

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET
PHYSIOLOGIE ANIMALES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND
PHYSIOLOGY

**EFFETS CYTOPROTECTEURS, ANTIOXYDANTS,
ANTI-SECRETOIRES ET CURATIFS DE
EREMOMASTAX SPECIOSA (ACANTHACEAE) SUR
LES ULCERES GASTRIQUES INDUITS CHEZ LES RATS**

Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Animaux

Par :

AMANG André Perfusion
DEA en Physiologie Animale

Sous la direction
TAN Paul Vernyuy
Maître de Conférences

Année Académique
2014-2015





AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com

DÉDICACE

Je dédie affectueusement ce travail à mes fils **AMANG NGASSAM André Claude Nathanaël** et **AMANG NDEME André Hans Maël**, pour la motivation que leur arrivée au monde a pu m'apporter. Je voudrai que ce travail soit pour vous un exemple à suivre.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'aurait été possible sans le concours de plusieurs personnes qui me sont chères et que je tiens à remercier. Je pense notamment :

- au Pr Paul TAN, qui malgré son emploi de temps chargé a pu sacrifier une partie de son temps pour ce travail. Auprès de vous, j'ai pu apprécier la rigueur scientifique et de nombreuses qualités humaines. Les résultats obtenus aujourd'hui sont le fruit de vos conseils et de vos critiques constructives. Soyez rassuré de ma profonde gratitude ;

- au Pr Théophile DIMO du Laboratoire de Physiologie Animale, du Département de Biologie et Physiologie Animales, pour son assistance matérielle ;

- au Pr Barthélemy NYASSE du Laboratoire de Chimie Médicinale, du Département de Chimie Organique, pour sa parfaite collaboration ;

- au Pr Elie FOKOU du Laboratoire de Biochimie Alimentaire, du Département de Biochimie, qui m'a permis gracieusement l'usage de son pH-mètre ;

- au Pr Julius OBEN du Laboratoire de Biochimie Alimentaire, du Département de Biochimie, qui a mis à ma disposition sa balance de précision ;

- au Dr Christophe MEZUI du Laboratoire de Physiologie Animale, de L'ENS de Yaoundé, pour ses conseils et son appui technique au cours des travaux de laboratoire ;

- au Dr Ernestine ZONDEGOUMBA du Laboratoire de Chimie Médicinale, pour ses précieuses et multiples contributions lors de la réalisation de ce travail ;

- au Dr Stéphane ZINGUE et à M. Jean Pierre TAKALA pour leur assistance technique pendant la réalisation des coupes histologiques ;

- à M. NGUIDJOL pour son assistance lors de l'étude phytochimique de la plante;

- à mes camarades de laboratoire Simon PATAMAKEN, Martial MEFE et Brice KEUGNI pour leur soutien indéfectible ;

- à mes cadets de laboratoire Mesmine KUISSU, Gustave OTTO, Benjamin NCHEGANG et Gaël SIWE pour leur assistance et disponibilité tout au long de ce travail ;

- mon épouse Gaëlle Claude AMANG née NYA NGASSAM, pour son amour et son soutien sans faille lors de la réalisation de ce travail ;

- à mes frères et sœurs Achille NYOUMA, Claude MBOUSSI, Ismaël ONANA, Julien BOGONDO, Jean Pierre BASSANG'NA, Chrisot NDEME Dominique KENEMBENI et Raïssa KEYI, pour leurs encouragements et affection ;

- à la famille NGASSAM, pour sa bénédiction et son soutien inconditionnel ;

- à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont les noms ne figurent malheureusement pas sur cette page, qu'ils trouvent ici le témoignage de mon estime et ma profonde gratitude.

SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES.....	I
DÉDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	6
I.1- L'ESTOMAC.....	7
I.1.1- ANATOMIE.....	7
I.1.2- HISTOLOGIE.....	9
I.1.3- PHYSIOLOGIE.....	11
I.2- ULCÈRES GASTRODUODÉNAUX.....	19
I.2.1- GÉNÉRALITÉS.....	19
I.2.2- PHYSIOPATHOLOGIE.....	20
I.2.3- MÉCANISME DE GUÉRISON.....	33
I.2.4- TRAITEMENT.....	39
I.3- STRESS OXYDANT.....	40
I.3.1- OXYDANTS.....	40
I.3.2- ANTIOXYDANTS.....	44
I.3.3- MARQUEURS DE L'OXYDATION.....	48

I.4-PLANTES MÉDICINALES.....	48
I.4.1- GÉNÉRALITÉS.....	48
I.4.2- TYPES DE PRÉPARATIONS COURANTES DE PLANTES.....	49
I.4.3- CLASSES DE COMPOSÉS BIOACTIFS.....	50
I.5- GÉNÉRALITÉS SUR <i>Eremomastax speciosa</i>(HOCHST) CUFORD.....	55
I.5.1- SYSTÉMATIQUE.....	55
I.5.2- APERÇU BOTANIQUE.....	56
I.5.3- RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE	56
I.5.4- VERTUS ETHNOPHARMACOLOGIQUES.....	57
I.5.5- COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE.....	58
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	59
II.1- MATÉRIEL.....	60
II.1.1- MATÉRIEL VÉGÉTAL.....	60
II.1.2- MATÉRIEL ANIMAL.....	60
II.2- MÉTHODES.....	60
II.2.1- ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE DE <i>Eremomastax speciosa</i>	60
II.2.2- ÉTUDE DES EFFETS CYTOPROTECTEURS ET ANTIOXYDANTS DE <i>Eremomastax speciosa</i> CHEZ LES RATS.....	67
II.2.3- ÉTUDE DU MÉCANISME ANTI-SÉCRÉTOIRE DE <i>Eremomastax speciosa</i> CHEZ LES RATS.....	74
II.2.4- EFFETS CURATIFS DE <i>Eremomastax speciosa</i> SUR LES ULCÈRES GASTRIQUES CHRONIQUES.....	79
II.2.5- ÉVALUATIONS ET ANALYSES DES DONNÉES.....	82
CHAPITRE III : RÉSULTATS.....	84
III.1- SCREENING PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS ET FRACTIONS DE <i>Eremomastax speciosa</i>.....	85

III.2- EFFETS CYTOPROTECTEURS ET ANTIOXYDANTS DE <i>Eremomastax speciosa</i>	86
III.2.1- EFFETS CYTOPROTECTEURS DE <i>Eremomastax speciosa</i>	86
III.2.2- EFFETS DE <i>Eremomastax speciosa</i> SUR QUELQUES PARAMÈTRES DU STRESS OXYDANT.....	93
III.3- ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRE DE <i>Eremomastax speciosa</i>	97
III.3.1- SCREENING DE L'ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRES DE <i>Eremomastax speciosa</i>	97
III.3.2- ACTIVITÉ ANTIHISTAMINIQUES DES EXTRAITS ET FRACTION DE <i>Eremomastax speciosa</i>	103
III.3.3- ACTIVITÉ ANTI-CHOLINERGIQUE DES EXTRAITS ET FRACTION DE <i>Eremomastax speciosa</i>	105
III.3.4- EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>Eremomastax speciosa</i> SUR L'HYPERSÉCRÉTION GASTRIQUE INDUITE PAR L'ADMINISTRATION RÉPÉTÉE D'HISTAMINE "AUGMENTED HISTAMINE TEST".....	107
III.3.5- ÉTUDE DE LA VOIE D'ACTION ANTI-SÉCRÉTOIRE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>Eremomastax speciosa</i>	109
III.3.6- EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>Eremomastax speciosa</i> SUR LES ULCÈRES INDUITS PAR UNE COMBINAISON CARBACHOL/ INDOMÉTACINE.....	112
III.4- EFFETS CURATIFS DE <i>Eremomastax speciosa</i>	115
III.4.1- EFFETS CURATIFS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>Eremomastax speciosa</i> SUR LES ULCÈRES GASTRIQUES CHRONIQUES.....	115
III.4.2- EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>Eremomastax speciosa</i> SUR LE TISSU GASTRIQUE.....	117
CHAPITRE IV : DISCUSSION	120
IV.1- COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE DE <i>Eremomastax speciosa</i>	121
IV.2- EFFETS CYTOPROTECTEURS ET ANTIOXYDANTS DE <i>Eremomastax speciosa</i>	123

IV.3- ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRE DE <i>Eremomastax speciosa</i>.....	126
IV.4- EFFETS CURATIFS DE <i>Eremomastax speciosa</i>.....	130
CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATION.....	134
RÉFÉRENCES.....	146
ANNEXES.....	A
PUBLICATIONS ISSUES DE LA THÈSE.....	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Estomac et organes associés.....	7
Figure 2 : Anatomie interne de l'estomac.....	8
Figure 3 : Structure fondamentale du tube digestif	9
Figure 4 : Structure de la paroi de l'estomac	9
Figure 5 : Structure de l'épithélium gastrique.....	11
Figure 6 : Mécanismes nerveux et hormonaux réglant la libération du suc gastrique.....	15
Figure 7 : Stimulation de la sécrétion d'acide par les cellules pariétales.....	16
Figure 8 : Mécanisme de sécrétion du HCl par les cellules pariétales.....	18
Figure 9 : Illustration des ulcères peptidiques.....	19
Figure 10 : Systématisation des pertes de substances gastriques.....	20
Figure 11 : Photo des parties aériennes de <i>Eremomastax speciosa</i>	56
Figure 12 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i>	61
Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait au méthanol de <i>E. speciosa</i>	62
Figure 14 : Protocole de préparation de l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène et de ses fractions de <i>E. speciosa</i>	63
Figure 15 : Courbe d'étalonnage des protéines par la méthode de Biuret	70
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la catalase.....	72
Figure 17 : Courbe de titrage l'acide gastrique par NaOH.....	78
Figure 18 : Effets des extraits aqueux et au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par le mélange de HCl/EtOH.....	86
Figure 19 : Effets des extraits aqueux et au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par l'éthanol absolu.....	88
Figure 20 : Effets des extraits aqueux et au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par le stress à l'eau froide	90
Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par le mélange de HCl/EtOH chez les rats prétraités à l'indométacine.....	91
Figure 22 : Effets de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par l'indométacine.....	92

Figure 23 : Effets de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par la ligature du pylore.....	98
Figure 24 : Effets de <i>E. speciosa</i> sur les lésions induites par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.....	101
Figure 25 : Effets de l'administration orale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par l'histamine.....	103
Figure 26 : Effets de l'administration orale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions induites par la ligature le carbachol.....	105
Figure 27 : Effets de l'administration orale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions induites par l'administration répétée d'histamine.....	107
Figure 28 : Effets de l'administration intra-duodénale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par l'histamine.....	109
Figure 29 : Effets de l'administration intra-duodénale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par le carbachol.....	111
Figure 30 : Effets de l'administration par voie orale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par le carbachol/indométacine.	112
Figure 31 : Effets de l'administration par voie duodénale de <i>E. speciosa</i> sur les lésions gastriques induites par le carbachol/indométacine.....	114
Figure 32 : Effets curatifs de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique.....	117
Figure 33 : Microphotographie de la présentation histologique des ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique	119

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Rôles des hormones et des substances semblables aux hormones dans la digestion.....	14
Tableau II : Dosage des protéines.....	70
Tableau III : Protocole de dosage de la catalase.....	72
Tableau IV : Attribution des scores en fonction de la surface ulcérée.....	82
Tableau V : Classes de Composés chimiques présentes dans les différents extraits et fractions de <i>E. speciosa</i>	85
Tableau VI : Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par la solution HCl/EtOH.....	87
Tableau VII : Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par l'éthanol absolu.....	89
Tableau VIII : Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par le stress à l'eau froide.....	90
Tableau IX : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par le HCl/éthanol chez les rats prétraités à l'indométacine..	92
Tableau X : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par l'indométacine.....	93
Tableau XI : Effets de <i>E. speciosa</i> sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaires chez les rats ulcérés par l'HCl/éthanol.....	94
Tableau XII : Effets de <i>E. speciosa</i> sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaires chez les rats ulcérés par l'éthanol absolu.....	94
Tableau XIII : Effets de <i>E. speciosa</i> sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaires chez les rats ulcérés par le stress à l'eau froide.....	95
Tableau XIV : Effets antioxydants tissulaires de <i>E. speciosa</i> chez les rats soumis à la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.....	96
Tableau XV : Effets antioxydants sanguins de <i>E. speciosa</i> chez les rats soumis à la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.....	97
Tableau XVI : Effets cytoprotecteurs de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par la ligature du pylore.....	99
Tableau XVII : Effets des extraits et fractions de <i>E. speciosa</i> sur la sécrétion du suc gastrique induite par la ligature du pylore.....	100
Tableau XVIII : Effets cytoprotecteurs de l'extrait au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par la ligature du pylore chez les rats prétraités à l'indométacine.....	102
Tableau XIX : Effets de l'extrait au méthanol de <i>E. speciosa</i> sur la sécrétion gastrique induite par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.....	102

