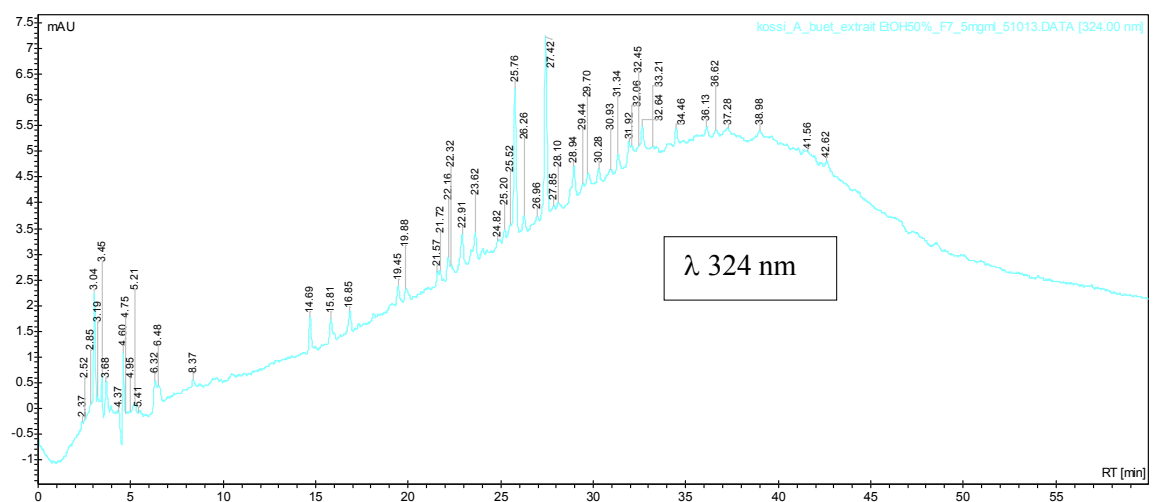
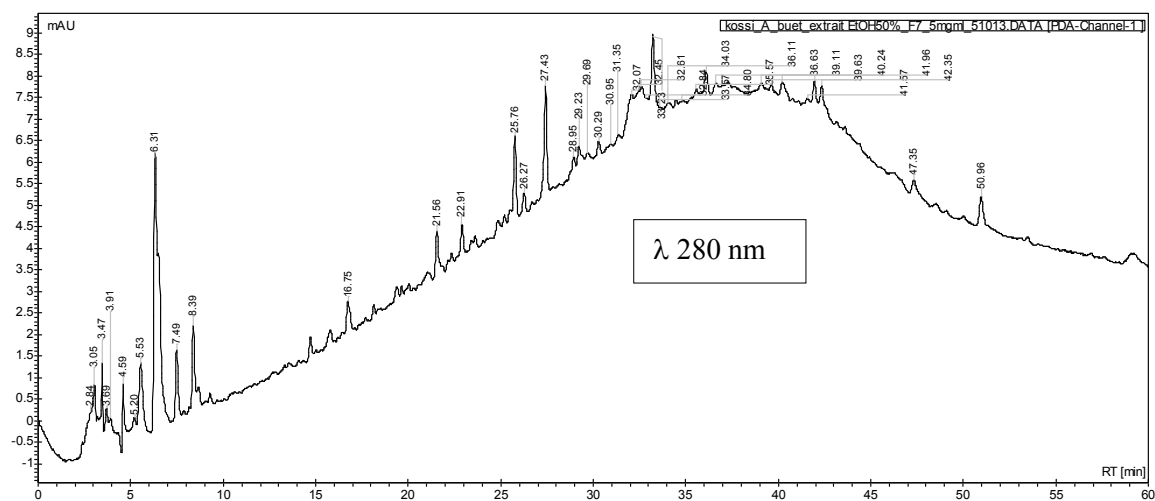
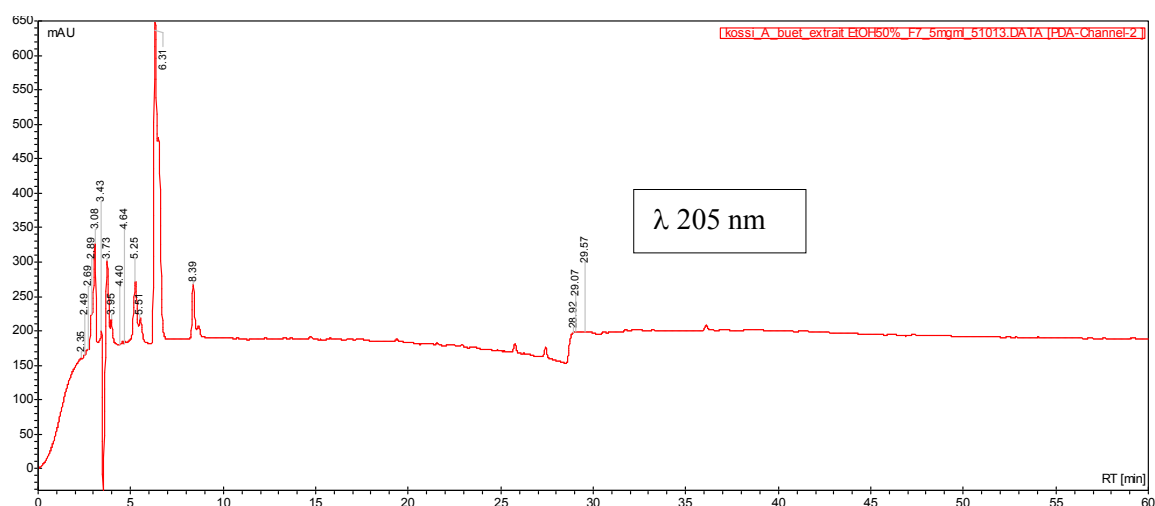
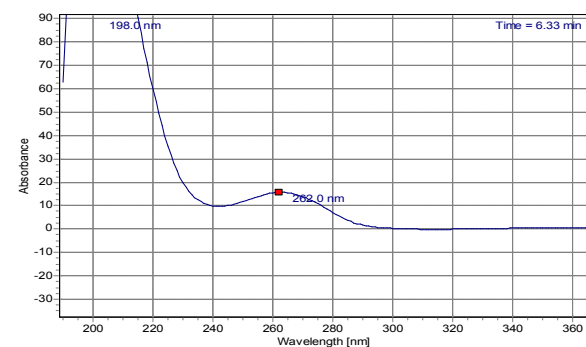
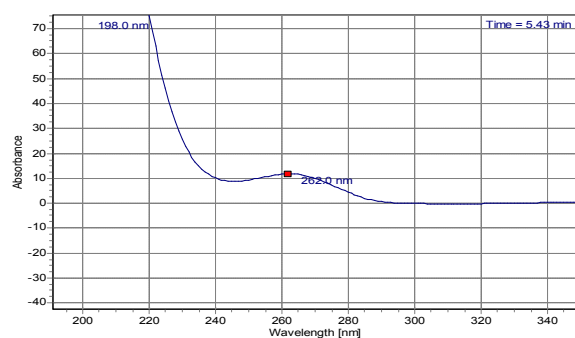
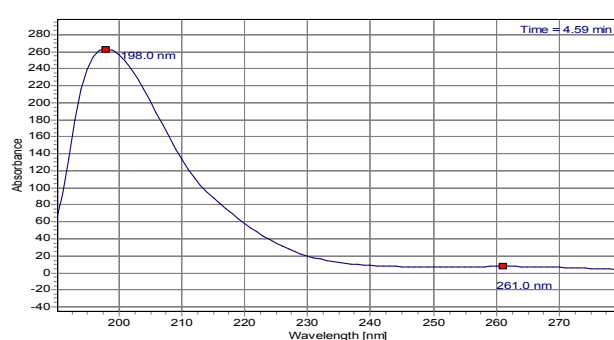
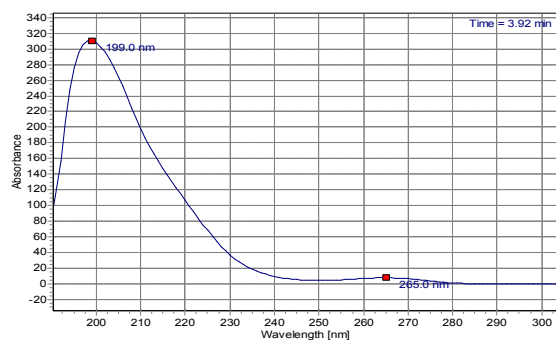
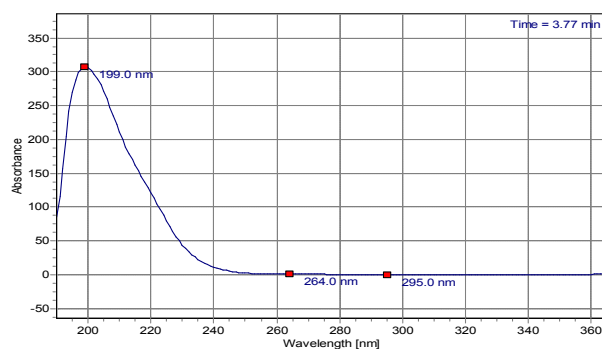
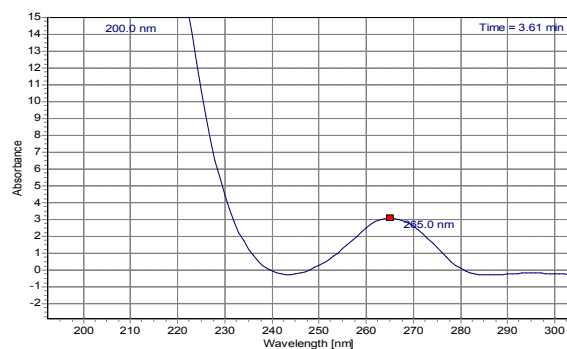
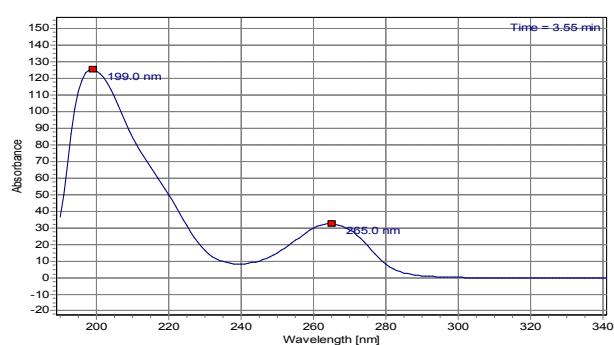
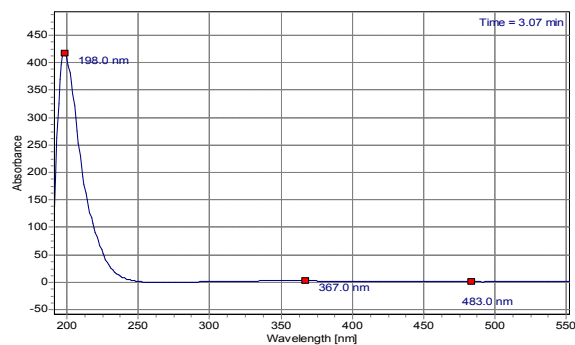
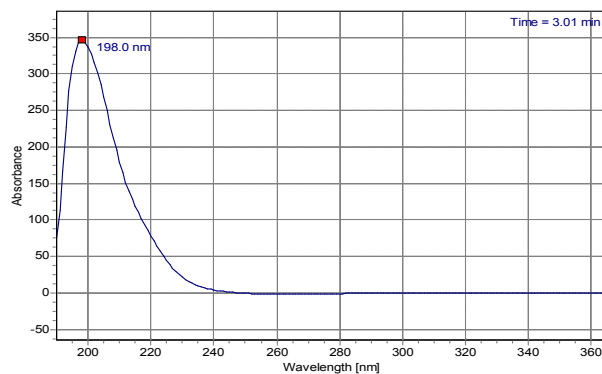
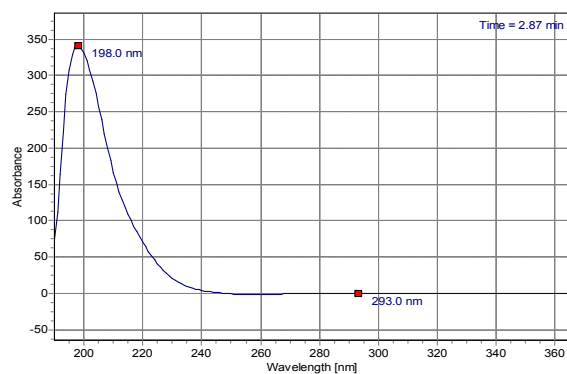
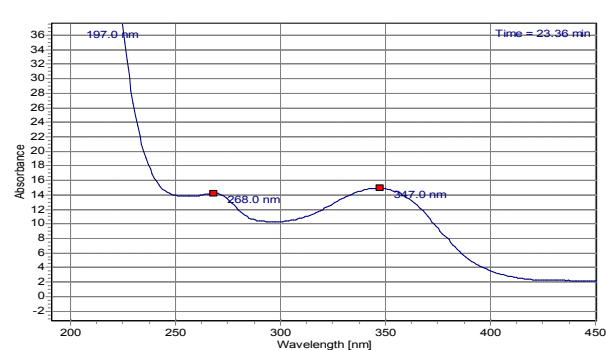
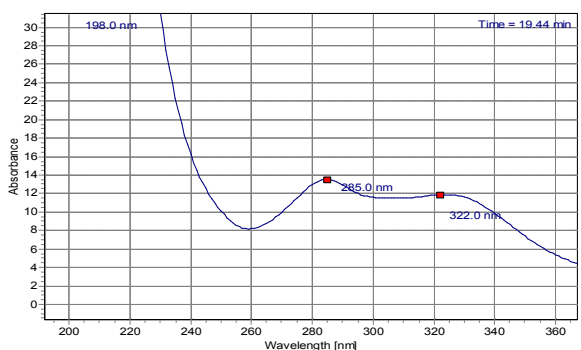
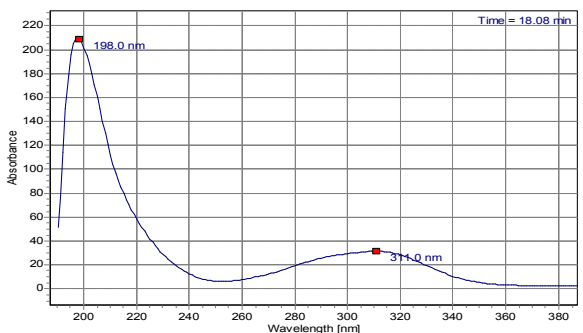
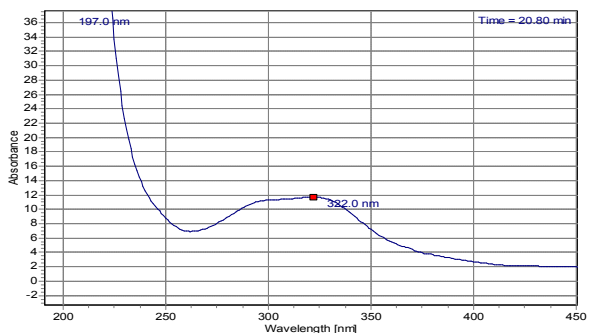
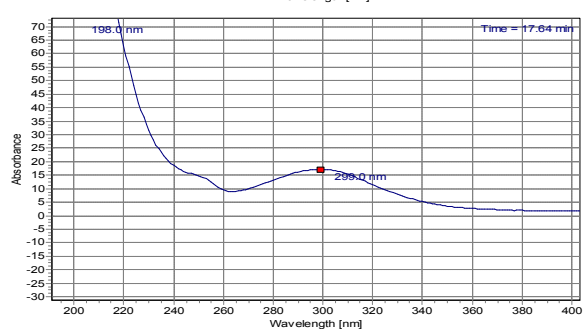
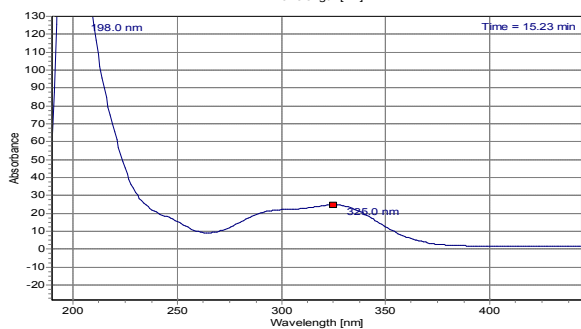
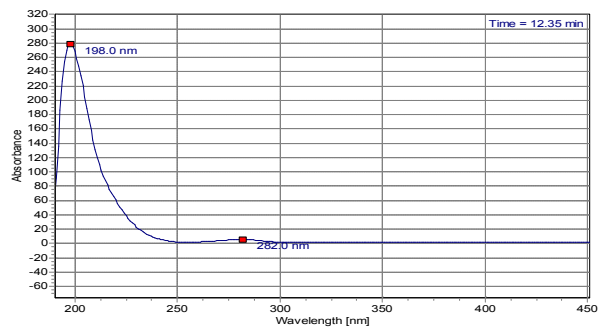
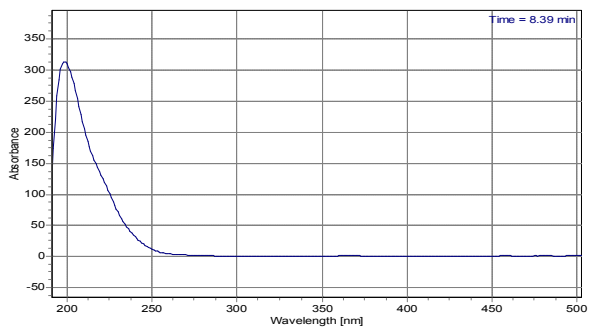
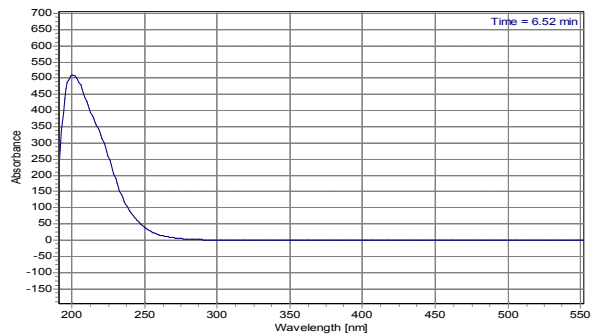
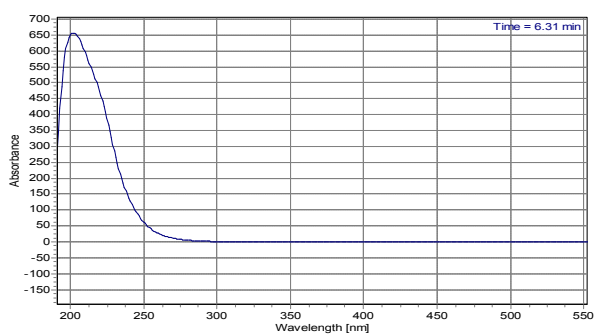