Tableau XX : Effets de l'administration par voie orale des extraits et fraction de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères induits par l'histamine.....	104
Tableau XXI : Effets de l'administration par voie orale des extraits et fraction de <i>E. speciosa</i> sur la sécrétion gastrique induite par l'histamine.....	104
Tableau XXII : Effets de l'administration <i>per os</i> des extraits et fraction de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par le carbachol.....	106
Tableau XXIII : Effets de l'administration <i>per os</i> des extraits et fraction de <i>E. speciosa</i> sur la sécrétion gastrique induite par le carbachol.....	106
Tableau XXIV : Effets de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques induits par l'administration répétée d'histamine.....	108
Tableau XXV : Effets de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur l'hypersécrétion gastrique induite par l'administration répétée d'histamine.....	108
Tableau XXVI : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> administré par voie duodénale sur les ulcères gastriques induits par l'histamine.....	110
Tableau XXVII : Effets de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> administré par voie duodénale sur la sécrétion gastrique induite par l'histamine.....	110
Tableau XXVIII : Effets cytoprotecteurs de l'administration de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> par voie duodénale sur les ulcères gastriques induits par le carbachol.....	111
Tableau XXIX : Effets de l'administration intra-duodénale de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur la sécrétion gastrique induite par le carbachol.....	112
Tableau XXX : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> administré <i>per os</i> sur les ulcères induits par le carbachol/indométacine.....	113
Tableau XXXI : Effets de l'administration <i>per os</i> de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur la sécrétion gastrique après induction des ulcères par le carbachol/indométacine.....	113
Tableau XXXII : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> administré par voie duodénale sur les ulcères induits par le carbachol/indométacine...	114
Tableau XXXIII : Effets de l'administration de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> par voie duodénale sur la sécrétion gastrique induite par le carbachol/indométacine..	115
Tableau XXXIV : Effets curatif de l'extrait aqueux de <i>E. speciosa</i> sur les ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique.....	116

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
ANOVA: “Analysis of variance” (Analyse des variances)
BSA: “Bovine serum albumin” (sérum albumine bovin)
CGRP: “Calcitonin gene related peptide”
CCM : Chromatographie sur couche mince
CoQ₁₀ : Coenzyme Q₁₀
COX : Cyclooxygénase
DTNB : Acide 5, 5'-dithiobis-nitrobenzoïque
EGF: “Epidermal growth factor”
EOA : Espèces oxygénées actives
E. speciosa : *Eremomastax speciosa*
GRP: “Gastrin release peptide”
GPx : Glutathion peroxydase
GSH : Glutathion réduit
HCl/EtOH : Acide chlorhydrique/éthanol
H. pylori : *Helicobacter pylori*
MAPK: “Mitogen-activated protein kinase”
MDA : Malondialdéhyde
MTR : Médecine Traditionnelle
NO : Oxyde Nitrique
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PGE : Prostaglandine E
SOD : Superoxyde dismutase
TBA: “Thiobarbituriqueacid” (Acide thiobarbiturique)
TCA: “Trichloroaceticacid” (Acide trichloroacétique)
TGF: “Transforming growth factor”
TRxR : Thiorédoxine réductase

RÉSUMÉ

La pathogénèse des ulcères gastroduodénaux est plurifactorielle et par conséquent le traitement doit prendre en compte l'élimination des facteurs étiologiques et le renforcement des défenses de la muqueuse gastrique. Le régime de la trithérapie recommandé à cet effet, présente de nombreuses limites en raison de son coût élevé, ses effets secondaires, la résistance de certaines souches de *Helicobacter pylori* aux antibiotiques et la réticence des patients face à la prise prolongée de plusieurs médicaments. Les plantes médicinales représentent une alternative pour le traitement des ulcères peptidiques. Aucun médicament synthétique ou naturel ne remplit tous les objectifs recherchés pour la thérapie antiulcéreuse. Pour apporter une solution à ce problème, la recherche sur les plantes médicinales pouvant traiter efficacement cette pathologie et présentant le moins d'effets nocifs est nécessaire. L'objectif de ce travail était d'étudier les activités antiulcéreuses des extraits et fractions des parties aériennes de *E. speciosa*. Le screening phytochimique qualitatif des extraits (aqueux, méthanol et méthanol/chlorure de méthylène) et fractions (chlorure de méthylène, acétate d'éthyle, hexane et méthanol) de *E. speciosa* a été réalisé pour déceler la présence ou l'absence de certaines classes de composés bioactifs. Le potentiel cytoprotecteur de *E. speciosa* a été testé chez les rats sur les ulcères gastriques induits par divers agents ulcérogènes (HCl/éthanol, éthanol absolu, indométacine et stress par immersion dans l'eau froide). Les ulcérations de la muqueuse gastrique et la production du mucus gastrique ont été mesurées. Quelques paramètres du stress oxydant (SOD, catalase, GSH et MDA) ont été mesurés dans les échantillons de sang et d'estomac obtenus des animaux précédents. Les propriétés anti-sécrétoires des extraits et fractions, ont été testées par l'induction de l'hypersécrétion avec le carbachol et l'histamine, combinée à la ligature du pylore des rats. Les ulcérations, la production du mucus, le pH, le volume et l'acidité du suc gastrique ont été mesurés. L'étude des effets curatifs de l'extrait aqueux s'est faite par induction des ulcères gastriques chroniques avec l'acide acétique chez les rats. Les ulcères gastriques et la sécrétion du mucus a été évalué. Les coupes histologiques de l'estomac ont été réalisées pour étudier l'action de la plante au niveau cellulaire. L'analyse phytochimique des extraits et fractions de *E. speciosa* a révélé la présence de plusieurs classes de composés (les alcaloïdes, les flavonoïdes, les anthocyanines, les quinones, les tannins et les triterpènes). L'administration des extraits a significativement inhibé la formation des ulcères gastriques aigus induits par les différents agents ulcérogènes. Les extraits aqueux et méthanolique à la dose 200 mg/kg ont entraîné une inhibition complète des lésions gastriques (100 %) induites par le HCl/éthanol. Le prétraitement des rats avec l'indométacine a conduit à une réduction de cette inhibition (39,63 %), pour le traitement avec l'extrait aqueux. Cette inhibition a été moins importante pour les lésions gastriques induites

avec l'indométacine seul (12,13 %). Les extraits aqueux et méthanolique (200 mg/kg) ont également inhibé significativement les ulcères induits par l'éthanol absolu (27,84 et 45,80 %, respectivement) et le stress (37,98 et 80,42 %, respectivement). L'extrait au méthanol de *E. speciosa* a augmenté significativement les taux des enzymes antioxydantes (catalase, GSH et SOD) et a baissé le taux de MDA dans le tissu stomacal et dans le sang. L'histamine et le carbachol ont augmenté la sécrétion d'acide gastrique de $86,50 \pm 2,98$ et $84,80 \pm 3,57$ mEq/L chez leur témoin négatif, respectivement. L'administration *per os* de l'extrait aqueux à la dose de 200 mg/kg a réduit cette sécrétion d'acide à $59,00 \pm 4,08$ mEq/L et $50,00 \pm 4,08$ mEq/L pour les inductions avec l'histamine et le carbachol, respectivement. Cet extrait à la dose de 400 mg/kg administré par voie intra-duodénale, a baissé très significativement la production d'acide gastrique à $28,50 \pm 1,30$ et à $28,80 \pm 1,30$ mEq/L, suite aux inductions de l'hypersécrétion avec l'histamine et le carbachol, respectivement, et ceci a été accompagné d'une inhibition de 100 % des ulcérations gastriques. Le traitement avec l'extrait aqueux (200 et 400 mg/kg) a réduit significativement ($p < 0,01$) l'hypersécrétion d'acide ($52,60 \pm 2,96$ et $27,50 \pm 1,29$ mEq/L, respectivement) induite par l'administration répétée d'histamine par rapport au témoin négatif ($90,20 \pm 2,71$ mEq/L). Cet extrait a aussi significativement ($p < 0,01$) réduit le volume du suc gastrique et augmenté la sécrétion du mucus. Le potentiel d'inhibition de l'extrait aqueux (200 et 400 mg/kg) a significativement baissé de 25 et de 44 % (administration *per os*) et de 29 et de 37 % (administration intra-duodénale), chez les rats ulcérés par la combinaison du carbachol et de l'indométacine. L'extrait aqueux à la dose 400 mg/kg a réduit significativement ($p < 0,01$) les ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique, correspondant à 78 % de guérison. La présentation histologique du processus de guérison des ulcères, était caractérisée par une régénération des glandes, une disparition de la fibrose, de la sclérose et de l'infiltration leucocytaire. Cette guérison des ulcères par l'extrait à 400 mg/kg était aussi associée à une augmentation significative ($p < 0,01$) de la production du mucus (91,13 mg), par rapport au témoin longitudinal (66,92 mg). Les extraits aqueux, au méthanol/chlorure de méthylène et la fraction au chlorure de méthylène des parties aériennes de *E. speciosa* possèdent à la fois des effets cytoprotecteurs, anti-sécrétoires et curatifs. Ces effets pourraient être liés à la présence dans la plante des classes de métabolites secondaires, qui stimuleraient la production du mucus par la voie des prostaglandines, inhiberaient la sécrétion d'acide par un mécanisme commun aux voies cholinergique et histaminique, faciliteraient le processus de guérison des ulcères et renforceraient le statut antioxydant *in vivo*.

Mots clés: *Eremomastax speciosa*, ulcères gastriques, cytoprotection, sécrétion gastrique, guérison des ulcères, statut antioxydant, métabolites secondaires.

ABSTRACT

Gastro-duodenal ulcers are of multifactorial etiology. Consequently, treatment options have to take into account the need to eliminate the causal factors and the re-enforcement of gastric mucosal defenses. The recommended antiulcer triple therapy regimen presents numerous setbacks due to its high cost, the associated secondary effects, the resistance presented by certain species of *Helicobacter pylori* to the prescribed antibiotics and the low patient compliance resulting from the long-term consumption of many drugs. Medicinal plants represent a plausible alternative for the treatment of peptic ulcers. However, to this date, there exists no synthetic drug or phytomedicine that possesses all the antiulcer potentials necessary for relief and complete treatment. In order to contribute to solving this problem, research on antiulcer medicinal plants with high therapeutic potency and reduced toxicity is necessary. The objective of this work was to study the antiulcer activities of the extracts and fractions from the aerial parts of *E. speciosa*. The qualitative phytochemical screening of the extracts (aqueous and methanol/methylene chloride) and fractions (hexane, methylene chloride, ethyl acetate and methanol) of *E. speciosa* was carried out in order to determine the presence or absence of certain classes of bioactive compounds. The cytoprotective potential of *E. speciosa* was tested on numerous models of gastric ulcer induction in rats (HCl/ethanol, absolute ethanol, indomethacine and water immersion stress). The ulcerations of the gastric mucosa and the production of gastric mucus were measured. Some parameters of oxidative stress (SOD, catalase, GSH and MDA) were measured in the blood and stomach samples. The antisecretory properties of the extracts and fractions were tested by the induction of hypersecretion using carbachol and histamine, combined with pylorus ligation in the rats. The gastric ulcerations, mucus production, the pH, volume and acidity of the gastric juice were also measured. The study of the healing effects of the aqueous extract was done by the induction of chronic gastric ulcers using acetic acid in rats. Ulcer formation and mucus secretion were noted, and histological sections were prepared in order to study the extract action at the cell level. The phytochemical analysis of the extracts and fractions of *E. speciosa* revealed the presence of numerous classes of compounds (alkaloids, flavonoids, anthocyanins, quinones, tannins and triterpenes). The administration of the extracts significantly inhibited the induction of acute ulcers from the different animal models. The aqueous and methanol extracts at the dose of 200 mg/kg led to the complete inhibition of lesions (100 %) induced by HCl/ethanol. Pretreatment of the rats with indomethacine led to the reduction of this inhibition (39.63 %) with the aqueous extract. This inhibition was also reduced following

ulcer induction with indomethacin only (12.13 %). The aqueous and methanol extracts (200 mg/kg) equally significantly inhibited ulcers induced by absolute ethanol (27.84 and 45.80 %, respectively) and stress (37.98 and 80.42 %, respectively). The methanol extract of *E. speciosa* significantly increased the concentration of antioxidant enzymes (catalase, GSH and SOD) and reduced the concentration of MDA in the stomach and blood. Histamine and carbachol increased the secretion of gastric acid from 86.50 ± 2.98 and 84.80 ± 3.57 mEq/L in their respective controls. The oral administration of the aqueous extract (200 mg/kg) reduced this gastric acid hypersecretion to 59.00 ± 4.08 and 50.00 ± 4.08 mEq/L (histamine and carbachol, respectively). This extract (400 mg/kg), administered by the intra-duodenal route, significantly reduced ($p < 0.01$) the production of gastric acid to 28.50 ± 1.30 and 28.80 ± 1.30 mEq/L for histamine and carbachol, respectively, and this was accompanied by an inhibition of 100 % of the gastric ulcerations. Treatment with the aqueous extract (200 and 400 mg/kg) significantly reduced the hypersecretion of acid (52.60 ± 2.96 and 27.50 ± 1.29 mEq/L, respectively) induced by the augmented histamine test compared with the controls (90.20 ± 2.71 mEq/L). The extract also significantly ($p < 0.01$) reduced the volume of the gastric juice and significantly increased the production of mucus (augmented histamine test). The ulcer inhibition potential of the extract significantly dropped to 25-44 % (oral extract) and to 29-37 % (duodenal extract) in carbachol/indomethacin-treated rats. The dose of 400 mg/kg aqueous extract significantly reduced ($p < 0.01$) the chronic gastric ulcers induced by acetic acid, corresponding to 78 % of healing. The histological presentation of the healing process was characterized by a regeneration of the glands, a disappearance of fibrosis, sclerosis and leukocyte infiltration. This healing of ulcers by the extract at 400 mg/kg was associated with a significant increase in mucus production (91.13 mg) compared with the longitudinal control (66.92 mg). The extracts and fractions of the aerial parts of *E. speciosa* possess simultaneously, cytoprotective, antisecretory and healing effects. These effects could be due to the presence of secondary metabolites in the plant which stimulate the production of mucus by the prostaglandin pathway, which inhibit the secretion of acid by a mechanism common to the cholinergic and histaminic pathways, and which enhance the ulcer healing process and reinforce the *in vivo* antioxidant status.

Key words: *Eremomastax speciosa*, gastric ulcers, cytoprotection, gastric secretion, ulcer healing, antioxidant status, secondary metabolites.

INTRODUCTION

Les ulcères peptidiques sont des affections du système gastro-intestinal, se caractérisant par une rupture de l'intégrité de la muqueuse gastrique ou duodénale, qui s'étend jusqu'à la couche musculaire de la muqueuse (Brown et Wilson, 1999 ; Dimaline et Varo, 2007). En Occident, la maladie ulcéreuse est assez fréquente, touchant 8 à 10 personnes pour 100 habitants. On note une prédominance des ulcères duodénaux sur les ulcères gastriques pour une proportion de 3/1 et une atteinte préférentielle de l'homme avec un sexe ratio de 4/1 pour les ulcères duodénaux et de 2/1 pour les ulcères gastriques. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 40 et 60 ans. En Afrique, malgré le fait que les ulcères gastroduodénaux aient longtemps été occultés par des endémies plus meurtrières d'une part, et l'indisponibilité des moyens adéquats de diagnostic d'autre part, les données bibliographiques montrent que cette affection occupe une place non négligeable dans les pathologies en Afrique noire : la Côte Ouest de l'Afrique, l'Ouest de la Tanzanie et les Hauts Plateaux de l'Éthiopie constituent les zones de haute incidence (Tovey, 1977 ; Ndabaneze *et al.*, 1990). Au Cameroun, la prévalence des ulcères gastriques est de 31,65 % avec une prédominance chez les hommes (Ndjitoyp *et al.*, 1990), ce qui pose un réel problème de santé publique.

Les ulcères gastroduodénaux sont causés par un déséquilibre entre les facteurs d'agression et les facteurs de protection de la muqueuse gastrique (Sumbul *et al.*, 2011). Les facteurs d'agression peuvent être d'origine endogènes notamment l'hypersécrétion d'acide gastrique et de pepsine (Borrelli et Izzo, 2000), les radicaux libres actifs et les prooxydants (Repetto et Llesuy, 2002) et d'origine exogènes en l'occurrence l'éthanol (Soll et Graham, 2009), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Takeuchi, 2012) et l'infection par *Helicobacter pylori* (Vitor et Vales, 2011). Les facteurs de protection de la muqueuse gastrique sont représentés par la sécrétion du mucus et du bicarbonate (Allen et Garner, 1980), le flux sanguin normal (Borrelli et Izzo, 2000), la barrière épithéliale, la régénération cellulaire, les prostaglandines (Cryer, 2001), le monoxyde d'azote (Martin *et al.*, 2001) et les antioxydants (Repetto et Llesuy, 2002). L'incidence des ulcères gastriques augmente avec les facteurs de risque tels que le stress psychosomatique, le tabac, les habitudes alimentaires et les prédispositions héréditaires qui favorisent l'hypersécrétion d'acide gastrique (Barros *et al.*, 2008 ; Tulassay et Herszényi, 2010). Les ulcères aigus vont généralement évoluer en ulcères chroniques qui peuvent entraîner les complications capables de mener à un cancer gastriques. La progression de ces lésions aboutit parfois à une perforation gastrique à l'origine des hémorragies massives pouvant entraîner la mort (Cadiot *et al.*, 2005).

Le rôle central de l'hypersécrétion d'acide gastrique dans l'étiologie des ulcères gastroduodénaux, la maladie du reflux gastro-œsophagien et le cancer de l'estomac est bien

connu. Ainsi, les ulcères sont généralement présents chez les patients atteints du syndrome de Zollinger-Ellison, qui se caractérise par la sécrétion excessive d'acide gastrique et ils sont absents chez les patients achlorhydriques (Edward *et al.*, 1995). Les résultats des travaux menés dans la recherche de la compréhension de l'étiologie des ulcères gastroduodénaux ont permis la découverte des récepteurs histaminiques H₂ et muscariniques M₃ sur la membrane des cellules pariétales. La stimulation de l'un ou l'autre type de ces récepteurs par l'histamine ou l'acétylcholine déclenche le mécanisme effecteur de la sécrétion d'acide gastrique par activation de la pompe H⁺/K⁺/ATPase (Parsons, 1996). Cette découverte a permis une évolution dans le traitement des maladies en relation avec une sécrétion excessive d'acide gastrique. Ainsi, les antagonistes des récepteurs H₂ de l'histamine (cimétidine, ranitidine et famotidine), des récepteurs muscariniques M₃ de l'acétylcholine (atropine, verapamil et pirenzépine) et les inhibiteurs de la pompe à protons (oméprazole, lansoprazole ou pantoprazole), par leur activité anti-sécrétoire, se sont révélés être des agents efficaces dans le traitement des troubles gastroduodénaux acides (Bighetti *et al.*, 2005 ; Lakshimi *et al.*, 2009). De plus, la découverte récente du rôle de *Helicobacter pylori* dans la physiopathologie des ulcères gastroduodénaux a permis la mise en place d'une trithérapie pour son éradication et la réduction de l'acidité gastrique (Marshall et Warren, 1984). Cette trithérapie repose sur l'association d'un anti-sécrétoire (inhibiteur de la pompe à protons ou un antagoniste des récepteurs H₂) ou un antiacide (hydroxyde d'aluminium, hydroxyde de magnésium...) et de deux antibiotiques (clarithromycine et le métronidazole ou clarithromycine et Amoxicilline) (Dixon *et al.*, 1996 ; Mc Coll *et al.*, 1998).

Malheureusement, la résistance de *H. pylori* aux antibiotiques couramment prescrits, le coût élevé de la trithérapie et les effets indésirables attribués à la prise des antibiotiques et anti-sécrétoires ont été à l'origine de la réticence des patients, de l'échec du traitement et de la récurrence des ulcères traités (Kato *et al.*, 2000 a ; Ryan *et al.*, 2001 ; Okamoto *et al.*, 2002). Par exemple, les effets indésirables attribués à la prise de la cimétidine qui est l'anti-sécrétoire le plus prescrit chez les patients affectent plusieurs systèmes de l'organisme en l'occurrence les systèmes gastro-intestinal (diarrhée, constipation), nerveux central (psychose, dépression, anxiété), endocrinien (gynécomastie, impuissance réversible), hépatobiliaire (augmentation des transaminases sériques, lésions hépatiques), rénal (augmentation de la créatinine plasmatique) et cardio-vasculaire (bradycardie et tachycardie) (Schubert et Peura, 2008). Cette litanie des effets indésirables associés au médicament anti-sécrétoire le plus prescrit souligne la nécessité actuelle d'intensifier la recherche sur les plantes médicinales locales possédant des activités antiulcérogéniques (cytoprotectrices, anti-*Helicobacter pylori* et anti-

sécrétoires). De nombreux travaux ont montré qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées dans le traitement des ulcères gastriques (Borrelli et Izzo, 2000). Certaines de ces plantes ont présenté des effets cytoprotecteurs, c'est le cas de *Voacanga africana*, *Emilia praetermissa*, *Spilanthes filicaulis*, *Centella asiatica* (Tan *et al.*, 1997), *Bidens pilosa* (Tan *et al.*, 2000 b), *Ocimum suave* (Tan *et al.*, 2002), *Ageratum conyzoides* (Mahmood, 2005 a), *Aloe buettneri* (Tan *et al.*, 2006 a). D'autres plantes ont montré des effets anti-*Helicobacter pylori*. Il s'agit de *Pleiocarpa sp*, *Rinorea oblongifolia*, *Drypetes gosseweileri*, *Parkia biglobosa* (Tan *et al.*, 2006 b), *Enantia chlorantha* (Boda *et al.*, 2006). Les plantes qui possèdent des effets anti-sécrétoires comprennent *Eremomastax speciosa* (Tan *et al.*, 1996) et *Voacanga africana* (Tan et Nyasse, 2000). Les études phytochimiques des plantes médicinales ont révélé la présence de nombreuses classes de composés bioactifs qui justifieraient leurs effets antiulcérogéniques, c'est le cas des flavonoïdes (isolés de *Thea sinensis*, *Glycyrrhiza glabra*, *Hypericum perforatum*, *Ginkgo biloba*), des saponines (de *Panax japonicus* et *Kochia scoparia*), tannins (de *Linderae umbellatae*), des gommes et des mucilages (des gomme de guar et myrrhe) (Borrelli et Izzo, 2000), ainsi que l'alcaloïde du type Tabersonine issu de *Voacanga africana* (Tan et Nyasse, 2000) et du type protoberberine (7,8,-dihydro-8-hydroxypalmatine) issue de *Enantia chlorantha* (Tan *et al.*, 2000 a). Au Cameroun, de nombreuses études ont montré que très peu de plantes possèdent des effets anti-sécrétoires; connaissant l'impact de l'hypersécrétion d'acide gastrique dans l'étiologie des ulcères gastroduodénaux, la poursuite des travaux sur la recherche des plantes possédant une activité anti-sécrétoire est d'un besoin urgent.

Pour ce qui est de *Eremomastax speciosa* qui a fait l'objet de notre étude, les travaux préliminaires réalisées par Tan *et al.* en 1996 ont montré que l'administration par voie orale de l'extrait aqueux de *E. speciosa* à la dose de 190 mg/kg, inhibait de manière significative les lésions gastriques induites par le HCl/éthanol et la ligature du pylore chez les rats. L'extrait de cette plante a aussi présenté des effets intéressants sur la sécrétion gastrique d'acide.

Le but de la présente étude était de valoriser l'utilisation de *E. speciosa* pour le traitement des ulcères gastriques.

L'objectif général de ce travail était d'étudier les activités antiulcéreuses des extraits et fractions des parties aériennes de *E. speciosa*.

Pour atteindre cet objectif principal, plusieurs objectifs spécifiques ont été retenus :

- déterminer la composition phytochimique qualitative des extraits et des fractions de *E. speciosa* ;
- étudier les effets cytoprotecteurs des extraits de cette plante ;

- évaluer l'activité antioxydante des extraits de *E. speciosa in vivo* ;
- étudier l'activité et le mécanisme anti-sécrétoire de cette plante ;
- étudier le potentiel curatif de la plante sur les ulcères gastriques chroniques.



CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1 - L'ESTOMAC

L'estomac est la portion du tube digestif en forme de poche, situé entre l'œsophage et le duodénum (Dembe, 2006). Il se trouve dans le quadrant supérieur gauche de la cavité abdominale et presque caché par le foie et le diaphragme (Figure 1). Il est un réservoir temporaire où la dégradation chimique des protéines commence et où les aliments sont transformés en bouillie crémeuse appelée chyme (Marieb et Hoehn, 2007).

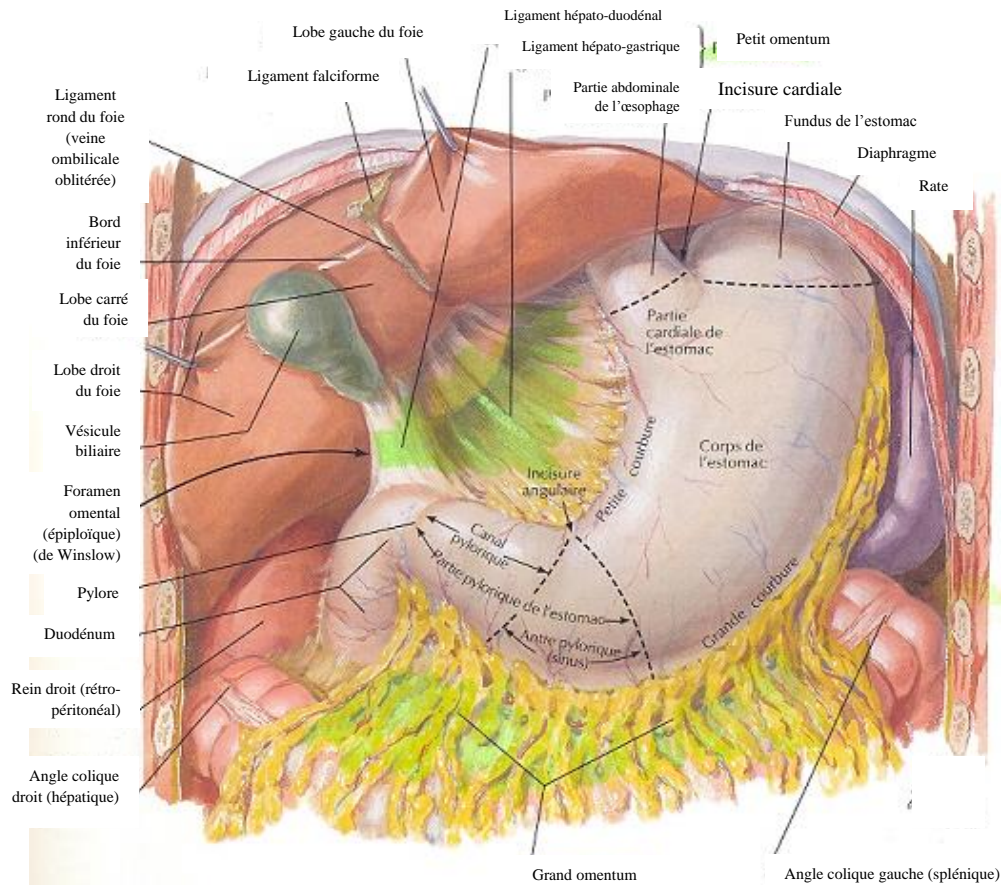


Figure 1 : Estomac et organes associés (Netter, 2004).