Figure 61: Profils CLHP à 205, 280 et 324 nm de la fraction F7 de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* (Injection 10 μ L à 10 mg/ml dans MeOH 50%)





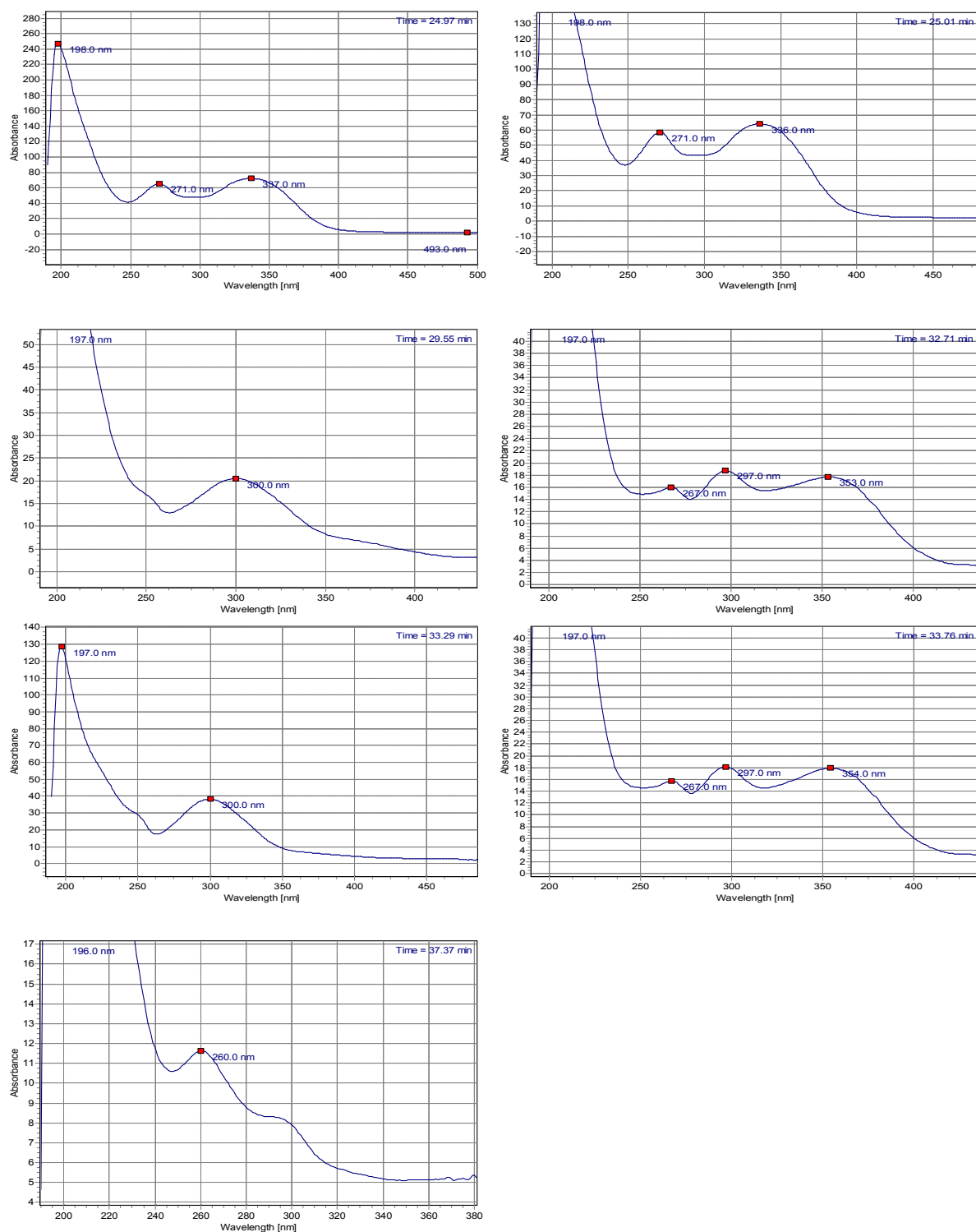


Figure 62 : Spectres d'absorption des pics majoritaires du chromatogramme de la méthode 2

DISCUSSION

A. buettneri est une plante bien connue par la pharmacopée traditionnelle togolaise. Du nom de 'adiadi' en Ewé, ses feuilles sont bien connues pour leurs propriétés anti-inflammatoire, antiulcéreuse, immuno-modulatrice, antimicrobienne... Dans les pays voisins du Togo, on l'utilise comme antipoison, laxatif et pour traiter les plaies chroniques.