I.1.1- ANATOMIE

L'estomac a la forme d'un J majuscule (Figure 2). Chez l'adulte, il a une longueur de 15 à 25 cm. Mais son diamètre et son volume varient selon la quantité d'aliments qu'il contient. Lorsqu'il est vide, l'estomac a un volume d'environ 0,5 L et un diamètre à peine supérieur à celui du gros intestin. Il peut contenir 4 L de nourriture lorsqu'il est vraiment dilaté et s'étendre presque jusqu'au bassin. Lorsqu'il est vide, l'estomac s'affaisse sur lui-même, sa muqueuse et sa sous muqueuse forment des plis longitudinaux appelés plis gastriques (Marieb et Hoehn, 2007).

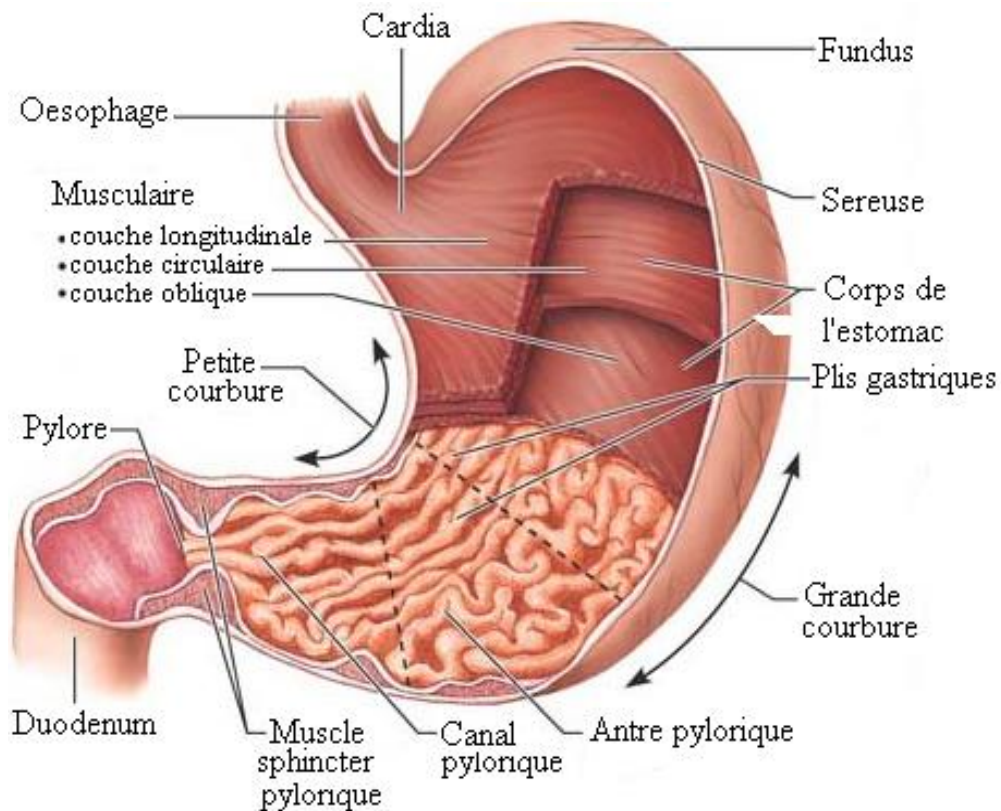


Figure 2 : Anatomie interne de l'estomac (coupe frontale) (Marieb et Hoehn, 2007).

L'estomac présente quatre parties principales :

- **le cardia** (près du cœur) est la région située à la limite inférieure de l'œsophage et par laquelle les aliments provenant de l'œsophage pénètrent dans l'estomac ;
- **le fundus** est la portion supérieure dilatée de l'estomac dont la limite inférieure est un plan horizontal passant par l'orifice du cardia. Il est séparé de l'œsophage par l'incisure cardiale ou angle de His ;
- **le corps** est la portion moyenne de l'estomac sans limite nette entre le fundus et l'antre pylorique ;
- **le pylore** fait suite au corps et présente l'aspect d'un entonnoir avec une partie large ou antre pylorique, qui se rétrécit pour donner le canal pylorique et ce dernier se terminant par une région sphinctérienne qui communique avec le duodénum. Ce sphincter pylorique régie l'évacuation gastrique (Dembe, 2006).

L'estomac présente deux bords ou courbures : l'un concave et plus court est appelé petite courbure. L'autre convexe et long est appelé grande courbure. Au niveau de la petite courbure, il existe une indentation ou incisure angulaire située entre le corps et la partie pylorique. Une autre indentation ou incisure cardiale située entre le cardia et le fundus (Dembe, 2006).

I.1.2 - HISTOLOGIE

Une coupe transversale de la paroi du tractus gastro-intestinal (Figure 3) présente quatre tuniques successives de l'extérieur vers la lumière du tractus, à savoir : la séreuse ou l'adventice, la musculuse, la sous muqueuse et la muqueuse (Cadiot *et al.*, 2005).

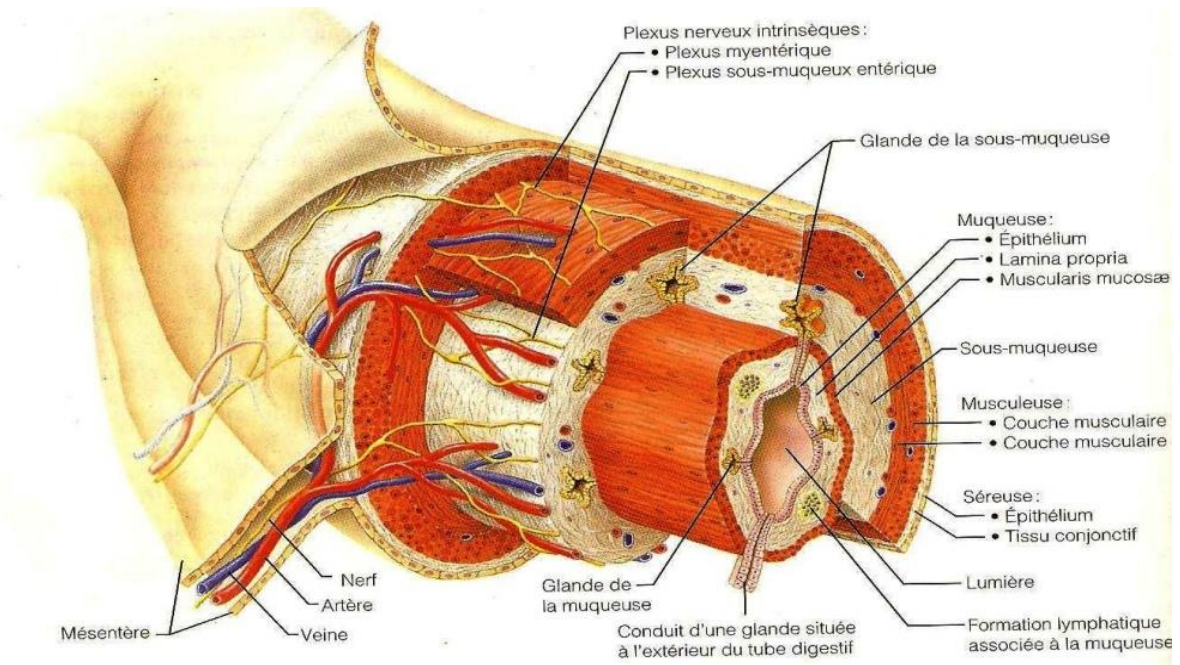


Figure 3 : Structure fondamentale du tube digestif (Marieb et Hoehn, 2007).

Les différentes tuniques présentent des spécificités le long du tractus gastro-intestinal. Au niveau de l'estomac ces tuniques se présentent comme suit (Figure 4) :

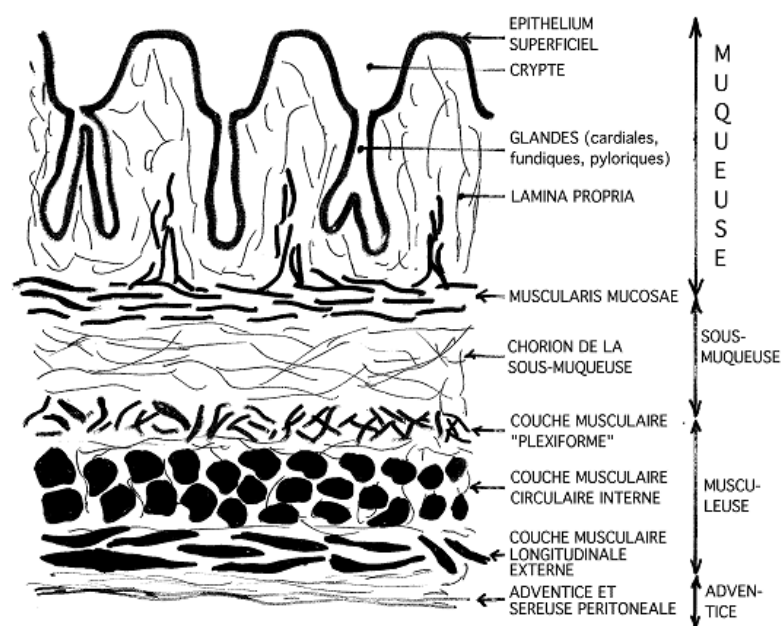


Figure 4 : Structure de la paroi de l'estomac (Balas, 2003).

I.1.2.1 - Tunique séreuse ou adventice

La tunique séreuse est la couche la plus externe de l'estomac. Elle a un rôle protecteur et est formée par le péritoine vasculaire et viscéral. Elle se compose de tissus vasculaires et conjonctifs lâches aréolaires recouverts de mésothélium et une couche unique de cellules épithéliales squameuses (Balas, 2003).

I.1.2.2 - Tunique musculieuse

La tunique musculieuse est la composante motrice de l'estomac. Elle est constituée par les faisceaux de fibres musculaires lisses formant, comme toutes les parties du tractus gastro-intestinal, une couche annulaire interne et une couche longitudinale externe. Mais au niveau de l'estomac, il s'y ajoute une troisième couche, la plus interne formée de fibres musculaires lisses et obliques, lesquelles vont de l'incisure cardiale jusqu'à la limite entre le corps et la partie pylorique. Cette dernière et la petite courbure sont dépourvues de fibres musculaires obliques. La musculature est renforcée au niveau du pylore par un véritable sphincter alors que le sphincter cardinal au niveau de la jonction œsogastrique est plus une entité physiologique qu'anatomique (Balas, 2003). La musculieuse de l'estomac possède deux types d'innervation :

- une innervation intrinsèque qui comprend, le plexus myentérique d'Auerbach et le plexus sous muqueuse de Meissner ;
- une innervation extrinsèque motrice: les branches du pneumogastrique (X) constituent l'innervation extrinsèque parasympathique dont l'effet est d'accroître la mobilité et le tonus. Les fibres sympathiques du plexus cœliaque sont inhibitrices de la motilité (Ganong, 2003).

I.1.2.3 - Tunique sous muqueuse

La tunique sous muqueuse est un tissu conjonctif lâche qui renferme des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des follicules lymphatiques et des neuro-fibres. Ses fibres élastiques abondantes permettent à l'estomac de reprendre sa forme après avoir contenu un repas copieux. Son réseau vasculaire alimente les autres tissus de la paroi du tube digestif (Balas, 2003).

I.1.2.4 - Tunique muqueuse

La tunique muqueuse est la couche la plus interne de la paroi gastrique. Elle se compose d'un épithélium humide qui tapisse la lumière du tube digestif. Ses principales fonctions sont :

- la sécrétion de mucus, d'enzymes digestives et d'hormones ;

- l'absorption des produits de la digestion dans le sang ;
- la protection contre les maladies infectieuses (Balas, 2003).

La muqueuse digestive, qui est plus complexe que les autres muqueuses comportent habituellement trois sous couches (Figure 5) :

- un épithélium de revêtement qui est généralement simple et prismatique, riche en cellules caliciformes, qui sécrète du mucus. Ce mucus lubrifiant empêche la digestion de certains organes par les enzymes en activité dans leur propre cavité, facilite le mouvement des aliments dans les tubes digestifs ;

- la *lamina propria*, sous l'épithélium est composée de tissus conjonctifs lâches aréolaires et est encore appelée chorion. Elle est parcourue de capillaires qui nourrissent et absorbent les nutriments digérés. Elle contient également des neurones ;

- la *mucularis mucosa* ou musculaire muqueuse se trouve à l'extérieur de la *lamina propria*. Elle représente une fine couche de cellules musculaires qui produit les mouvements locaux de la muqueuse (Balas, 2003).

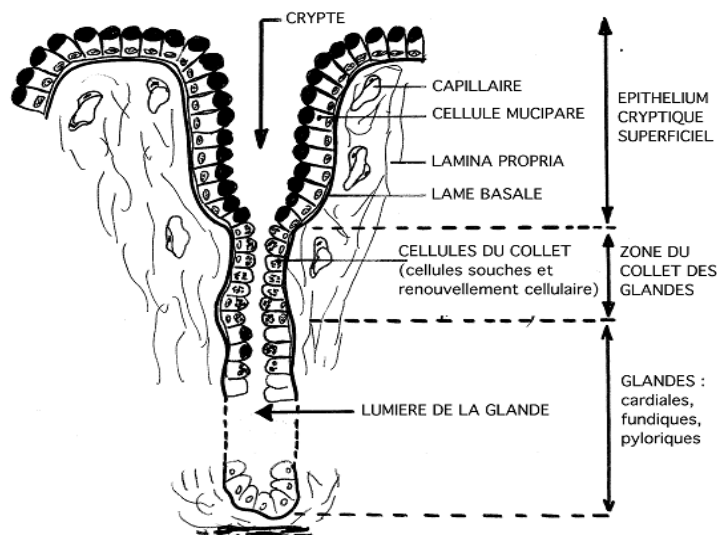


Figure 5 : Structure de l'épithélium gastrique (Balas, 2003).

I.1.3 - PHYSIOLOGIE

I.1.3.1 - Péristaltisme et évacuation gastrique

Le péristaltisme est une réponse réflexe qui est initiée lorsque les parois du tractus gastro-intestinal sont distendues par le contenu luminal. Il se déroule dans tout le tractus gastro-intestinal, de l'œsophage vers le rectum, propulsant le contenu luminal vers le rectum à une vitesse variant entre 2 à 25 cm/s. Le tractus gastro-intestinal produit des ondes péristaltiques environ toutes les trois minutes. Elles mettent 20 s à parcourir la distance entre

le fundus et le pylore. La motilité gastrique, en plus du rôle évacuateur constitue un mouvement de brassage d'aliments. Le contrôle de la motilité digestive est sous la double dépendance des phénomènes nerveux et hormonaux étroitement intriqués (Ganong, 2003).

I.1.3.2 - Processus digestifs se déroulant au niveau de l'estomac

L'estomac contribue à toutes les activités digestives à l'exception de l'ingestion et la défécation. En plus de servir de zone de "stockage" des aliments ingérés, il poursuit le travail de démolition entrepris dans la cavité orale et dégrade encore plus les aliments, à la fois physiquement et chimiquement. Il déverse en suite le chyme, qui est le produit de son activité, dans l'intestin grêle (Marieb et Hoehn, 2007).

- La fonction mécanique est principalement assurée par l'antra gastrique. Elle permet de malaxer les aliments qui sont régulièrement mélangés à la sécrétion gastrique.

- La fonction chimique correspond à la sécrétion gastrique dont le volume atteint entre un et deux litres par jour. La digestion des protéines, amorcée dans l'estomac, est pratiquement le seul type de digestion enzymatique qui a lieu dans cet organe (Marieb et Hoehn, 2007).

I.1.3.3 - Sécrétions gastriques

L'estomac est l'une des parties du tractus gastro-intestinal qui présente une activité sécrétoire intense et diversifiée. Ces sécrétions sont à la fois exocrines et endocrines.

I.1.3.3.1 - Sécrétions exocrines

a) La pepsine

La pepsine est une enzyme protéolytique sécrétée par les cellules principales de la muqueuse gastrique. La pepsine a pour précurseur la pepsinogène qui est transformée en pepsine par l'acide chlorhydrique au pH bas (1,6-3,2). Cette activation est presque instantanée au pH = 2. Cependant, dès que la pepsine est présente, elle catalyse elle-même la conversion de la pepsinogène en pepsine (retro-activation). La sécrétion de la pepsinogène est principalement stimulée par le nerf vague, l'hypoglycémie et l'acétylcholine. On note également l'action stimulatrice de la sécrétine et de la gastrine. Mais la gastrine n'a pas une action directe sur les cellules principales ; elle stimule l'action de l'acide chlorhydrique qui à son tour stimule la sécrétion de la pepsinogène par réflexe cholinergique. De plus, il existe une sécrétion basale continue (Dévenport, 1966).

b) L'acide chlorhydrique (HCl)

L'acide chlorhydrique est sécrété par les cellules pariétales (bordantes ou oxyntiques) des glandes tubulaires du fundus. Il tue une grande partie des bactéries ingérées (Ganong, 2003) ; il rend le contenu gastrique acide, ce qui est une condition nécessaire à l'action de la pepsine, qui ne peut qu'agir au $\text{pH} < 3$ (Bernier et Florent, 1986) ; il amorce la digestion des protéines alimentaires par la destruction de leurs structures quaternaire, tertiaire voire secondaire et favorisant ainsi l'activité des enzymes peptidiques ; il contrôle la vidange gastrique par son action sur le fonctionnement pylorique (Sherwood, 2006) ; il facilite la dégradation des lipides par sa contribution à leur fragmentation (Marieb et Hoehn, 2007).

c) Le mucus

Le mucus est sécrété par les cellules épithéliales et recouvre toute la surface interne de l'estomac. C'est un semi-fluide, collant de 0,2 à 0,4 mm d'épaisseur et constitué des glycoprotéines (Bernier et Florent, 1986). La biosynthèse des glycoprotéines du mucus est stimulée par les prostaglandines E (PG E) (Bommelaer et Tournut, 1989). Le mucus intervient dans la protection de la muqueuse gastrique grâce à sa perméabilité relative vis-à-vis des différentes substances agressives (Bernier et Florent, 1986).

d) Le bicarbonate de soude

Les cellules à mucus sécrètent en plus du mucus le bicarbonate de soude (NaHCO_3). Il intervient dans la protection de la muqueuse stomacale (Bernier et Florent, 1986). Les bicarbonates sont pris en piège par le gel du mucus, de sorte qu'un gradient de pH soit établi entre la lumière stomacale, où le pH varie entre 1 et 2, et la surface des cellules épithéliales de la muqueuse où le pH varie entre 6 et 7 (Ganong, 2003).

e) Le facteur intrinsèque

Le facteur intrinsèque est sécrété par les cellules pariétales des glandes du fundus et du corps de l'estomac (Kahle *et al.*, 1995). C'est une glycoprotéine nécessaire à l'absorption du cyanocobalamine (vitamine B_{12}). La vitamine B_{12} se lie à cette glycoprotéine et le complexe ainsi formé est absorbé au niveau de l'intestin grêle (Ganong, 2003).

f) La lipase gastrique

La lipase est d'une importance négligeable sauf dans le cas de l'insuffisance pancréatique (Ganong, 2003). En effet, cette lipase catalyse l'hydrolyse des ponts ester en positions 1 et 1' des triglycérides (Dévempport, 1966).

I.1.3.3.2 - Sécrétions endocrines

Les endocrinocytes gastriques libèrent directement dans la lamina propria diverses hormones et d'autres substances semblables à des hormones. Ces substances parmi les quelles la gastrine, la sérotonine, l'histamine, la somatostatine, les endorphines et la cholécystokinine, diffusent ensuite dans les capillaires sanguins, où elles exercent une action physiologique sur plusieurs organes cibles du système digestif (Tableau I) (Marieb et Hoehn, 2007).

Tableau I : Rôles des hormones et des substances semblables aux hormones dans la digestion (Marieb et Hoehn, 2007).

Hormones	Stimulus de la production	Organe cible	Rôles
Gastrine	Aliments (en particulier les protéines partiellement digérées) présentent dans l'estomac (stimulation chimique ; acétylcholine libérée par les neurofibres)	Estomac	Stimule la sécrétion des glandes gastriques; les effets les plus marqués concernent la sécrétion de HCl. Stimule l'évacuation du contenu gastrique.
		Intestin grêle	Stimule la contraction des muscles lisses de l'estomac.
		Gros intestin	Stimule les mouvements de masse
Sérotonine	Aliments dans l'estomac	Estomac	Déclenche la contraction des muscles lisses de l'estomac.
Histamine	Aliments dans l'estomac	Estomac	Stimule la libération de HCl par les cellules pariétales
Somatostatine	Aliments dans l'estomac	Estomac	Inhibe la sécrétion gastrique de toutes les substances ; inhibe la motilité et l'évacuation gastriques.
		Pancréas	Inhibe la sécrétion pancréatique
		Intestin grêle	Diminue la circulation sanguine au niveau du tube digestif et inhibe ainsi l'absorption intestinale.
		Vésicule biliaire	Inhibe la contraction de l'organe et la libération de la bile

I.1.3.4 - Contrôle de la sécrétion gastrique

I.1.3.4.1 - Contrôle physiologique de la sécrétion gastrique

La sécrétion gastrique est régie par les mécanismes nerveux et hormonaux. Ce contrôle s'effectue en trois phases : la phase céphalique, la phase gastrique et la phase intestinale (Figure 6) (Marieb et Hoehn, 2007).

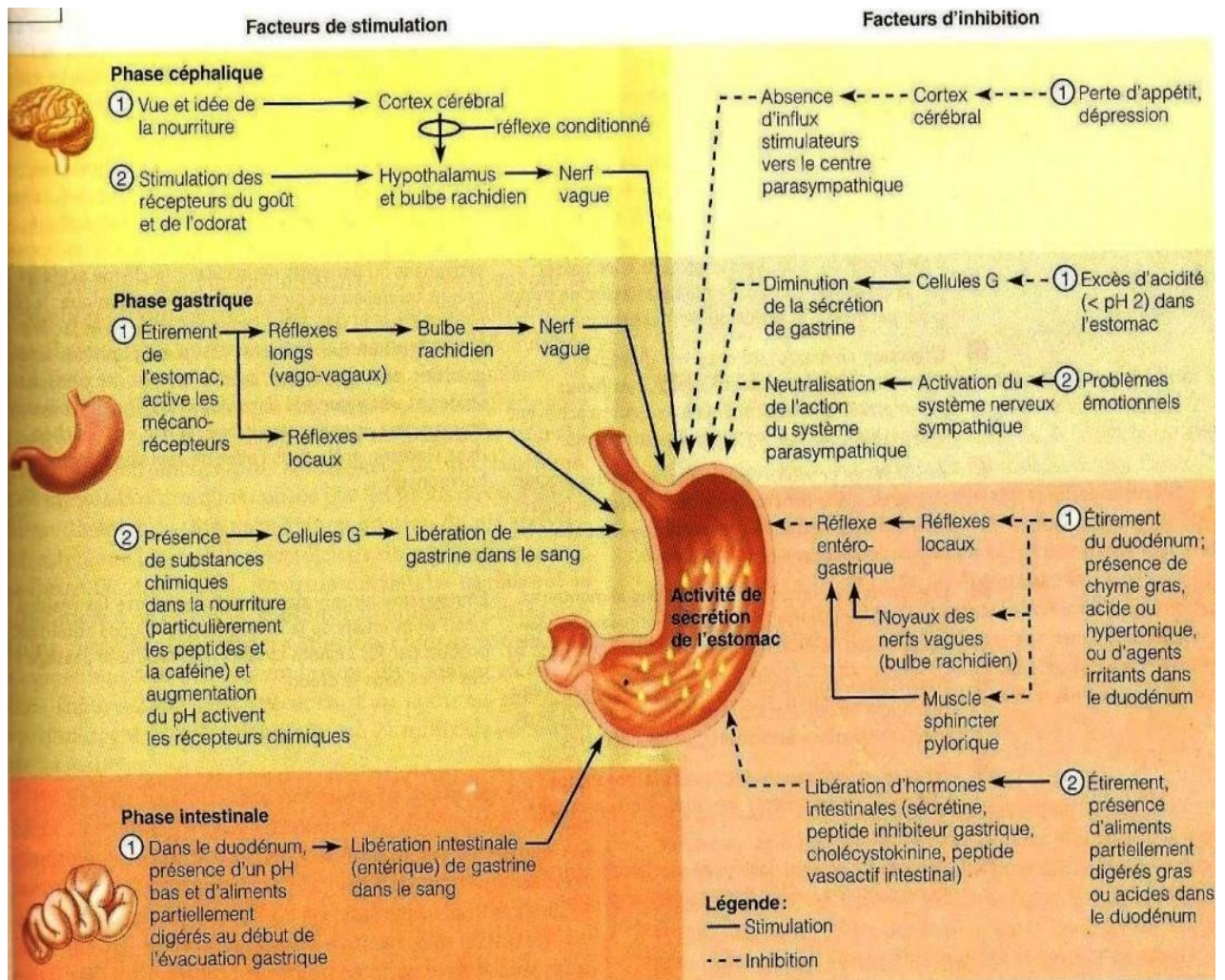


Figure 6 : Mécanismes nerveux et hormonaux réglant la libération du suc gastrique (Marieb et Hoehn, 2007).