Nos résultats préliminaires sur l'œdème induit par la formaldéhyde et dans l'hyperthermie induite par injection de levure de bière ont montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* possède des propriétés antioœdémateuse et antipyrétique chez le rat 'Wistar'. En outre, cet extrait, utilisé dans le test de 'tail flick', augmente le temps de retrait de la queue des rats de l'eau maintenue à 50°C et inhibe la lésion gastrique induite par un mélange de solution d'acide et d'éthanol (Metowogo et al. 2008). La conclusion était que cet extrait possède les propriétés antiulcéreuse et anti-inflammatoire car l'œdème, la fièvre, la douleur sont reconnues comme les signaux cardinaux de l'inflammation. Aussi bien dans le processus inflammatoire qu'ulcéreux la réparation tissulaire aboutissant à la restauration de l'intégrité du tissu endommagé est indispensable au maintien de l'homéostasie de l'organisme. Pour cette raison, l'effet de l'extrait sur le processus de réparation tissulaire est envisagé dans ce travail.

La technique de cellules épithéliales bronchiques humaines en culture lésée est mise au point de manière à évaluer de manière objective l'effet réparateur de l'extrait et à pouvoir comparer l'activité des fractions actives. Il permettra ainsi la mise en évidence des fractions concentrant l'activité d'*A. buettneri*. Les résultats de ce test bioguidé, obtenus en utilisant le modèle de cellules en culture lésée montrent que l'extrait potentialise la réparation tissulaire par rapport aux conditions basales obtenues dans un milieu contenant 0,3% de serum de veau fœtal dans les deux lignées de cellules bronchiques humaines utilisées. En effet, les cellules H292, lignée de cellules bronchiques humaines à mucus ainsi que les cellules 16HBE, lignée finie de cellules bronchiques humaines ciliées sont utilisées dans différents modèles de réparation tissulaire (Schnackenberg et al. 2006, Adam et al. 2007). Puddicombe et al. (2000) démontrent qu'une lésion mécanique des cellules 16HBE en culture provoque une surexpression de l'EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) et une trans-activation du récepteur par phosphorylation. Ils ont aussi démontré que l'EGF (*Epidermal Growth Factor*) stimule la réparation de la lésion des cellules 16HBE en culture. Selon les mêmes auteurs, on note une augmentation de la synthèse du TGF- β 2, un autre

facteur de croissance. Howat et *al.* (2002) montrent que les cellules 16HBE en culture lésée synthétisent les trois isoformes du TGF- β et que seul le TGF- β 1 synthétisé 2 h après la lésion induit la migration de ces cellules. Polosa et *al.* (1999) par étude immunohistochimique ont détecté aussi bien chez les cellules 16HBE que chez les cellules H292 l'expression de EGFR. Ils ont par RT-PCR (*reverse transcriptase PCR*) détecté chez les deux types cellulaires les ARNm codant pour les facteurs de croissance tels que l'EGF, l'*Heparin Binding Epidermal Growth Factor* (HB-EGF), le *Transforming Growth Factor α* (TGF α). Koff et *al.* (2006) montrent l'effet réparateur de lésion des lipopolysaccharides de *Pseudomonas* sur les cellules H292 par activation de l'EGFR. Ainsi, tous ces auteurs ont montré que les deux lignées cellulaires expriment l'EGFR qui joue un rôle important dans la migration et la prolifération cellulaires. Ils ont montré aussi que ces deux lignées produisent du TGF- β , facteur de croissance également impliqué dans la prolifération et la migration cellulaire et dans le processus de réparation de la lésion bronchique '*in vivo*'.

Ainsi, l'effet réparateur de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* sur les cellules 16HBE et H292 pourrait être mis à profit dans la réparation bronchique.

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies aériennes caractérisée par une inflammation et une obstruction réversible des bronches, un changement de la structure bronchique incluant une desquamation de l'épithélium bronchique, un épaississement de la lame basale, une hypertrophie de la matrice extracellulaire avec augmentation des myofibroblastes, une hyperplasie des glandes et une hypersécrétion du mucus (Halayko et Amrani 2003). La desquamation du tissu épithélial dans le processus inflammatoire de l'asthme entretient le remodelage des voies aériennes. Plusieurs auteurs dont Holgate (2007), Tang et *al.* (2006) reconnaissent l'implication de l'épithélium dans le processus de remodelage. Pour ces auteurs, l'agression des cellules épithéliales et le dommage induit par l'inflammation sur l'épithélium conduit non seulement à la réparation de ce tissu, mais participe à la perpétuation de l'inflammation avec comme corollaire le remodelage. L'effet anti-inflammatoire de l'extrait d'*A. buettneri* associé à son effet réparateur pourrait contribuer au maintien de l'intégrité de l'épithélium. Nous avons montré dans un modèle d'asthme chez la souris que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* inhibe la transmigration leucocytaire notamment celle des éosinophiles. Au cours de l'inflammation bronchique, on note une transmigration des cellules leucocytaires notamment de mastocytes, d'éosinophiles, de neutrophiles, de

macrophages, de lymphocytes Th2, de cellules dendritiques (Barnes et *al.* 1998, Berger et de Lara 2007) dans la muqueuse bronchique. Ces cellules libèrent dans les tissus bronchiques des médiateurs pro-inflammatoires qui entretiennent l'inflammation bronchique dans l'asthme. Les éosinophiles jouent un rôle amplificateur de la réaction inflammatoire aussi bien dans l'asthme que dans les bronchites à éosinophile. En effet, l'expression par les éosinophiles de nombreux récepteurs de membrane pour les Immunoglobulines, le complément, les cytokines, les chimiokines (Capron et *al.* 1990, 2002, Humbert 1998), rend les éosinophiles très réceptifs aux facteurs chimiotactiques (principalement IL-5, éotaxine, RANTES : *regulated and activated normal T cells expressed and secreted*) et migrent dans la muqueuse bronchique suite à la dégranulation des mastocytes.

Ils amplifient alors la réaction inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs granulaires parmi lesquels des cytokines, des chimiokines, des espèces réactives de l'oxygène ou encore des médiateurs lipidiques qui vont à leur tour participer au recrutement d'autres cellules inflammatoires (Decot et Capron 2006). L'activation des éosinophiles entraîne aussi la libération des protéines contenues dans les granules. Ces protéines (la *Major Basic Protein* (MBP), l'*Eosinophil Cationic Protein* (ECP), l'*Eosinophil Derived Neurotoxin* (EDN), l'*Eosinophil Peroxydase* (EPO)) sont responsables de la desquamation de l'épithélium bronchique, de l'altération de la fonction ciliaire et de l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Garcia et Humbert 2002, Cottin 2008). Tous ces phénomènes concourent à aggraver l'inflammation. L'inhibition de la transmigration des éosinophiles par l'extrait d'*A. buettneri* administré par voie orale observé dans nos travaux chez la souris permet d'émettre l'hypothèse que l'extrait d'*A. buettneri* pourrait réduire la réaction inflammatoire bronchique et par conséquent pourrait avoir un effet bénéfique dans l'asthme. Toutefois, les mécanismes de cette inhibition restent à déterminer car l'extrait n'inhibe pas la libération d'IL-5, un agent chimiotactique des éosinophiles. On pense que son action inhibitrice de la transmigration des éosinophiles serait due à l'inhibition d'autres facteurs chimiotactiques tels que l'éotaxine, le RANTES, ce qu'il serait intéressant d'évaluer dans la suite de ces travaux. Par contre, l'extrait inhibe la libération d'IL-4 généralement responsable de la commutation isotypique des lymphocytes B en plasmocytes synthétisant des IgE (Mamessier et *al.* 2005). Plusieurs extraits de plantes sont identifiés pour leurs propriétés antiasthmatiques et ont été étudiés selon le modèle murin que nous avons utilisé. Ainsi Lee et Kim (2008) en utilisant ce

modèle murin d'induction d'asthme ont montré que *Juglans sinensis* Dode (Juglandaceae), *Psoralea corylifolia* Linn. (Fabaceae) inhibent la transmigration des éosinophiles, induisent l'augmentation de la balance Th1/Th2 au profit de Th1 par stimulation de la production INF γ et inhibition de la synthèse d'IL-4. Des résultats similaires sont obtenus par Jung et al. (2009) en utilisant l'extrait de *Laurencia undulata* (Thalasssiophytes) et Rogerio et al. (2008) avec un extrait de *Lafoensia pacari* (Lythraceae).

L'effet anti-inflammatoire des espèces d'*Aloe* est bien décrit dans la littérature. Une préparation à partir du gel d'*Aloe vera* inhibe l'œdème induit par la carragénine et la transmigration des neutrophiles (Vazquez et al. 1996). D'autres espèces d'*Aloe* (*A. saponaria*, *A. arborescens*, *A. ferox*, *A. maculata*, *A. littoralis* etc..) sont connues pour leur activité anti-inflammatoire (Fujita et al. 1979, Grace et al. 2008). Ces propriétés anti-inflammatoires peuvent être mises à profit aussi bien dans le traitement de l'asthme que des plaies cutanées. Cependant, à notre connaissance, il n'existe pas d'étude scientifique montrant l'effet antiasthmaticque des extraits d'*Aloe*. Notre étude s'inscrit donc dans cette démonstration objective d'un effet anti-asthmaticque de l'extrait d'*A. buettneri* utilisé dans nos contrées par les tradipraticiens.

Toutefois, plusieurs travaux démontrent les propriétés cicatrisantes du gel d'*A. vera*, *A. ferox*, *A. esculenta*, *A. maculata* (Grace et al. 2008, Chitra et al. 1998, Jia et al. 2008, Reynolds et Dweck 1999). Nous avons montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* en application topique dans le gel de carbopol à 2,5% accélère la cicatrisation des plaies cutanées chez la souris. L'accélération de la cicatrisation cutanée corrobore les résultats obtenus *in vitro* sur la réparation des cellules en culture lésée, toutefois le mécanisme d'action reste à élucider. Ainsi l'effet de l'extrait sur la prolifération et la migration des fibroblastes en cultures serait envisagé. Son effet serait évalué dans le processus d'angiogenèse et sur la synthèse des facteurs de croissance. Pour cela, il sera intéressant de quantifier l'expression des facteurs de croissance (EGF, TGF β , VEGF...) à différents stades de la cicatrisation cutanée sous l'effet de l'extrait d'*A. buettneri*. Ceci pourra être réalisé par immunohistochimie, western blot ou RT-PCR.

Les anti-inflammatoires pour la plupart non stéroïdiens sont souvent la cause d'ulcérations gastroduodénales. L'effet de l'extrait a été évalué dans un modèle animal sur l'ulcère induit par éthanol 95° et l'acide acétique. L'extrait hydro-alcoolique des

feuilles d'*Aloe buettneri* inhibe à la fois l'ulcère induit par l'éthanol ou par l'acide acétique chez le rat Wistar. Ainsi, en plus de ses propriétés anti-inflammatoires, l'extrait a des propriétés antiulcéreuses. L'induction d'ulcère par l'éthanol est multifactoriel (Singh *et al.* 2007, Souza *et al.* 2003, Bujada 2000). Il est dû à l'exacerbation des facteurs d'agression de la muqueuse gastrique notamment la sécrétion d'acide gastrique couplée aux attaques radicalaires et la défaillance des facteurs de protection (sécrétion de mucus, synthèse de prostaglandines, intégrité de l'épithélium gastrique s'opposant à la rétrodiffusion des ions H^+). En résumé, l'ulcère gastroduodénal est dû à un déséquilibre entre les facteurs de protection et les facteurs d'agression.