a) Phase céphalique ou réflexe

La phase céphalique ou réflexe, de la sécrétion gastrique commence avant que les aliments pénètrent dans l'estomac. Elle est déclenchée par l'arôme, le goût, la vue ou l'idée de la nourriture. Elle ne dure que quelques minutes au cours desquelles, elle prépare l'estomac à la tâche qu'il devra accomplir. Les influx nerveux partent des récepteurs olfactifs et des calicules gustatifs activés et sont envoyés à l'hypothalamus qui à son tour, stimule le noyau des nerfs vagues situés dans le bulbe rachidien. Des influx moteurs sont transmis par l'intermédiaire des nerfs vagues aux ganglions entériques parasympathiques. Les neurones entériques ganglionnaires stimulent à leur tour les glandes gastriques. (Marieb et Hoehn, 2007). La stimulation du vague est le plus puissant stimulus de la sécrétion d'acide et de pepsine (Kahle *et al.*, 1995).

b) Phase gastrique

La phase gastrique dure trois à quatre heures pendant lesquelles la présence des aliments dans l'estomac accroît la sécrétion gastrique induite par la phase céphalique. Les stimuli les plus importants sont l'étirement, la présence des peptides et la faible acidité. L'étirement de la paroi de l'estomac déclenche les réflexes locaux (myentériques) et les réflexes longs (vago-vagaux). Les deux types de réflexes déclenchent la libération de l'acétylcholine, qui accroît encore la libération du suc gastrique par les cellules sécrétrices (Ganong, 2003).

c) Phase intestinale

La phase intestinale de la sécrétion gastrique a deux composantes: une excitatrice et l'autre inhibitrice. La partie excitatrice est mise en évidence lorsque le chyme entre dans le duodénum. Cet événement entraîne la stimulation de la libération par les cellules de la muqueuse intestinale, de la gastrine intestinale. Cependant, cette stimulation ne s'exerce que brièvement. En effet, lorsque l'intestin se trouve étiré par le chyme, la phase inhibitrice se déclenche sous la forme du réflexe entérogastrique. Ce réflexe diminue la sécrétion et protège l'intestin contre plus d'acidité (trop forte) et ajuste la quantité de chyme présente, en fonction de la capacité digestive (Marieb et Hoehn, 2007).

I.1.3.4.2 - Contrôle de la sécrétion gastrique d'acide

a) Stimulation de la sécrétion d'acide

La sécrétion d'acide par les cellules pariétales est principalement stimulée par la gastrine, l'acétylcholine et l'histamine par l'intermédiaire des récepteurs spécifiques (Figure 7) avec pour inhibiteur la somatostatine.

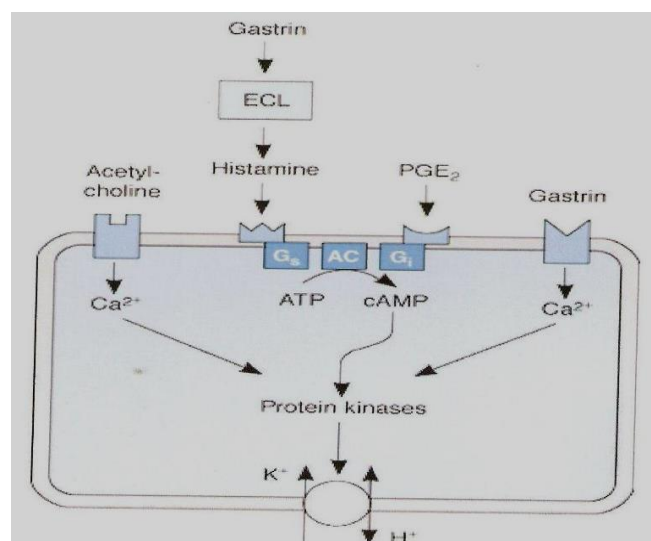


Figure 7 : Stimulation de la sécrétion d'acide par les cellules pariétales (Ganong, 2003).

G_s : protéine G stimulatrice, G_i : protéine G inhibitrice, AC : adénylate cyclase, cAMP : adénosine mono phosphate cyclique, PGE₂ : prostaglandine E₂, ECL : *enterochromaffin-like*.

- **La gastrine** est sécrétée par les cellules G de l'antrum pylorique et du duodénum. La sécrétion de la gastrine est stimulée par le nerf vague, la charge de l'estomac et la teneur en acides aminés du repas. Elle stimule directement la sécrétion d'acide en activant les récepteurs CCK-2 de la gastrine située sur la membrane de la cellule pariétale augmentant le Ca^{2+} intracellulaire. Elle peut également agir indirectement en augmentant la libération d'histamine à partir des cellules *enterochromaffin-like* (ECL) (Cadiot *et al.*, 2005).

- **L'acétylcholine** est libérée par les terminaisons du nerf vague. Il stimule directement la sécrétion d'acide par l'interaction avec son récepteur muscarinique M_3 pour augmenter le Ca^{2+} intracellulaire. Il peut aussi agir indirectement par augmentation de la libération d'histamine (Cadiot *et al.*, 2005).

- **L'histamine** est le facteur central de la régulation de la sécrétion d'acide gastrique. Elle est produite par les cellules ECL et les mastocytes par la décarboxylation de L-histidine par l'enzyme L-histidine décarboxylase. Elle stimule directement les cellules pariétales par sa fixation sur les récepteurs H_2 couplé à une protéine G_s qui active la voie de l' AMP_C (Cadiot *et al.*, 2005). De ce fait, les antihistaminiques H_2 tels que la cimétidine, la ranitidine et la famotidine inhibent la sécrétion de l'acide chlorhydrique de façon significative (Schorderet, 1989).

- **La somatostatine** est produite par les cellules D fundiques et antrales. Elle est le principal inhibiteur de la sécrétion d'acide des cellules pariétales. En effet, la somatostatine agit directement sur ses récepteurs, couplés à une protéine G_{ai} inhibant l'adénylate cyclase, sur la cellule pariétale. Elle peut aussi agir indirectement en diminuant la libération de la gastrine et de l'histamine (Cadiot *et al.*, 2005).

- **Les prostaglandines E_2 (PGE_2)** sont principalement produites par les cellules pariétales. Elles inhibent la sécrétion gastrique de manière autocrine par l'intermédiaire des récepteurs spécifiques au niveau des cellules pariétales, couplés à une protéine G_i (Cadiot *et al.*, 2005).

b) Mécanisme de la sécrétion du HCl

Le mécanisme de transfert du proton est très complexe et implique plusieurs mécanismes enzymatiques (Figure 8).

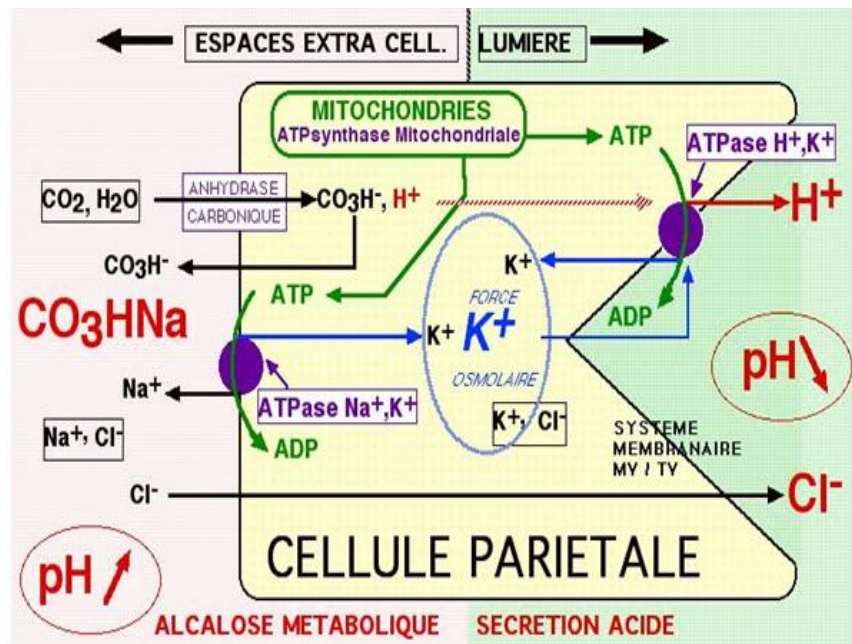


Figure 8 : Mécanisme de sécrétion du HCl par les cellules pariétales (Balas, 2003).

- *l'ATP synthétase mitochondriale* catalyse la production d'ATP responsable de l'activation des pompes membranaires ;

- *l'anhydrase carbonique* catalyse la libération du proton H^+ et de l'anion HCO_3^- à partir du CO_2 et de l' H_2O . Le HCO_3^- s'associe au Na^+ pour former le bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$) ;

- *l'ATPase- Na^+ - K^+* des membranes des cellules pariétales transfère en permanence les ions Na^+ vers le compartiment extracellulaire et inversement les K^+ vers le compartiment intracellulaire. Le transfert du Na^+ vers la zone extracellulaire explique l'alcalose métabolique et l'accumulation de $NaHCO_3$ dans les espaces extracellulaires ;

- *l'ATPase H^+ - K^+* est spécifique à la cellule pariétale. Elle permet le transfert du proton H^+ dans la lumière gastrique et donc la formation d'acide chlorhydrique par échange avec le K^+ qui est maintenu dans l'espace intracellulaire.

En effet chaque molécule de HCl libérée dans l'estomac s'accompagne de la formation d'une molécule de $NaHCO_3$. Autrement dit, la stimulation de la sécrétion d'acide de l'estomac, avec une forte diminution du pH intraluminal gastrique, se solde par une augmentation du pH extracellulaire, et donc par une alcalose métabolique (Balas, 2003).

I.2 - ULCÈRES GASTRODUODÉNAUX

I.2.1 - GÉNÉRALITÉS

Les ulcères gastroduodénaux représentent une affection plurifactorielle de la muqueuse gastrique ou duodénale, caractérisée par la présence d'un cratère qui atteint la couche musculaire de la muqueuse (Figure 9). La cause réside dans un déséquilibre entre les facteurs d'agression et de protection de la muqueuse gastrique. L'ulcère gastrique est une maladie typique des personnes âgées. Le symptôme typique est une douleur, immédiatement après la prise de nourriture. L'ulcère duodénal est plus fréquent que l'ulcère gastrique et touche principalement les hommes. La plainte la plus fréquente est une douleur tardive deux heures après le repas. Les complications graves de la maladie ulcéreuse sont des hémorragies au niveau de la zone ulcérée ainsi que des perforations au cours desquelles la paroi gastrique ou duodénale est rompue par l'ulcère, entraînant la pénétration des aliments et de l'air dans la cavité abdominale ; à l'origine dans de certains cas des cancers (Silbernagl et Despopoulos, 2002).

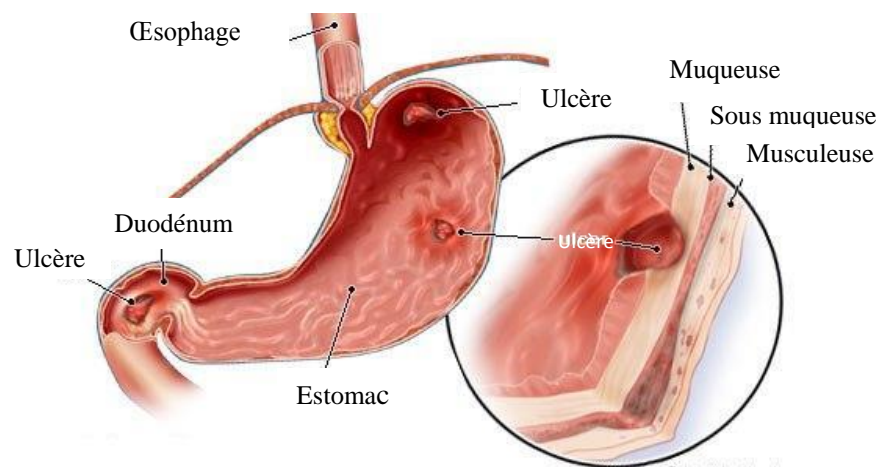


Figure 9 : Illustration des ulcères peptidiques (Schäffer, 2008).

En fonction de la profondeur de l'atteinte pariétale, l'ulcère vrai doit être distingué des abrasions, des érosions et des ulcérations (Figure 10) (Cadiot *et al.*, 2005) ;

- ***l'abrasion*** est une destruction de l'épithélium et de la partie superficielle des cryptes ;
- ***l'érosion*** est une destruction des cryptes et des glandes en une hauteur variable mais sans atteinte de la musculaire muqueuse ;

- ***l'ulcération*** est une perte de substances à bords nets, taillée à pic, à fond inflammatoire non scléreuse avec amputation de la musculaire muqueuse et de la sous muqueuse ;

- *l'ulcère vrai* ou substratum anatomique de la maladie de Cruveilhier, représenté par une perte de substance amputant la musculuse qui est transformée en un bloc scléreux.

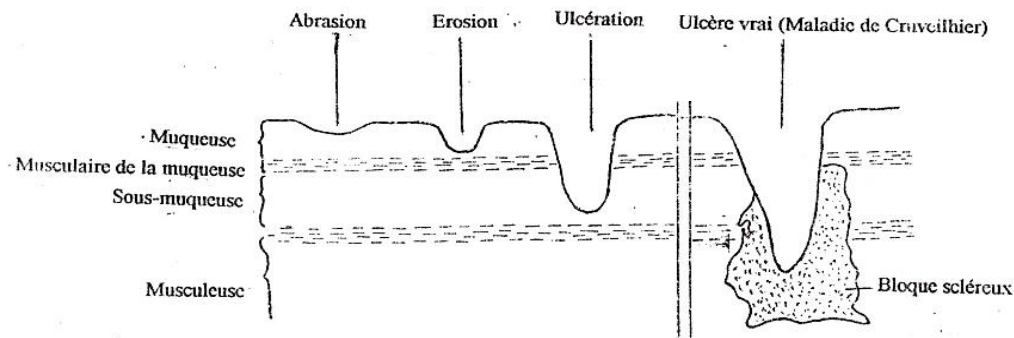


Figure 10 : Systématisation des pertes de substances gastriques (Rambaud, 2005).

I.2.2 - PHYSIOPATHOLOGIE

Les ulcères gastriques et duodénaux restent une maladie plurifactorielle dont l'équation passe par le déséquilibre de trois facteurs physiopathologiques à savoir : l'agression, la défense et la réparation.

I.2.2.1 - Facteurs d'agression

Les facteurs d'agression sont constitués par l'hypersécrétion d'acide gastrique et de pepsine, l'infection par *Helicobacter pylori*, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), l'alcool, le tabac, les habitudes alimentaires, le stress oxydant et psychique, les prédispositions génétiques, l'âge et le sexe.

I.2.2.1.1 - *Helicobacter pylori*

a) Description

H. pylori est une bactérie Gram négatif. Elle a une forme spiralée, mesure 2,5 à 4 µm de long et 0,5 à 1 µm de large, mobile grâce à ses 4 à 6 flagelles polaires engainées. Elle est donc une bactérie très mobile et colonise la surface épithéliale de la muqueuse gastrique des personnes infectées. Elle adhère à la surface des cellules épithéliales et sur la couche de mucus qui couvre l'épithélium gastrique. *H. pylori* produit une uréase forte qui hydrolyse l'urée en dioxyde de carbone (CO₂) et en ammoniaque (Rho *et al.*, 1999). Cette uréase est un facteur important de la colonisation et de la survie. Elle produit l'ammoniaque dans le microenvironnement immédiat de *H. pylori*, ce qui protège contre l'acide gastrique (Kubo *et al.*, 1999). L'infection à *H. pylori* est très souvent associée à la pathogenèse des ulcères peptidiques. Il rompt la barrière muco-bicarbonée au même titre que les anti-inflammatoires

non stéroïdiens (Ganong, 2003). *H. pylori* fait évoluer les gastrites en cancer gastrique (Rho *et al.*, 1999).

b) Épidémiologie

L'infection par *H. pylori* est universellement répandue. Sa prévalence est plus élevée dans les pays en voie de développement. Plus fréquente en milieu défavorisé, de bas niveau socio-économique. C'est ainsi que le lieu de naissance, les conditions sanitaires défavorables, la promiscuité, l'absence de matériel de réfrigération sont des facteurs de risque majeur d'infection à *H. pylori*. Sa présence dans les foyers intrafamiliaux et dans les collectivités suggère que la transmission de l'infection se fait d'individu à individu ou par l'intermédiaire d'une source commune (Megraud, 2003).

Le mode de transmission inter-humaine oro-orale semble la plus probable, la transmission féco-orale n'interviendrait qu'en cas de mauvaise condition d'hygiène. Il n'a pas été mis en évidence de transmission par voie sexuelle. La contamination par fibroscopie peut être évitée si on respecte les normes de décontamination du matériel (Wizla-Derambure *et al.*, 2001).

c) Helicobacter pyloriet pathologies gastriques

- Helicobacter pyloriet gastrite

H. pylori demeurant à la surface de l'épithélium gastrique déclenche une réaction inflammatoire caractérisée par une infiltration de lymphocytes, de plasmocytes et de macrophages. En effet, la bactérie en interaction avec la cellule épithéliale entraîne la production d'interleukines, celle-ci provoque le recrutement des polynucléaires. De plus *H. pylori* activerait directement ou par le biais d'une endotoxine les macrophages qui induisent à son tour la production de nombreuses cytokines et le *Tumor Necrosis Factor* (TNF). Ces différentes réactions déclenchées par la colonisation de l'estomac par *H. pylori* aboutissent à la gastrite (Sobhani *et al.*, 2005).

- Helicobacter pyloriet ulcère

L'ulcère duodéal est accompagné d'une infection antrale par *H. pylori* dans presque 90 % des cas et l'absence de récurrence ulcéreuse après éradication du germe sont des arguments majeurs en faveur de *H. pylori* dans la genèse de la maladie ulcéreuse. C'est ainsi que l'ulcère a été considéré par certains auteurs comme une maladie infectieuse. Les ulcères duodéaux *H. pylori* négatifs sont rares et seraient en rapport avec le syndrome de Zollinger-Ellison ou induits par une prise médicamenteuse (Valle *et al.*, 1996). Cependant, seule une minorité de patients *H. pylori* positif est porteuse de l'ulcère duodéal. Ce qui fait intervenir d'autres

paramètres tels que la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection, l'âge de la première infestation de la muqueuse gastrique, des facteurs génétiques et d'environnement. La réponse inflammatoire provoquée par l'infection à *H.pylori* entraîne une infiltration de la muqueuse par des lymphocytes, plasmocytes, des macrophages et la production de cytokines (IL1, TNF, IL6, IL8) qui vont accroître l'infiltration de la muqueuse par les polynucléaires neutrophiles et favoriser leur activation (Yamaoka, 1999). L'infection chronique par *H. pylori* s'accompagne d'une augmentation modérée de la gastrine basale avec augmentation de la réponse gastrinique à un repas. En plus, il existe chez les patients infectés et porteurs d'un ulcère duodénal une diminution de la sécrétion des bicarbonates : ce qui concourt à l'acidification du duodénum (Bommelaer *et al.*, 2001).

- *Helicobacter pylori* et lymphome

H. pylori entraîne une prolifération lympho-épithéliale de la muqueuse gastrique, celle-ci étant normalement dépourvue de follicule lymphoïde, et évoque la phase d'initiation du lymphome gastrique de type M.A.L.T. (*Mucosæ Associated Lymphoid Tissue*) à cellule B de bas grade de malignité. Par ailleurs, l'éradication de *H. pylori* entraînerait une régression de ce lymphome gastrique (Cover et Blasser, 2009).

- *Helicobacter pylori* et cancer gastrique

L'existence d'un lien entre l'infection par *H. pylori* et la survenue d'un cancer de l'estomac est possible comme témoigne l'existence d'une association significative entre la présence des anticorps anti *H. pylori* et l'apparition d'un cancer gastrique. Ainsi, le risque relatif de survenue d'un cancer gastrique dans les populations infectées par *H. pylori* est de 6 ; ce risque est d'autant plus élevé que l'infection par *H. pylori* est ancienne. En plus, *H. pylori* provoque une diminution du taux d'acide ascorbique, une hypochlorhydrie favorisant la pullulation microbienne par conséquent la formation des nitrosamines, l'ensemble de ces facteurs incriminés dans la genèse du cancer gastrique (Boubaker *et al.*, 2002).

I.2.2.1.2 - Hypersécrétion d'acide gastrique

L'hypersécrétion prolongée d'acide gastrique est une condition nécessaire au développement des ulcères gastroduodénaux et d'une variété des désordres gastro-intestinaux. Plusieurs facteurs favorisent l'hypersécrétion d'acide gastrique : c'est le cas du stress psychique, de la consommation excessive du tabac et d'alcool, des habitudes alimentaires, du jeûne prolongé, des prédispositions héréditaires et du sexe (Barros *et al.*, 2008 ; Tulassay et Herszényi, 2010). L'hypersécrétion d'acide gastrique peut aussi résulter :

- ***d'une hypersécrétion d'histamine*** : c'est le cas chez les patients souffrants de mastocytose systémique. Ici, le niveau élevé d'acidité est une conséquence de l'hypersécrétion d'histamine, qui est provoquée par l'augmentation du nombre mastocytes (Jensen, 2000) ;

- ***d'une hypersécrétion de gastrine*** : c'est le cas chez les patients atteints du syndrome de Zollinger-Ellison, où le gastrinome (tumeur endocrine situé dans la région duodéno-pancréatique) provoque une hypergastrinémie (Ganong, 2003) ;

- ***d'une hypercalcémie chronique***, car le calcium stimule directement la sécrétion de la gastrine par les cellules G et la sécrétion d'acide par les cellules pariétales (Bucham *et al.*, 2001) ;

- ***d'une augmentation de la masse des cellules pariétales***, dans les conditions normales ou pathologiques est corrélée au débit d'acide maximal. C'est le cas chez les sujets souffrant des ulcères duodénaux où la masse des cellules pariétales est environ le double de celle des sujets normaux (Rambaud, 2005).

La sécrétion du HCl est responsable de la formation d'un gradient de concentration en ions H^+ très élevé entre la lumière gastrique et les cellules épithéliales superficielles. Ce gradient favorise la rétrodiffusion de ces ions. Cette rétrodiffusion est d'autant plus importante et plus profonde lorsque le pH est bas d'une part, et que la microcirculation sanguine soit perturbée d'autre part. Lorsque l'acide gagne la lumière de la muqueuse gastrique au moyen des canaux présents dans le mucus, il va interférer avec la restauration de la muqueuse entraînant la transformation des lésions superficielles en blessure plus profonde et il va aussi inactiver les facteurs de croissances importants au maintien de l'intégrité de la muqueuse et de la réparation des lésions superficielles (Johansson *et al.*, 2001 ; Schubert et Peura, 2008).

Les symptômes associés à l'hypersécrétion d'acide sont la sensation de brûlure ou douleur de l'estomac 1 à 4 heures après le repas, douleur de la poitrine, brûlure au niveau du cœur, inflammation dans la poitrine, sensation de famine fréquente, douleur constante dans la partie supérieure de l'abdomen, nausées, perte d'appétit, problèmes respiratoires, vomissements, fièvres, reflux gastro-œsophagien et changement de la voix (Rambaud, 2005).

I.2.2.1.3 - Hypersécrétion de la pepsine

La pepsine est le deuxième facteur physiologique responsable de la formation des lésions gastriques. Elle peut créer directement les lésions de muqueuses ou majorer les effets délétères de l'acide. Elle digère la couche superficielle de mucus. Au niveau du fundus, la pression hydrostatique produites par les cellules sécrétrices de pepsine et d'acide

chlorhydrique soulève puis perce le mucus (Bernier et Florent, 1986). En outre, l'hyperpepsinogénémie de type I est connu classiquement comme un marqueur génétique pour l'ulcère duodéal (Rambaud, 2005).

I.2.2.1.4 - Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Un autre facteur important qui s'attaque directement aux défenses de la muqueuse gastriques est l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Les ulcères gastriques provoqués par les AINS sont souvent asymptomatiques. Ces AINS masqueraient la symptomatologie ulcéreuse. Les études ont montré que les AINS sont très utilisés dans le monde (Graumlich, 2001 ; Jones, 2001). 90 % des prescriptions des AINS se font chez les patients âgés de plus de 65 ans. Le problème majeur de l'utilisation de ces médicaments est l'induction prévisible des lésions de la muqueuse gastrique et les complications gastro-intestinales (Laine *et al.*, 2008).