L'effet de l'extrait est alors évalué sur la sécrétion acide. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* inhibe l'ulcère induit par l'acide acétique. Son effet dans l'inhibition de la lésion gastrique induite par l'acide acétique passerait par son action à s'opposer à la sécrétion acide. Pour Okabe *et al.* (1972) et Jainu *et al.* (2006), l'acide acétique induit une hypersécrétion acide qui est à la base de l'ulcère gastrique. Ce résultat est confirmé par le test de ligature pylorique (méthode de « shay rat »). L'extrait d'*A. buettneri* inhibe le volume de sécrétion et l'acidité gastrique. En outre l'administration de cet extrait inhibe l'hyperchlorhydrie induite par l'injection d'histamine en s'opposant à l'action de l'histamine (commentaire : ci attention aussi, c'est une opposition à la fonction, non pas antagonisme). Pour Brzozowski *et al.* (1999) la sécrétion de l'acide gastrique est stimulée par voie hormonale (fixation de gastrine sur le récepteur cholécystokinine, de l'histamine sur leurs récepteurs situés sur les cellules pariétales) et la voie nerveuse (fixation de l'acétylcholine sur son récepteur muscarinique situé également sur les cellules pariétales). Selon Barocelli *et Ballabeni* (2003) et Schubert *et Peura* (2008), la fixation de l'histamine sur les récepteurs histaminiques induit la libération de l'acide par les cellules pariétales. L'extrait éthanolique des feuilles de *Dombeya buettneri* (Sterculiaceae) inhibe la sécrétion acide par opposition à l'action de l'histamine et par stimulation de la sécrétion du mucus (Okwari *et al.* 2000). Suvitayavat *et al.* (2004) montrent qu'une préparation contenant 80% du gel d'*A. vera* inhibe la sécrétion acide et stimule la production de mucus. Yusuf *et al.* (2003) montrent qu'un extrait éthanolique d'*A. vera* inhibe l'ulcère induit par une solution d'acide, inhibe l'hypersécrétion acide induite par l'injection d'histamine. Nos résultats sur l'inhibition

de la lésion gastrique par l'extrait d'*A. buettneri* étendent ainsi les propriétés décrites pour d'autres *Aloe* en particulier pour le chef de file *A vera*.

Si la sécrétion chlorhydro-peptique est nécessaire pour provoquer l'ulcère, elle n'est généralement pas suffisante. La défense opposée par la muqueuse doit être en outre débordée, amoindrie ou inadaptée à un excès de sécrétion. Les mécanismes de défense de la muqueuse gastrique comportent la sécrétion de mucus, la régulation du flot sanguin et la synthèse de prostaglandines (Galati *et al.* 2002). L'effet de l'extrait d'*A. buettneri* a ainsi été évalué sur la sécrétion de mucus. Les résultats obtenus montrent que l'extrait stimule cette sécrétion. Le mucus est un facteur important de protection pour la muqueuse gastrique. Selon Hiruma-Lima *et al.* (2006) le mucus gastrique est un gel visqueux, élastique, adhérent et transparent formé d'eau et de glycoprotéines. Il couvre la muqueuse gastro-intestinale entière. Ces auteurs rapportent que les propriétés protectrices de la barrière de mucus dépendent non seulement de la structure du gel, mais aussi de l'épaisseur de la couche qui recouvre la surface des muqueuses. Le mucus protège la muqueuse gastrique contre les produits irritants comme l'éthanol, l'acide chlorhydrique, l'acide acétique. Magri *et al.* (2007) signalent que les prostaglandines stimulent la sécrétion de mucus et de bicarbonate. Il a été démontré que la PGE₂ inhibe l'ulcère gastrique par stimulation de la sécrétion de mucus et par inhibition de la sécrétion acide (Suetsugu *et al.* 2000), par maintien du flux sanguin dans la muqueuse gastrique (Wallace et Devchand 2005). La dissolution du mucus lors de l'induction de l'hypersécrétion acide par l'éthanol pourrait être une explication au mécanisme d'induction d'ulcère par l'éthanol (Bujada 2000). Plusieurs expériences ont montré l'inhibition de l'ulcère par la synthèse de prostaglandines (Goso *et al.* 2007). L'inhibition des cyclooxygénases par l'indométacine, enzymes impliquées dans la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique est bien connue. Dans notre cas, l'induction de l'ulcère par l'éthanol chez les rats prétraités par l'indométacine potentialise la lésion ulcéreuse. Cette potentialisation de l'ulcère par le traitement préalable par l'indométacine serait due à l'inhibition de la synthèse de prostaglandines. L'effet de l'extrait a alors été évalué sur l'ulcère induit par l'éthanol chez les rats prétraités par l'indométacine. L'extrait en inhibant significativement (**P < 0,001) l'ulcère potentialisé par le prétraitement des rats à l'indométacine, s'oppose à l'action de cet anti-inflammatoire non-stéroïdien. Il y aurait alors stimulation de la synthèse et la sécrétion du mucus.

Suvitayavat *et al.* (2004) ont montré que l'extrait d'*A. vera* inhibe l'ulcère par augmentation de la sécrétion de mucus et du pH gastrique. Ceci est corroboré pour l'extrait d'*A. Buettneri* dans nos essais, ce qui aussi étend les propriétés des *Aloe* à l'*Aloe buettneri* de la flore togolaise.

Le monoxyde d'azote synthétisé par les cellules de l'endothélium participe également à la protection de la muqueuse gastrique. En effet, le NO protège la muqueuse gastrique par maintien de l'intégrité de l'épithélium gastrique, par régularisation du débit sanguin de la muqueuse gastrique et par stimulation de la synthèse et de la sécrétion de mucus gastrique (Kalia *et al.* 2000, Pan *et al.* 2005). Le NO est un gaz inorganique facilement diffusible. Son rôle biologique n'a été découvert que vers la fin des années 80 (Culotta et Koshland 1992). Le monoxyde d'azote (NO) est synthétisé à partir d'un acide aminé précurseur, la L-arginine qui se transforme en NO et L-citrulline par oxydation (Yates 2001). Cette réaction est catalysée par la synthétase du monoxyde d'azote (*Nitric Oxide Synthase* ou NOS). Il existe plusieurs isoenzymes, dont la NOS constitutive (cNOS) initialement classée comme dépendant de la calcium-calmoduline et la NOS inductible ou iNOS classée en calcium-calmoduline indépendant. La synthèse de NO catalysée par la cNOS joue plusieurs rôles biologiques : la vasodilatation essentielle à la régulation de la pression sanguine et au maintien du flux sanguin dans la muqueuse gastrique, et la stimulation de la sécrétion de mucus et de bicarbonate (Sadhna *et al.* 2004, Pan *et al.* 2005). Les NOS inductibles, stimulées par certaines cytokines ($\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$, $\text{IL-1}\beta$) catalysent la synthèse de NO dans les conditions pathologiques (Ajuebor *et al.* 1998). Le NG-nitro-L-arginine (L-NNA) comme le NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) qui sont des analogues structuraux inhibent la synthèse de NO par inhibition des NOS. Maria *et al.* (1998) démontrent que le L-NNA exacerbe l'ulcère induit par l'éthanol et que l'effet du dehydroleucodine, un antiulcéreux, est dû à la stimulation de la synthèse de NO. Par ailleurs, la lamtidine, analogue des antagonistes H_2 et contenant des donneurs de NO (furoxan, nitroxy, nitrosothiol) inhibe significativement l'ulcère induit par le HCl 0,6N (Coruzzi *et al.* 2000). Dans notre cas, l'injection intraveineuse de L-NAME 45 mn avant l'induction de l'ulcère potentialise significativement l'ulcère induit par l'éthanol. Ainsi, l'hypothèse d'une augmentation par le L-NAME de l'ulcère induit par l'éthanol est avérée chez le rat. L'administration d'extrait d'*A. buettneri* au rat inhibe significativement l'ulcère potentialisé par le L-NAME. L'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* s'oppose à l'action du L-NAME et de l'éthanol. Des études

menées par Uno *et al.* (1997) ont montré sur cellules épithéliales gastriques en culture le rôle stimulateur de la synthèse des PGE₂ par le monoxyde d'azote. L'extrait en s'opposant à l'action de l'indométacine et du L-NAME agirait ainsi spécifiquement sur l'un ou l'autre des deux mécanismes à savoir la synthèse de PGE₂ et/ou la libération ou la synthèse de NO et/ou par son effet gastroprotecteur de stimulation de la sécrétion de mucus gastrique.

L'effet anti-inflammatoire, antiulcéreux et cicatrisant de l'extrait d'*A. buettneri* provient de ses composants chimiques. En effet, les tests qualitatifs comme quantitatifs révèlent la présence de polyphénols. Les tannins sont bien connus pour leurs propriétés cicatrisantes alors que plusieurs flavonoïdes isolés des plantes présentent des effets anti-inflammatoires. Selon Havsteen (2002), les flavonoïdes inhibent la sécrétion acide alors que Devi *et al.* (2007) attribuent aux polyphénols les propriétés antiulcéreuses notamment la sécrétion de mucus et l'inhibition de la sécrétion acide.

Les résultats obtenus par les analyses CCM ainsi que CHLP confirme la présence des polyphénols dans l'extrait hydrolacoolique des feuilles d'*A. buettberi*. En effet l'analyse CCM de l'extrait et certaines de ses fractions enrichies montrait des bandes de fluorescence bleues et vertes caractéristiques des polyphénols lorsque le solvant est l'acétate d'éthyle/méthanol / eau (100/17/13) et le révélateur est le N/PEG (Wagner et Bladt 2001). Ndhlala *et al.* 2009 ont montré par CCM (plaque de silice) que l'extrait éthanolique d'*A. barberae*, une espèce voisine d'*A. buettneri*, présentait une fluorescence bleue après révélation avec du réactif de Folin-ciocalteu. Le solvant utilisé est le mélange d'acétate d'éthyle/méthanol / eau (100/16,5/13,5). Ils en ont conclu que cet extrait renferme des composés phénoliques. Des résultats similaires sont obtenus avec un extrait d'*A. barbadensis* en utilisant le même solvant mais cette fois-ci le Fast Blue B (réactif caractérisant les phénols totaux) est utilisé comme révélateur. Lee *et al.* (2000) ont observés des fluorescences bleues et jaune-orangées. Pour Gutterman *et al.* (2000) la fluorescence jaune est caractéristique de la barbaloine alors que celle bleue est caractéristique de l'aloïne contenu dans l'extrait d'*A. arborescens*.

Par ailleurs les résultats des tests CHLP ont révélé la présence de l'acide protocatéchique, de l'acide caféique, de l'homo-orientine et de l'acide férulique dans l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* ainsi que ses fractions enrichies 1-3. Ces acides phénoliques sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antiulcéreuses, antioxydantes et cicatrisantes. L'acide férulique est connu pour ses

propriétés antioxydantes et anti-ulcéreuses. Nergard *et al.* (2005) ont montré l'effet antioxydant et anti-ulcéreux de l'acide férulique contenu dans l'extrait de *Cochlospermum tinctorium*. Shin *et al.* (2004) ont montré l'effet anti-inflammatoire de l'acide caféique dans un modèle cellulaire et animal. Ils démontrent dans ce travail l'inhibition de l'œdème et de la douleur par l'administration d'acide caféique chez les rats Sprague–Dawley. Ils ont noté également l'inhibition de la synthèse de NO, de prostaglandines et de TNF- α induit par le LPS (lipopolysaccharide) dans les cellules tumorales RAW264.7. Ces auteurs ont alors conclu que l'acide caféique inhibe l'activité catalytique de la NOS inductible et de la COX-2. L'acide protocatéchique stimule la prolifération cellulaire, réduit l'apoptose et possède un effet antioxydant (Tseng *et al.* 1996, Guan *et al.* 2009). Ainsi, ces différents composés, en plus de ceux non encore identifiés dans l'extrait, pourraient être à la base des effets anti-inflammatoires, anti-ulcéreux et cicatrisants de l'extrait d'*A. buettneri*.

Des composés très polaires de nature polysaccharidique ont également été identifiés, et pourraient également intervenir dans l'activité de l'extrait. Les résultats similaires sont déjà obtenus avec plusieurs espèces d'*Aloe*. Beppu *et al.* (2004), Vazquez *et al.* (1996), Gallagher et Gray (2003) ont démontré, une présence de mucillages, de polysaccharides, d'oligosaccharides dans les extraits de plusieurs espèces d'*Aloe*. Yao *et al.* (2009) ont démontré que des polysaccharides isolés de l'extrait d'*A. barbadensis* accélèrent la cicatrisation de plaie cutanée chez la souris et induisent la prolifération de fibroblastes humains en culture *in vitro*. Ainsi, les composés polysaccharidiques et polyphénoliques que nous avons identifiés dans l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* pourraient être à la base des effets protecteurs et réparateurs de l'extrait. La suite des travaux à entreprendre tentera de le démontrer.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de nos travaux sur un extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* ont montré que l'extrait potentialise la réparation tissulaire chez des cellules épithéliales bronchiques en culture lésées et stimule la cicatrisation cutanée chez des souris. Les mécanismes réparateurs de l'extrait restent entièrement à élucider.

En outre, l'extrait a des propriétés anti-inflammatoires. Ces propriétés anti-inflammatoires sont mises à profit dans un modèle murin d'asthme. L'extrait inhibe l'inflammation bronchique par inhibition de la transmigration des éosinophiles. Toutefois le mécanisme d'inhibition de ces polynucléaires impliqués dans l'inflammation bronchique et la chronicité de l'asthme reste à élucider. Certes, l'extrait inhibe les IL-4 responsables de la différenciation des plasmocytes en lymphocytes B producteurs des IgE. L'action de l'extrait sur les facteurs chimioattractant des éosinophiles à savoir les éotaxines et le RANTES constituerait des pistes de recherches sur son action inhibitrice de la transmigration éosinophilique.

L'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* révèle un effet antiulcéreux chez les rats *wistar*. Il inhibe la sécrétion acide et stimule la sécrétion du mucus. Plusieurs pistes de recherche, à savoir son action sur les récepteurs de l'histamine reste à explorer. Les mécanismes de son effet sur la sécrétion du mucus seront élucidés. Un dosage de NO et de PGE2 serait nécessaire pour comprendre son effet stimulateur de la sécrétion du mucus.

Les fractions actives dans le processus de la réparation tissulaire *in vitro* sont identifiées. L'effet de ces fractions dans la cicatrisation *in vivo* fera l'objet d'étude ultérieure. Par ailleurs les fractions actives restent à identifier dans le processus d'asthme ainsi que celui de l'ulcère gastrique. Une fois ces fractions actives caractérisées, nous isolerons la molécule biactive dans le traitement des trois affections (Asthme, ulcère et plaie cutanée).

Les résultats obtenus au cours de cette thèse apportent des preuves scientifiques à son utilisation dans la médecine traditionnelle togolaise. Le traitement des maladies inflammatoires par les feuilles d'*A. buettneri* constitue un alternatif promettant car son extrait protège la paroi gastrique contre les ulcères gastroduodénaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adam E.C., Holgate S.T., Lackie P.M.

Epithelial repair is inhibited by an 1, 6-fucose binding lectin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2007) 292: L462–L468.

Adjanohoun E.J., Aboubakar N., Dramane K., Ebot M.E., Ekpere J.A., Enow-Orock E.G., Focho D., Gbile Z.O., Kamanyi A., Kamsu-Kom J., Krim A., Mbenkum T., Mbi C.N., Mbome L.L., Mbome L.L., Mobiru N.K., Nancy W.L., Nkongmeneck B., Satabie B., Sofowora A., Tamze V. and Wirmum C.K.

Traditional Medicine and Pharmacopoeia: Contribution to Ethnobotanical and Floristic Studies in Cameroon. *Organization of African Unity Scientific, Technical and Research Commission. Centre National de Production de Manuels Scolaires, Porto-Nov* (1996) p 263.

Adjnohoun E.J., Ahyi M.R.A., Ake Assi L., Akpagana K., Chibon P., El-Hadji A., Eyme J., Garba M., Gassita J.N., Gbeassor M., Goudote E., Guinko S., Hodouto K.-K., Houngnon P., Keita A., Keoula Y. Kluga-Ocloo W. , LO I., Siamevi K.M., Taffame k.K.

Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. *Agence de coopération culturelle et technique* (1986) 1st éd. p 187

Ajuebor M.N., Virag L., Flower R.J., Peretti M., Szabo C.

Role of inducible nitric oxide synthase in the regulation of neutrophil migration in zymosan-induced inflammation. *Immunology* (1998) 95: 625-30

Akers I.A., Parsons M., Hill M.R., Hollenberg M.D., Sanjar S., Laurent G.J., McAnulty R.J.

Mast cell tryptase stimulates human lung fibroblast proliferation via protease-activated receptor-2. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol* (2000) 278: L193–L201

Aklikokou A.K., Gbeassor M., Napo K.

Action Anti-ulcéreuse de quelques plantes médicinales. *Phar. Méd. Trad. Afr.* (1995) 8: 55 – 60

Bao P., Kodra A., Tomic-Canic M., Golinko M.S., Ehrlich H.P. and Brem H.

The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. *J. Surg. Res.* (2009) 153: 347–358

Barnes P.J., Chung K.F. and Page C.P.

Inflammatory Mediators of Asthma: An Update. *Pharmacol. Rev.* (1998) 50 : 515- 596

Barocelli E., Ballabeni V.

Histamine in the control of gastric acid secretion: a topic review. *Pharmacol Res.* (2003) 47: 299–304

Benayoun L., Pretolani M.

Le remodelage bronchique dans l'asthme: mécanismes et enjeux thérapeutiques. *Méd. Sci.* (2003) 19 : 319- 326

Beppu H., Kawai K., Shimpo K., Chihara T., Tamai I., Ida C., Ueda M., Kuzuya H.
Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan- monthly variation and differences due to part and position of the leaf. *Biochem. Syst Ecol.* (2004) 32 : 783–795

Berhaut J. (1988)
Flore illustrée du Sénégal . *Dakar Tome IX*, p 416

Berger P., de Lara JM.T.
Mastocytes et asthme. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Pneumologie* (2007) 6-039-A-43, disponibles sur www.emc-consulte.com

Bi L.C., Kaunitz J.D.
Gastroduodenal mucosal defense: an integrated protective response.
Curr. Opin. Gastroenterol. (2003) 19: 526–532

Birnbaum Y., Ye Y., Lin Y., Freeberg S.Y., Huang MH., Perez-Polo J.R., Uretsky B.F.
Aspirin augments 15-epi-lipoxin A4 production by lipopolysaccharide, but blocks the pioglitazone and atorvastatin induction of 15-epi-lipoxin A4 in the rat heart.
Prostaglandins Other Lipid Mediat. (2007) 83: 89–98

Bonniaud P.
Fibrogenèse pulmonaire, cellules mésenchymateuses et fibrocytes. *Rev. Mal. Respir.* (2007) 24 : 75-77

Bousquet J., Chanez P., Vignola M., P. Godard
Remodelage des voies aériennes dans l'asthme. *Rev. Fr. Allergol.* (1996) 36: 933- 936

Brown L.M.
Helicobacter pylori: Epidemiology and Routes of Transmission. *Epidemiol Rev* (2000) 22 : 283- 290

Brunel J.F., Hiekpo P., Scholz H.
Flore analytique du TOGO – Phanérogames. *Eschborn.* (1984) pp 653 -654

Brzozowski T., Kontureka P.C., Kontureka S.J., Pajdo R., Drozdowicz D., Kwiecien S., Hahn E.G.
Acceleration of ulcer healing by cholecystokinin (CCK): role of CCK-A receptors, somatostatin, nitric oxide and sensory nerves. *Regul. Pept.* (1999) 82: 19–33

Bujada L.
The Effects of Alcohol Consumption Upon the Gastrointestinal Tract. *Am. J. Gastroenterol.* (2000) 95: 3374-3382

Cappasso F., Gaginella T.S.
Laxatives : A practical guide. *Springer, Italia ,millan.* (1997) pp 1-85

Capron M., Capron A., Dombrowicz D.
L'éosinophile, une cellule aux multiples facettes. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* (2002) 42 : 213-218

Capron M., Gruart V., Prin L., Tonnel A.B.

L'éosinophile: récepteurs et médiateurs. *Rev. Fr. Allergol.* (1990) 30 : 71-75.

Chakir J.

Rôle de l'épithélium bronchique dans l'asthme. *Rev. Fr. Allergol.* (2009) 49: 211- 213

Cheng C.L, Guo J.S., Luk J., Koo M.W.L.

The healing effects of Centella extract and asiaticoside on acetic acid induced gastric ulcers in rats. *Life Sciences* (2004) 74 : 2237–2249

Chitra P., Sajithlal G.B., Chandrakasan G.

Influence of *Aloe vera* on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *J. Ethnopharmacol.* (1998a) 59: 179–186

Chitra P., Sajithlal G.B., Chandrakasan G.

Influence of *Aloe vera* on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *J. Ethnopharmacol* (1998b) 59 : 1183-1185

Chu H. W., Balzar S., Seedorf G.J., Westcott J.Y., Trudeau J. B., Silkoff P., Wenzel S.E.

Transforming Growth Factor-2 Induces Bronchial Epithelial Mucin Expression in Asthma. *AJP* (2004) 165: 1097-1106

Corrado B., Rocchina C., Diego C., Gloria L., Mario D.I.

Positive Modulation of pepsinogen Secretion by Gastric Acidity After Vagual Cholinergic Stimulation . *J. Pharmacol. Exp.Ther.* (1997) 283 : 1043-1050

Coruzzi G., Adami M., Morini G., Pozzoli C., Cena C., Bertinaria M. and Gasco A.

Antisecretory and gastroprotective activities of compounds endowed with H2 antagonistic and nitric oxide (NO) donor properties. *J. Physiol.* (2000) 94: 5–10.

Cottin V.

Bronchite à éosinophiles. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* (2008) 48 : 196-200

Culotta E., Koshland D.E.

NO news is good news. *Science* (1992) 258: 1862-1865

Crosswhite F.S., Crosswhite C.D.

Aloe vera, plant symbolism and the threshing floor. *Desert Plants* (1984) 6: 43-50

Dalbeth N. , Haskard D.O.

Mechanisms of inflammation in gout. *Rheumatol.* (2005) 44: 1090–1096

Davis R.H., Leitner M.G., Russo J.

Topical antiinflammatory activity of *Aloe vera* as measured ear swelling. *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* (1987) 77: 610- 612

Decot V., Capron M.

Le polynucléaire éosinophile Structure et fonctions. *Presse Med.* (2006) 35: 113-124

Devi R.S., Narayan S., Vani G., Devi C.S.S.

Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chem. Biol. Interact.* (2007): 167 71–83

Ding M., Kinoshita Y., Kishi K., Nakata H., Hassan S., Kawanam C., Sugimoto Y., Katsuyama M., Negishi M., Narumiya S., Ichikawa A. and Chiba T.

Distribution of Prostaglandin E Receptors in the Rat Gastrointestinal Tract. *Prostaglandins* (1997) 53:199-216

Dockray G. J.

Gastrin and gastric epithelial physiology. *J. Physiol.* (1999) 518, 315-324

Dusserd D.

Rôle des éosinophiles dans l'asthme. *Rev. Mal. Respir.* (2000) 17 :195-201

EFPIA

Ulcère gastro-duodéal. dernière mise à jour : juin 2008

http://www.medicinesformankind.eu/upload/pdf/F_peptic.pdf

Elias J.A., Lee C.G., Zheng T., Shim Y. and Zhu Z.

Interleukin-13 and Leukotrienes. An Intersection of Pathogenetic Schema. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* (2003) 28 : 401–404

El-Zimaity H.M.T.

Recent advances in the histopathology of gastritis. *Curr. Diagn. Pathol.* (2007) 13, 340-348

Eming S.A., Brachvogel B., Odorisio T., Koch M.

Regulation of angiogenesis: Wound healing as a model. *Progress Histochem. Cytochem.* (2007) 42: 115–170

Eming S.A., Hammerschmidt M., Krieg T., Roers A.

Interrelation of immunity and tissue repair or regeneration. *Semin. Cell. Dev. Biol.* (2009) 20: 517-527

Fadok V.A., Bratton D.L., Konowai A., Freed P.W., Westcott J.Y., Henson P.M.

Macrophages that have ingested apoptotic cells *in vitro* inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* (1998) 101: 890-898.

Faler B. J., Macsata R. A., Plummer D., Mishra L., Sidway A.N.

Transforming Growth Factor- β and wound healing. *Perspect. Vasc. Surg. Endovasc. Ther.* (2006) 18: 55- 61

Fandi L.

La maladie ulcéreuse gastro-duodénale. *Développement et santé.* (2000) 147, <http://desvsante.org/IMG/html/doc-10880.html>

Fauve R.M., Hevin MB.

Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. *L'Inflammation, édition John Libbey Eurotext* (1998) PP10-19

Fennerty M.B.

Helicobacter pylori: Why it still matters in 2005. *CCMJ* (2005) 72: S1- S7

Ford C.A., Talley N.J.

Does *Helicobacter pylori* really cause duodenal ulcers? Yes. *BMJ* (2009) 339: b2784
doi: 10.1136/bmj.b2784

Fujita K., Ito S., Teradaira R., Beppe H.

Properties of a carboxypeptidase from Aloe. *Biochem. Pharmacol.* (1979) 28 : 1261-1262

Galati E.M., Pergolizzi S., Miceli N., Monforte M.T. and Tripodo M.M.

Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Cladodes. *J. Ethnopharmacol.* (2002) 83: 229-233.

Gallagher J., Gray M.

Is Aloe Vera Effective for Healing Chronic Wounds? *J WOCN* (2003) 30:68-71.

Garcia G., Humbert M.

L'éosinophile, une cible pour les thérapeutiques du futur. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* (2002) 42 : 241-247

Gill S.E., William C.P.

Metalloproteinases and their inhibitors: Regulators of wound healing. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2008): 40 1334–1347

Gilroy D.W., Colville-Nash P.R., Willis D., Chivers J. Paul-Clarke M.J. Willoughby D.A.

Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med* (1999) 5: 698-701.

Goso Y., Ucno M., Hotta K. and Ishir K.

Protective effects of the whisky congeners on ethanol-induced gastric mucosal damage, *Alcohol. Clin. Exp. Res.* (2007) 31: 390-394.

Grace O.M., Simmonds M.S.J., Smith G.F., vanWyk A.E.

Therapeutic uses of Aloe L. (Asphodelaceae) in southern Africa. *J. Ethnopharmacol.* 119 (2008) 604–614

Greenhalgh D.G.

The role of apoptosis in wound healing. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (1998) 30: 1019-1030

Grindlay D., Reynolds T.

The Aloe vera phenomenon : A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *J. Ethnopharmacol* (1986) 16: 117-151

Guan S., Ge D., Liu TQ., Ma XH., Cui ZF.

Protocatechuic acid promotes cell proliferation and reduces basal apoptosis incultured neural stem cells. *Toxicology in Vitro* (2009) 23: 201–208

Guo YS., Cheng JZ., Jin GF., Gutkind J.S., Hellmich M.R. and Townsend C. M.
Gastrin Stimulates Cyclooxygenase-2 Expression in Intestinal Epithelial Cells through Multiple Signaling Pathways. Evidence for involvement of erk5 kinase and transactivation of the epidermal Growth factor receptor. *J. Biol. Chem.* (2002) 277: 48755–48763

Gutterman Y., Chauser-Volfson E.

The distribution of the phenolic metabolites barbaloin, aloeresin and aloenin as a peripheral defense strategy in the succulent leaf parts of *Aloe arborescens* *Biochem Syst. Ecol.* (2000) 28: 825- 838

Halayko A.J., Amrani Y.

Mechanisms of inflammation-mediated airway smooth muscle plasticity and airways remodeling in asthma. *Respir. Physiol. Neurobiol.* (2003) 137: 209-222

Harris A., Misiewicz J.J.

ABC of the upper gastrointestinal tract. Management of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* (2001) 323 : 1047- 1050

Havsteen B.H.

The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Ther.* (2002) 96 : 67-202

Henriksnas J., Phillipson M., Storm M., Engstrand L., Soleimani M. and Holm L.

Impaired mucus-bicarbonate barrier in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (2006) 291: 396–403.

Hobsley M., Tovey F.I., Holton J.

Controversies in the *Helicobacter pylori*/duodenal ulcer story. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* (2008) 102:1171—1175

Hobsley M., Tovey F.I., Bardhan D.K., Holton J.

Does *Helicobacter pylori* really cause duodenal ulcers? Yes. *BMJ* (2009) 339: b2788
doi: 10.1136/bmj.b2784

Hiruma-Lima C.A., Calvo T.R., Rodrigues C.M., Andrade F.D.P. and Vilegas W., Souza Brito A.R.M.

Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: Effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. *J. Ethnopharmacol.* (2006) 1004: 215-224.

Holgate S.T.

Epithelium dysfunction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* (2007) 120:1233-1244

Hounkpati A., Hounkpati H.Y., Kpanla E., Balogou K.A., Tidjani O.

Evaluation de la prise en charge de l'asthme en Afrique : enquête nationale auprès des médecins et internes du Togo. *Rev. Mal. Resp.* (2009) : 1-22 DOI : 10.1019/2009 4000

Howat W.J., Holgate S.T., Lackie P.M.

TGF-isoform release and activation during in vitro bronchial epithelial wound repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2002) 282:115-123.

Humbert M.

Cytokines pro-éosinophiles et maladie asthmatique. *Rev. Fr. Allergol.* (1998) 38: 50-55.

Ian M.P.J., Yana Z., Juanata L.M., Denise K.

A model for integrative study of human gastric acid secretion. *J. Appl. Physiol.* (2003) 94: 1602-1618

Ischii Y., Tanizawa H., Takimo Y.

Studies of Aloe III. Mechanism of cathartic effect. *Chem. Pharmacol. Bull.* (1990) 38 : 197-200

Ito Y., Okuda S., Ohkawa F., Kato S., Mitsufuji S., Yoshikawa T., Takeuchi K.

Dual role of nitric oxide in gastric hypersecretion in the distended stomach: Inhibition of acid secretion and stimulation of pepsinogen secretion. *Life Sciences* (2008) 83 : 886–892

Jainu M., Srinivasulu C., Devi S.

Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: Possible mechanism for the inhibition of acid formation. *J. Ethnopharmacol* (2006) 104: 156–163

Jia Y., Zhao G., Jia J.

Preliminary evaluation: The effects of *Aloe ferox* Miller and *Aloe arborescens* Miller on wound healing. *J. Ethnopharmacol* (2008) 120: 181–189

Jung W.K., Choi I., Oh S., Park S.G, Seo S.K, Lee S.W, Lee D.S, Heo S.J., Jeon Y.J., Je J.Y., Ahn C.B., Kim J.S., Oh K.S., Kim Y.M., Moon C., Choi I.W.

Anti-asthmatic effect of marine red alga (*Laurencia undulata*) polyphenolic extracts in a murine model of asthma. *Food Chem. Toxicol.* (2009) 47: 293–297

Kalia N., Bardhan K., Wr Reed M., Jacob S. and Brown N.J.

L-Arginine protects and exacerbates ethanol-induced rat gastric mucosal injury. *J. Gastroenterol. and Hepatol.* (2000) 15: 915-924.

Kamath S., Blann A.D. and Lip G.Y.H.

Platelet activation: assessment and quantification. *Eur. Heart J.* (2001) 22: 1561–1571

Kantarci A. and Dyke T.E.V.

Lipoxins in chronic inflammation. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* (2003) 14: 4- 10

Kelly P., Katema M., Amadi B., Zimba L., Aparicio S., Mudenda V., Baboo K.S., Zulu I.

Gastrointestinal pathology in the University teaching hospital, Lusaka, Zambia: review of endoscopic and pathology records. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* (2008) 102: 194- 199

Koff J.L., Shao M.X.G., Kim S., Ueki I.F., Nadel J.A.

Pseudomonas Lipopolysaccharide Accelerates Wound Repair via Activation of a Novel Epithelial Cell Signaling Cascade. *J. Immunol.* (2006) 177: 8693– 8700

Koike T., Shimada T., Fujii Y., Chen G., Tabei K., Namatame T., Yamagata M., Tajima A., Yoneda M., Terano A., Hiraishi H.

Up-regulation of TFF1 (pS2) expression by TNF- α in gastric epithelial cells. *J. Gastroenterol. and Hepatol.* (2007) 22: 936- 942

Lee K.Y., Weintraub S.T., Yu B.P.

Isolation And Identification Of A Phenolic Antioxidant From *Aloe Barbadensis*. *Free Radic. Biol. Med.* (2000) 28: 261–265

Lee YC., Kim SH.

Immunomodulatory effect of *Juglans sinensis*, *Psoralea corylifolia*, Cheong-a-hwan extract and cyclosporine A on Th1(IFN- γ)/Th2(IL-4) cytokine balance, eosinophil accumulation in a murine model of asthma. *Phytochem. Lett.* (2008) 1 : 6–10

Magri L.D.P., Batista L.M., Almeida A.B.A., la Farias-Silva E., Areas M.A. and Souza Brito A.R.M.

Dietary fibers prevent ethanol and nonsteroidal anti-inflammatory drug–induced gastric mucosal damage in rats. *Nutr. Res.* (2007) 27: 109–112.

Mahachai V., Tangkijvanich P., Wannachai N., sumpathanukul P., Kullavanijava P.

CagA and Vac: virulence factors of *Helicobacter pylori* in Thai patients with gastroduodenal diseases. *Helicobacter* (1999) 4: 143-147

Malfertheiner P., Chan F.K.L., McColl K.E.L.

Peptic ulcer disease. *Semin* (2009) <http://www.thelancet.com>, Publié le 14/08/ 2009 DOI:10.1016/S0140-6736(09)60938-7

Mamessier E., Botturi K., Vervloet D., Magnan A.

Lymphocytes T régulateurs, atopies et asthme : un nouveau concept en trois dimensions. *Rev Mal Respir* (2005) 22: 305- 311

Manuel J.A., Gawronska-Kozak B.

Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) is upregulated during scarless wound healing in athymic nude mice. *Matrix Biol.* (2006) 25: 505–514

Maria A.O.M., Wendel G.H., Guzman J.A., Giordano O.S. and Guerreido E.

Gastric cytoprotective activity of dehydroleucodine in rats, Role of nitric oxide. *Pharmacol. Res.* (1998) 37: 281-284

Martel-Pelletier J., Pelletier JP., and Fahmi H.

Cyclooxygenase-2 and Prostaglandins in Articular Tissues. *Semin. Arthritis Rheum.* (2003) 33:155-167

Martin P.

Wound Healing-Aiming for Perfect Skin Regeneration. *Science* (1997) 276 : 74-81

Marsolais D., Frenette J.

Inflammation et réparation tendineuse. *Medecine/sciences* (2005) 21 : 181-6

Martin P.

Wound healing- Aiming for perfect Skin Regeneration. *Science* (2007) 276: 76- 81

Metowogo K., Agbonon A., Ekl-Gadegbeku K., Aklikokou A.K., Gbeassor M.

Anti-ulcer and anti-inflammatory effects of hydro-alcoholic extract of *Aloe buettneri* A. Berger (Liliaceae). *Trop J Pharm Res* (2008) 7: 907-912

Miller L.A., Butcher E.C.

Human airway epithelial monolayers promote selective transmigration of memory T cells: a transepithelial model of lymphocyte migration into airways. *Am J Respir Cell Mol Biol* (1998) 19: 892- 900

Mimi L.K. Tang, John W. Wilson, Alastair G. Stewart, Simon G. Royce.

Airway remodeling in asthma: Current understanding and implications for future therapies. *Pharmacol. Ther.* (2006) 112: 474- 488

Moraes T.M., Kushima H., Moleiro F.C., Santos R.C., Rocha L.R.M., Marques M.O., Vilegas W., Hiruma-Lima C.A.

Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chem. Biol. Interact.* (2009) 180 : 499–505

Morschla E., Bretus I., Pavo I., Topa L., Weiszhar Z., Laszlo F.

Nitric oxide-mediated mucus hypersecretion protects the stomach of ovariectomized rats. *Eur. J. Pharmacol.* (2000) 392: R5–R7

Morton J.F.

Folk uses and commercial exploitation of leaf pulo. *Econ. Bot.* (1961) 15: 311-319

Mutsaers S.E., Bishop J.E., Mcgrouter G., Laurent G.J.

Mechanisms of Tissue Repair: from Wound Healing to Fibrosis. *int. J. Biochem. Cell Biol.* (1997) 29: 5-17

Na HK., Surh YJ.

Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) ligands as bifunctional regulators of cell proliferation. *Biochem. Pharmacol.* (2003) 66 : 1381–1391

Ndhlala A.R., Amoo S.O., Stafford G.I., Finnie J.F., Staden J.V.

Antimicrobial, anti-inflammatory and mutagenic investigation of the South African tree aloe (*Aloe barberae*). *J. Ethnopharmacol.* (2009) 124: 404–408

Nergard C.S., Diallo D., Inngjerdigen K., Michaelsen T.E., Matsumoto T., Kiyohara H., Yamada H., Paulsen B.S.

Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* in Mali Anti-ulcer, radical scavenging and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. *J. Ethnopharmacol.* (2005) 96: 255–269

Nikiéma J.B., Djierro K., Simpore J., Sia D., Sourabié S., Gnoula C.

Stratégie d'utilisation des substances naturelles dans la prise en charge des personnes vivant avec le VIH : Expérience du Burkina Faso. *Ethnopharmacologia* (2009) 43: 47- 51

- Ohkusa T., Okayasu I., Miwa H., Ohtaka K., Endo S. and Sato N.**
Helicobacter pylori infection induces duodenitis and superficial duodenal ulcer in Mongolian gerbils. *Gut* (2003) 52: 797- 803
- Okabe S., Pfeifler C.J.**
 Chronicity of Acetic Acid Ulcer in the Rat Stomach. *Dig. Dis.* (1972) 17: 619
- Okay A., Can A., Akev N., Bakler G., Sutlupinar N.**
 Effect of *Aloe vera* leaves on blood glucose level in type I and type II diabetic rat models. *Phytother. Res.* (2001) 15: 157–161
- Okwari O.O., Ettarh R.R., Akpogomeh B.A., Eteng M.U.**
 Gastric anti-secretory and anti-ulcerogenic effects of *Dombeya buettneri* in rats. *J. Ethnopharmacol.* (2000) 71: 315–319
- Ota S., Razandi M., Krause W., Terano A., Hiraishi H. and Ivey K.J.**
 Prostaglandin E₂ output by isolated rat gastric parietal cells and non-parietal epithelial cells. *Prostaglandins* (1988) 36 : 589-600
- Pan L, Tang Q, Fu Q, Hu B, Xiang J and Qian J.**
 Roles of nitric oxide in protective effect of berberine in ethanol-induced gastric ulcer mice. *J. Acta Pharmacol. Sin.* (2005) 26: 1334-1338.
- Pocock de G., Richards C.D.**
 Physiologie humaine : les fondements de la médecine. *Edition masson* (2004) p 413
- Polosa R., Prosperini G., Leir SH., Holgate S.T., Lackie P.M., Davies D.E.**
 Expression of c-erbB receptors and ligands in human bronchial mucosa. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* (1999) 20:914–923.
- Prin L.**
 Mastocytes, basophiles, éosinophiles : Analyse des marqueurs biologiques. *Rev. fr. Allergol.* (1996) 36 : 889-896.
- Puddicombe S.M., Polosa R., Richter A., Krishna M.T., Howarth P.H., Holgate S.T., Davies D.E.**
 Involvement of the epidermal growth factor receptor in epithelial repair in asthma. *FASEB J.* (2000)14, 1362–1374
- Puxeddu I. and Levi-Schaffer F.**
 Mast cells and eosinophils: the “hallmark” of asthma. *Ped. Respir. Rev.* (2004) 5: S31-S34
- Qiu Z., Jones K., Wylie M., Jia Q., Orndorff S.**
 Modified *Aloe barbadensis* polysaccharide with immuno-regulatory activity. *Planta Med.* (2000) 66 :152-156
- Radi Z.A., Khan N.K.**
 Effects of cyclooxygenase inhibition on the gastrointestinal tract. *Exp.Toxicol. Pathol.* (2006) 58: 163–173

Reynolds T., Dweck A.C.

Aloe vera leaf , a review update. *J. Ethnopharmacology* (1999) 68: 3-37

Ribereau-Gayon P.

Les Composes Phenoliques des Vegetaux. (1968) *Dumond, Paris*

Rogério A.P., Fontanari C., Borducchi É., Keller A.C., Russo M., Soares E.G., Albuquerque D.A., Faccioli L.H.

Anti-inflammatory effects of *Lafoensia pacari* and ellagic acid in a murine model of asthma. *Eur. J. Pharmacol.* (2008) 580: 262–270

Rudi J., Rudy A., Maiwald M., Sieg D., Stremmel W.

Direct determination of *Helicobacter pylori* *vacA* genotypes and *cagA* gene in gastric biopsies and relationship to gastrointestinal diseases. *Am J. gastroenterol* (1999) 94: 1525- 1531

Ruggeri Z.M., Mendolicchio G.L.

Adhesion Mechanisms in Platelet Function. *Circ. Res.* (2007)100 :1673-1685

Sadhna S., Monika S., Sugata R., Praveen K., Mridula B.

Mycobacterium tuberculosis induces high production of nitric oxide in coordination with fresh active tuberculosis but not in MDR tuberculosis. *Immunol. . Cell Biol.* (2004) 82: 337-382

Salles N.

Infection à *Helicobacter pylori* chez la personne âgée. *Rev. Med. Interne* (2007) 28: 400–411

Sanchez-Fidalgo S., Martin-Lacave I., Illanes M., Motilva V.

Angiogenesis, cell proliferation and apoptosis in gastric ulcer healing. Effect of a selective cox-2 inhibitor. *Eur. J. Pharmacol.* (2004) 505: 187-194

Schnackenberg B.J., Jones S.M., Pate C., Shank B., Sessions L., Pittman L.M., Cornett L.E., Kurten R.C.

The -agonist isoproterenol attenuates EGF-stimulated wound closure in human airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2006) 290: L485–L491.

Schubert M.L., Peura D.A.

Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease. *Gastroenterol* (2008)134:1842–1860

Schwentker A., Vodovotz Y., Weller R. and Billiar T.R.

Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? *Nitric Oxide* (2002) 7: 1–10

Segal I., Ally R., Mitchell H.

Helicobacter pylori-an African perspective. *QJ Med* (2001) 94: 561- 565

Sharara A.I., Abdul-Baki H., ElHajj I., Kreideih N., Baz K.E.M..

Association of gastroduodenal disease phenotype with ABO blood group and *Helicobacter pylori* virulence-specific serotypes. *Dig. Liv. Dis.* (2006) 38: 829-833.

Shin KM., Kim IT., Park YM., Ha J., Choi JW., Park HJ., Lee Y.S., Lee KT.
Anti-inflammatory effect of caffeic acid methyl ester and its mode of action through the inhibition of prostaglandin E2, nitric oxide and tumor necrosis factor- α production. *Biochem. Pharmacol.* (2004) 68: 2327–2336

Singh L.P., Kundu P., Ganguly K., Mishra A., Swarnakar S.
Novel role of famotidine in downregulation of matrix metalloproteinase-9 during protection of ethanol-induced acute gastric ulcer. *Free Radic. Biol. Med.* (2007) 43: 289–299

Slice L.W., Hodikian R. And Zhukova E.
Gastrin and EGF Synergistically Induce Cyclooxygenase-2 Expression in Swiss 3T3Fibroblasts That Express the CCK2 Receptor. *J. Cell. Physiol.* (2003) 196:454–463

Souza H.S.P., Elia C.C.S., Braulio V.B., Cortes M.Q., Furtado V.C.S., Garrofe H.C., Martinusso C.A.
Effects of ethanol on gut-associated lymphoid tissues in a model of bacterial translocation: a possible role of apoptosis. *Alcohol* (2003) 30: 183–191

Strodtbeck F.
Physiology of Wound Healing. *Newborn Infant Nurs. Rev.* (2001) 1: 43–52

Suetsugu H., Ishihara S., Moriyama N., Kazumori H., Adachi K., Fukuda R., Watanabe M. And Kinoshita Y.
Effect of rebamipide on prostaglandin EP4 receptor gene expression in rat gastric mucosa. *J. Lab. Clin. Med.* (2000) 136: 50-57.

Suvitayavat W., Sumrongkit C., Thirawarapan S.S. and Bunyapraphatsara N.
Effects of Aloe preparation on the histamine-induced gastric secretion in rats *J. Ethnopharmacol.* (2004) 90: 239-247

Szabo S., Vincze A.
Growth factors in ulcer healing: Lessons from recent studies. *J. Physiol. (Paris)* (2000) 94 : 77–81

Takahashi S., Fujita T., Yamamoto A.
Role of nuclear factor- κ B in gastric ulcer healing in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (2001) 280: 1296–1304.

Takahashi S., Kobayashi N. and Okabe S.
Regulation by Endogenous Interleukin-1 of mRNA Expression of Healing-Related Factors in Gastric Ulcers in Rats. *JPET* (1999) 291:634–641

Takeuchi K., Tanaka A., Hayashi Y., Kubo Y.
Functional Mechanism Underlying COX-2 Expression Following Administration of Indomethacin in Rat Stomachs: Importance of Gastric Hypermotility. *Dig. Dis. Sci.* (2004) 49:180-187

Tan P. V., Enow-Orock G.E., Dimo T., Nyasse B., Kimbu S.F.

Evaluation of the anti-ulcer and toxicity profile of *aloe buettneri* in laboratory animals. *Afr. J. Trad. CAM.* 3 (2006) 8 - 20.

Tanaka J., Yuda Y., Inouye S., Yamakawa T.

The role of nitric oxide in the gastric acid secretion induced by ischemia–reperfusion in the pylorus-ligated rat. *Eur. J. Pharmacol.* (2001) 424: 69–74

Tang M.L.K., Wilson J.W., Stewart A.G., Royce S.G.

Airway remodelling in asthma: Current understanding and implications for future therapies. *Pharmacol. Ther.* (2006) 112 : 474–488

Tarnawski A., Szabo I.L., Husain S.S., Soreghan B.

Regeneration of gastric mucosa during ulcer healing is triggered by growth factors and signal transduction pathways. *J. Physiol.* (2001) 95: 337-344

Telefo P.B., Moundipa P.F., Tchouanguep F.M.

Oestrogenicity and effect on hepatic metabolism of the aqueous extract of the leaf mixture of *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* and *Justicia insularis*. *Fitotherapy* 73 (2002) 472-478.

Telefo P.B., Moundipa P.F., Tchouanguep F.M.

Inductive effect of the leaf mixture extract of *Aloe buettneri*, *Justicia insularis*, *Dicliptera verticillata* and *Hibiscus macranthus* on in vitro production of estradiol. *J. Ethnopharmacol.* 91 (2004) 225-230.

Tétreault MP., Chailier P., Rivard N., Mé D.

Differential growth factor induction and modulation of human gastric epithelial regeneration. *Exp. Cell Res.* (2005) 306 : 285 – 297

Tillie-Leblond I., Iliescu C., Deschildre A.

Physiopathologie de la réaction inflammatoire dans l'asthme. *Archive de pédiatrie* (2004) 11: 58s- 64s

Traoré A., Derme A.I., Sanon S., Gansane A., Ouattara Y., Nebié I., Sirima S.B.

Connaissance ethnobotaniques et pratiques phytothérapeutiques des tradipraticiens de santé de la Comoé pour le traitement du paludisme : processus d'une recherche scientifique de nouveaux antipaludiques au Burkina Faso. *Ethnopharmacologia* (2009) 43: 35- 46

Tseng TH., Wang CJ., Kao ES., Chu hY.

Hibiscus protocatechuic acid protects against oxidative damage induced by *tert*butylhydroperoxide in rat primary hepatocytes. *Chemico-Biol. Interact.* (1996) 101: 137- 148

Uno I., Arakawa T., Fukuda T., Yu H., Fujiwara Y., Higuchi K., Houe M. and Kobayashi K.

Nitric Oxide Stimulates Prostaglandin Synthesis in Cultured Rabbit Gastric Cells. *Prostaglandins* (1997) 53:153-162

Vazquez B., Avila G., Segura D., Escalante B.

Antiinflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel. *J. Ethnopharmacol.* (1996) 55 : 69-75

Venkataraman C., Justen K., Zhao J., Galbreath E., Na S.

Death receptor-6 regulates the development of pulmonary eosinophilia and airway inflammation in a mouse model of asthma. *Immunol. Lett* (2006) 106: 42-47

Vilkin A., Levi Z., Morgenstern S., Shmueli H., Gal E., Hadad B., Hardi B., and Niv Y.

Higher Gastric Mucin Secretion and Lower Gastric Acid Output in First-degree Relatives of Gastric Cancer Patients. *J Clin Gastroenterol.* (2008) 42: 36 – 41

Wagner H., Bladt S.

Plant drug analysis: A thin layer chromatography. 2^{ème} edition Springer (2001) pp 56-62

Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J., Kowalska T.

Thin layer chromatography in phytochemistry. Chromatographie Science Series (2008) pp 267- 269

Wallace J.L.

Recent advances in gastric ulcer therapeutics. *Curr. Opin. Pharmacol.* (2005) 5:573–577

Wallace J.L., Devchand P.R.

Emerging roles for cyclooxygenase-2 in gastrointestinal mucosal defence. *Br. J. Pharmacol.* (2005) 145: 275-282

Wallace J.L., de Lima O.M., Fiorucci S.

Lipoxins in gastric mucosal health and disease. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* (2005) 73 : 251–255

Walter D.M., McIntire J.J., Berry G., McKenzie A.N.J., Donaldson D.D., DeKruyff R.H. and Umetsu D.T.

Critical Role for IL-13 in the Development of Allergen-Induced Airway Hyperreactivity. *J. Immunol.* (2001) 167: 4668–4675

Wang D., Mann J.R., Dubois R.N.

The role of prostaglandins and other eicosanoids in the gastrointestinal tract. *Gastroenterol.* (2005) 128:1445–1461

Werner S., Grose R.

Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* (2003) 83: 835- 870

Wilgus T.A.

Immune cells in the healing skin wound: Influential players at each stage of repair. *Pharmacol. Res.* (2008) 58: 112–116

Witte M.B., Barbul A.

Role of nitric oxide in wound repair. *Am. J. Surg.* (2002) 183: 406–412

Yagi A., Harada N., Yamada H., Iwadare S., Nishioka I.

Antibradykinin active material in *Aloe saponaria*. *J. Pharm. Sci.* (1982) 72 : 1172-1174

Yao H., Chen Y., Li S., Huang L., Chen W. and Lin X.

Promotion proliferation effect of a polysaccharide from *Aloe barbadensis* Miller on human fibroblasts in vitro. *Int. J. Biol. Macromol.* (2009) 45 : 152-156

Yates D.H.

Role of exhaled nitric oxide in asthma. *Immunol. Cell Biol.* (2001) 79: 178-190

Yu QH., Qian Y.F

Diversity of tight junctions (TJs) between gastrointestinal epithelial cells and their function in maintaining the mucosal barrier. *Cell Biol. Int.* (2009) 33 78-82

Yusuf S., Agunu A. and Diana M.

The effect of *Aloe vera* A. Berger (Liliaceae) on gastric acid secretion and acute gastric mucosal injury in rats. *J. Ethnopharmacol.* (2004) 93: 33-37

Résumé

Les feuilles d'*Aloe buettneri* sont utilisées dans la médecine traditionnelle togolaise et dans d'autres contrées de l'Afrique pour le traitement des maladies inflammatoires, la toux, les plaies chroniques, les infections génito-urinaires et les affections gastro-intestinales. Les tests préliminaires que nous avons effectués chez le rat Wistar ont confirmé les effets anti-inflammatoire et anti-ulcéreux d'un extrait hydro-alcoolique de feuilles d'*A. buettneri*. L'extrait d'*A. buettneri* ayant à la fois la capacité de soigner les maladies inflammatoires et de protéger la paroi gastrique mérite de faire l'objet d'investigations scientifiques poussées. Ainsi l'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* et de ses fractions actives sur la réparation tissulaire et la cicatrisation en utilisant différents modèles d'agression tissulaire.

L'effet de cet extrait est alors évalué *in vitro* sur le processus de réparation tissulaire en utilisant deux lignées différentes de cellules bronchiques humaines, les cellules H292 et 16HBE. Les résultats obtenus montrent que l'extrait, ainsi que certaines de ses fractions, accélèrent la réparation du tissu lésé. Il potentialise également la cicatrisation cutanée chez des souris.

Dans un modèle murin d'asthme aigu à l'ovalbumine chez la souris, l'extrait présente une activité anti-inflammatoire. Son administration par voie orale à la dose de 500 mg/kg diminue de 40% le nombre de cellules inflammatoires retrouvées dans le BAL. Il inhibe le recrutement des éosinophiles de 50% et la libération IL-4. Par contre il est sans effet sur IL-5.

L'effet antiulcéreux de l'extrait est évalué chez les rats *wistar*. Les résultats obtenus montrent qu'il inhibe l'ulcère induit par l'éthanol 95°, l'acide acétique à 100%, l'ulcère potentialisé par le L-NAME et l'indométacine. Les résultats montrent que l'extrait d'*A. buettneri* inhibe significativement ($P < 0,01$) l'ulcère induit par l'éthanol et l'acide acétique. L'ulcère induit par éthanol est inhibé de 23,75% et de 33,75% respectivement lorsque les rats sont traités à la dose de 250 et 500 mg/kg d'extrait. Lorsqu'il est induit par l'acide acétique l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*Aloe buettneri* inhibe les ulcérations de 71% à la dose de 500 mg/kg. A la dose de 250 et 500 mg/kg, il stimule la sécrétion du mucus gastrique respectivement de 246% et 497%. L-NAME (inhibiteur de synthèse de NO) et l'indométacine (inhibiteur de synthèse de PG) potentialisent l'ulcère induit par l'éthanol en inhibant la sécrétion du mucus. L'extrait à la dose de 500 mg/kg inhibe significativement ($P < 0,001$) l'ulcère potentialisé par l'indométacine comme par L-NAME.

L'extrait montre également une activité antioxydante aux tests de DPPH et de l'AAPH.

L'hyperchlorhydrie constitue un maillon important dans la survenue de l'ulcère gastrique. L'extrait induit une diminution du volume de la sécrétion gastrique tout comme une diminution de la production de HCl gastrique. Dans le groupe contrôle, le volume de la sécrétion est de $560 \pm 0,04 \mu\text{l}$, alors qu'il est de $274 \pm 0,04$ chez les rats traités à la dose de 500 mg/kg d'extrait. La production gastrique de HCl est inhibée parallèlement. A la dose de 500 mg/Kg, l'extrait inhibe également l'hyperchlorhydrie induite par l'histamine.

L'analyse chimique qualitative et quantitative de l'extrait a montré qu'il contient des tanins et des flavonoïdes. La CCM et l'HPLC de l'extrait confirment la présence de polyphénols de types flavonoïdes, acides phénoliques et des polysaccharides.

En conclusion l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'*A. buettneri* possède des propriétés cicatrisantes mises à profit dans la réparation tissulaire *in vitro* et la cicatrisation des plaies cutanées. Ses propriétés anti-inflammatoires sont confirmées dans un modèle d'asthme. Il possède également des effets antiulcéreux. Il est composé majoritairement des polyphénols et des substances polaires de nature saccharidique.

Mots clés : *Aloe buettneri*, extraction, fractionnement, inflammation bronchique, ulcère gastrique, réparation tissulaire.

Summary

The leaves of *Aloe. buettneri* are used in Togolese traditional medicine and in other parts of Africa for the treatment of inflammatory diseases, cough, chronic wounds, genito-urinary infections and gastro-intestinal affection. Preliminary tests that we performed on Wistar rats have shown the anti-inflammatory and anti-ulcer effect of *A. buettneri* hydroalcoholic extract. The extract of *A. buettneri* having both the ability to treat inflammatory diseases and protect the stomach wall deserves to be a subject of extensive scientific investigation. Thus the objective of this work is to study the effect of a hydroalcoholic extract of leaves of *A. buettneri* and its actives fractions on tissue repair and wound healing using different models of tissue aggression.

The effect of this extract is therefore evaluated *in vitro* on the process of tissue repair, using two different lines of human bronchial cells: H292 and 16HBE. The results obtained show that the extract and some of its fractions, accelerate the repair of damaged tissue. It also enhances skin wound healing in mice.

In a murin model of acute asthma to ovalbumin in mice, the extract has an anti-inflammatory effect. The oral administration of *A. buettneri* extract at dose of 500 mg / kg decreased by 40% the number of inflammatory cells found in BAL. It inhibits the transmigration of eosinophils by 50% and inhibits IL-4 release. However, it has no effect on IL-5 release.

The antiulcer properties of the extract were evaluated in Wistar rats. The results obtained show that it inhibits ulcer induced by ethanol 95%, acetic acid 100% and ulcer exacerbated by L-NAME or indomethacin. The results show that the extract of *A. buettneri* significantly ($P < 0.01$) inhibits ulcer induced by ethanol and acetic acid. Ulcer induced by ethanol was inhibited by 23.75%, 33.75%, respectively when rats are treated with 250 and 500 mg / kg at dose of extract. When ulcer is induced by acetic acid, hydroalcoholic extract of *A. buettneri* leaves inhibits ulceration of 71% at a dose of 500 mg / kg. It stimulates gastric mucus secretion by 246% and 497% respectively at doses of 250 and 500 mg / kg. L-NAME (inhibitor of NO synthesis) and indomethacin (inhibitor of PG synthesis) aggravate ulcer induced by ethanol. The extract at a dose of 500 mg / kg significantly ($P < 0.001$) inhibits ulcer exacerbated by indomethacin as by L-NAME. The extract also showed antioxidant activity in DPPH and AAPH tests.

Hyperchlorhydria is an important link in the occurrence of gastric ulcer. The extract decreases gastric acid secretion and gastric volume significantly. In the control group of rats, the gastric volume is 560 ± 0.04 μ l, whereas it is 274 ± 0.04 in treated rats at a dose of 500 mg / kg of extract. The gastric acid production is also inhibited. At dose of 500 mg / kg of the extract, hyperchlorhydria induced by histamine was inhibited.

Chemical analysis of qualitative and quantitative extract showed that it contains tannins and flavonoid. The TLC and HPLC of the extract confirmed the presence of polyphenols, flavonoids, phenolic acids and polysaccharides.

In conclusion, the hydroalcoholic extract of *A. buettneri* leaves stimulates *in vitro* tissue repair and potentiate skin wounds healing. Its anti-inflammatory properties were confirmed in a model of asthma. It also has anti-ulcer effects. Polyphenols and polar substances such as saccharide are the major component.

Key words: *Aloe buettneri*, extraction, fractionation, bronchic inflammation, gastric ulcer, tissue repair.