Le mécanisme majeur par lequel les AINS provoquent les ulcères gastriques est l'inhibition de la cyclooxygénase (COX), qui est une enzyme clé dans la biosynthèse des prostaglandines (PG). Deux isoformes de COX ont été identifiées, la COX 1 et COX 2 (Laine *et al.*, 2008). La COX 1 est exprimée dans la plupart des tissus produisant les PG. Ces PG jouent un rôle essentiellement protecteur dans l'estomac : par la stimulation de la sécrétion du mucus et du bicarbonate, l'augmentation du flux sanguin de la muqueuse et la promotion de la prolifération épithéliale. Quant à la COX 2, elle est très peu ou pas sécrétée dans la plupart des tissus et sa sécrétion est rapide en réponse aux stimuli inflammatoires. Cette isoforme est la cible primaire des médicaments anti-inflammatoires. Dans ce contexte, les AINS non sélectifs inhibent à la fois la COX 1 et la COX 2, ainsi l'indométacine ou l'ibuprofène, causent des dommages dans l'estomac par réduction du contenu en PGE₂ dans la muqueuse gastrique. Cet effet se produit via l'inhibition de la COX 1, créant un environnement gastrique très vulnérable aux attaques des facteurs agressifs endogènes et exogènes (Vane et Botting, 1995). De plus, l'inhibition de la COX 1 bloque la production du thromboxane par les plaquettes, ce qui augmente le saignement lorsqu'un site de saignement est présent dans le tractus gastro-intestinal (Lanas et Scheiman, 2007). Cependant, les inhibiteurs sélectifs de la COX 2, n'inhibent pas la COX 1 à la dose thérapeutique, n'affectent pas la production des PG de la muqueuse et ne produisent pas les dommages gastriques chez les modèles expérimentaux. Donc le développement des AINS qui inhibent sélectivement la COX 2 (Coxibs), et n'ayant pas d'effet sur la COX 1, ont entraîné un soulagement de la douleur avec une réduction des effets négatifs sur le tractus gastro-intestinal. En effet, les données issues de nombreuses

études ont révélé que les AINS qui inhibent sélectivement la COX 2 réduit significativement les ulcères gastroduodénaux par rapport aux AINS non sélectifs. Cependant, il est reconnu que les PG dérivés de la COX 2 peuvent jouer un rôle important dans la guérison des ulcères en stimulant la prolifération cellulaire, la promotion de l'angiogenèse et la restauration de l'intégrité de la muqueuse (Konturek *et al.*, 2005). Ces observations indiquent que, contrairement au concept initial, la COX 2 joue un rôle important dans la défense de la muqueuse gastrique. Par conséquence, les études expérimentales ont montré que l'inhibition à la fois de la COX 1 et de la COX 2 est nécessaire à l'induction des lésions gastriques par les AINS (Tanaka *et al.*, 2001 ; Peskar *et al.*, 2001) et donc la COX 2 fait baisser mais n'élimine pas les ulcères gastroduodénaux causés par les AINS (Silverstein *et al.*, 2000). En effet, l'indométacine et les AINS similaires inhibent les deux isoformes de COX, produisant d'avantage des dommages sévères dans le tissu gastrique et les saignements gastro-intestinaux par rapport aux AINS sélectifs (Delaney *et al.*, 2007). Par conséquent, l'indométacine est devenue le premier choix des AINS utilisés pour produire expérimentalement un modèle d'ulcère (Suleyman *et al.*, 2004). En plus, les études ont mis en évidence que les AINS peuvent induire les lésions tissulaires et cellulaires par des mécanismes indépendants de l'inhibition des prostaglandines comprenant : l'inhibition des phosphorylases (kinases), l'inhibition de la phosphorylation oxydative mitochondriale et ou l'activation de l'apoptose (Husain *et al.*, 2001). Ces mécanismes, en combinaison avec l'inhibition de la sécrétion des PG, l'occlusion des micro-vaisseaux et l'hyperproduction subséquente des métabolites réactifs de l'oxygène sont donc capables d'induire l'oxydation des tissus blessés et de jouer un rôle important dans le développement des ulcérations de la muqueuses provoquées par les AINS (Blandizzi *et al.*, 2005). De plus, avec la baisse du métabolisme de l'acide arachidonique par la voie des COX suite à l'usage des AINS, ce métabolisme peut se faire par la voie alternative de la 5-lipoxygénase, avec pour résultante une augmentation de la production des leukotriènes. Pour cette raison, un rôle potentiel des leukotriènes sur les ulcères gastriques induites par les AINS a également été attribué (Bias *et al.*, 2004).

I.2.2.1.5 - Alcool

L'administration orale de faibles irritants tels que l'éthanol à 20 % prévient les lésions gastriques induites par les mêmes agents à forte concentration tels que l'éthanol absolu. Ainsi, un irritant plus faible protège des effets nocifs d'un irritant fort de même nature ou de nature différente. Donc, l'alcool à faible dose entraîne une cytoprotection adaptative (Bommelaer et Tournut, 1989). Par conséquent, il est conseillé une prise d'alcool faible aux patients souffrant

des ulcères peptidiques. Par contre, un alcool fort induit des ulcères gastriques même en présence d'aliments dans l'estomac. En plus, certaines conséquences tardives de l'alcoolisme telles que la cirrhose et la pancréatite chronique peuvent prédisposer aux ulcères gastriques (Bernades, 1990).

Le mécanisme par le quel l'alcool induit les lésions gastriques est complexe. En effet, l'alcool peut directement agir sur la muqueuse gastrique ou peut agir par un mécanisme affectant la libération et la régulation de la fonction nerveuse impliquée dans la sécrétion d'acide (Chari *et al.*, 1993 ; Bode et Bode, 1997). L'application intra-gastrique de l'éthanol absolu a été utilisée pour induire expérimentalement les lésions de la muqueuse gastrique chez les animaux (Arafa et Sayed-Amed, 2003). Les effets de l'administration aiguë d'éthanol absolu aux rats et souris est dose-dépendante. Les dommages apparaissent 30 minutes après l'ingestion pour atteindre un pic après environ 60 minutes (Repetto et Llesuy, 2002 ; Sternemer, 2002). Donc l'alcool brise l'intégrité de la barrière de la muqueuse gastrique, contribuant au reflux de l'acide dans les couches muqueuse et sous muqueuses (Oh *et al.*, 2005). En outre, la baisse de la formation des prostaglandines pourrait aussi jouer un rôle dans l'induction des lésions par l'alcool (Bode *et al.*, 1996). D'autres études ont montré que la dépendance à l'alcool augmente la production des leukotriènes et pourraient aussi contribuer au développement des dommages induits par l'alcool. Il est important de souligner que les changements induits à court-terme de l'exposition aux boissons alcoolique sont rapidement réversibles pendant un moment, l'exposition prolongé à l'alcool mène progressivement aux dommages de la muqueuse (Bode et Bode, 1997).

Le stress oxydant et la diminution des antioxydants jouent un rôle cruciale dans les dommages de la muqueuse induits par l'éthanol (La Casa *et al.*, 2000 ; Arafa et Sayed-Ahmed, 2003). L'éthanol induit le stress oxydant intracellulaire et produit une perméabilité mitochondriale transitoire, et une dépolarisation mitochondriale, qui précède la mort des cellules de la muqueuse gastrique. En considérant que l'éthanol est impliqué dans la genèse du stress oxydant, plusieurs travaux ont montré que les antioxydants, tels que le glutathion protège les cellules de la muqueuse des dommages causés par l'éthanol (Repetto et Llesuy, 2002 ; Silva *et al.*, 2009). L'ingestion intragastrique de la superoxyde dismutase a également protégé la muqueuse gastrique des effets des dommages provoqués par l'éthanol (Terano *et al.*, 1989). Aussi, l'éthanol induit le stress oxydant en réduisant la libération du monoxyde d'azote (NO), or, le NO élimine les radicaux libres. Dans ce contexte, Kato *et al.* en 2000 ont montré qu'une augmentation de la production du NO et du NO synthétase (NOS), prévient la genèse du stress oxydant induit par l'éthanol.

I.2.2.1.6 - Tabac

Les effets du tabac sur la fonction gastroduodénale sont multiples. Le tabac déprime le système de prostaglandines endogènes. Il augmente d'une part la masse des cellules pariétales et la sécrétion gastrique, et il diminue la sécrétion pancréatique de bicarbonate d'autre part. La sécrétion gastrique stimulée est en corrélation avec le nombre de cigarettes fumées chaque jour et le nombre d'années de consommation du tabac (Gastard *et al.*, 1990).

I.2.2.1.7 - Habitudes alimentaires

La mortalité par ulcère gastrique est plus fréquente dans les pays à forte consommation de sel de table (Portugal, Japon, etc.). La forte consommation de café stimule la sécrétion d'acide gastrique, ce qui augmenterait la fréquence des ulcères gastroduodénaux. Cette fréquence serait plus forte chez les buveurs de sodas et les sujets qui ne consomment pas de lait (Gastard *et al.*, 1990). L'alimentation très épicée, très acide, très fermentée ou très sucrée augmente l'incidence des ulcères gastroduodénaux (Bernier et Florent, 1985).

I.2.2.1.8 - Stress oxydant

Les leucocytes et les macrophages peuvent générer des radicaux libres oxygénés pendant les périodes d'inflammation aiguë associées aux ulcères gastroduodénaux. Ces radicaux libres oxygénés entraînent la peroxydation des lipides membranaires impliqués dans la mort cellulaire (Rambaud, 2005).

Pendant le stress oxydant, le déséquilibre entre les facteurs d'agressions et de défenses de l'estomac joue un rôle principal dans la genèse des hémorragies et des ulcères gastriques (Hung, 2005). La surproduction inquiétante des espèces oxygénées réactives représente l'un des facteurs pathogéniques majeurs résultant directement des dommages oxydatifs, qui peuvent mener à la mort de la cellule. En plus, ces agents sont connus pour entraîner la formation des seconds messagers qui activent la cascade de réaction de transduction du signal, y compris la protéine kinase mitogène activée (*MAPK = mitogen-activated protein kinase*) et les facteurs de transcription (NF-Kb et AP-1), qui régule l'expression de plusieurs gènes pro-inflammatoires et, ainsi, mène à l'élaboration des médiateurs chimiques et hormonaux de l'inflammation tissulaire (Ali et Harty, 2009). Ceci est fréquemment prouvé par les facteurs pro-ulcérogènes dans l'estomac et l'intestin tels que *H. pylori*, l'utilisation des AINS, l'éthanol, le tabac, le stress psychologique, l'utilisation des corticostéroïdes, et le manque de

sommeil, alors que les facteurs de défense comprennent le glutathion (GSH) et la biosynthèse du mucus (Hung, 2005 ; Olaleye *et al.*, 2007).

Au stade de maladie, le stress oxydant peut se produire au niveau de l'estomac et résulter d'une élévation de la peroxydation lipidique de la muqueuse gastrique ; ce qui génère les radicaux libres oxygénés et les acides gras polyinsaturés des cellules pouvant provoquer les dommages de la muqueuse gastrique. Le malondialdéhyde (MDA) est un produit final résultant de la peroxydation des acides polyinsaturé et des esters membranaires, et la mesure de cette substance représente l'index approprié des dommages de l'oxydation des tissus. En outre, les composés sulfhydrylés tels que la GSH sont impliqués dans le maintien de l'intégrité gastrique, particulièrement lorsque les espèces oxygénées réactives sont impliquées dans la physiopathologie de la blessure (Blandizzi *et al.*, 2005). Donc, la production des radicaux libres et du MDA résulterait de l'initiation des espèces oxygénées réactives de la chaîne de réaction ou initié par un mécanisme indirect qui supprime la capacité antioxydante du sang et de la paroi gastrique à éliminer les espèces oxygénées réactives (Dotan *et al.*, 2004 ; Tuorkey et Abdul-Aziz, 2011). En fait, plusieurs études ont démontrés que la diminution du taux de GSH lors de l'inflammation et des ulcérations de la muqueuse gastrique, est une preuve de l'effet protecteur du GSH sur les dommages induits par l'éthanol et les AINS (Silva *et al.*, 2009 ; Al-Hashem, 2010).

I.2.2.1.9 - Stress psychique

Le stress est impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associant les complications de l'évolution. Certaines études épidémiologiques attribuent au stress l'augmentation de l'incidence ulcéreuse. Ceci a été vérifié chez les habitants de Londres pendant la deuxième guerre mondiale. Mais, il semble que, plus que l'évènement lui-même, ce soit la manière dont il est vécu par l'ulcéreux qui importe (Gastard *et al.*, 1990).

Des nombreux travaux sur les animaux et les humains ont évalué les effets du stress psychologique sur le tractus gastro-intestinal. Par exemple, l'incidence des lésions gastriques augmente chez les rats soumis à un stress social, suite à la séparation prématurée des ratons de leur mère (Ackerman *et al.*, 1975). En outre, chez les sujets en détresse psychologique, on note une augmentation de l'incidence des ulcères à partir de l'âge de 9 à 15 ans due aux effets de la pression ou aux contraintes de la vie (Levenstein *et al.*, 1999). Dans ce même ordre d'idée, les facteurs stressants peuvent être aigus ou chroniques et suscitent l'augmentation récurrente des efforts physiologiques par l'organisme (Chang, 2008). Ainsi, avec le temps, le stress entraîne plusieurs dommages muqueux parmi les quels on peut citer: les ulcères liés au

stress, les gastrites liés au stress, les érosions liés au stress, les gastrites hémorragiques et les gastrites érosives (Ali et Harty, 2009).

La stimulation de la sécrétion gastrique d'acide représente le mécanisme par lequel le stress psychologique provoque les ulcères gastroduodénaux. Il est aussi responsable de la modification du flux sanguin gastrique, qui joue un rôle important dans la barrière muco-bicarbonée de l'estomac. En outre, le stress peut réduire la motilité gastrique à l'origine du retard de la vidange gastrique; ce qui pourrait augmenter la charge d'acide nette parvenant au duodénum et augmenter le risque d'ulcères duodénaux. Le stress psychologique peut également favoriser la croissance de *H. pylori* dans le duodénum, si elle augmente l'acidité duodénale; car les effets inhibiteurs de la bile sur *H. pylori* sont inversés par l'acidité (Levenstein *et al.*, 1999).

I.2.2.1.10 - Facteur lié au sexe

L'hormone sexuelle mâle (la testostérone) augmente la sécrétion d'acide gastrique et l'hormone sexuelle femelle (œstrogène) inhibe cette sécrétion d'acide ; ce qui prédispose le sexe mâle aux ulcères gastriques relativement au sexe femelle. Des études ont montré que, l'ovariectomie des rattes entraînait une augmentation significative de la masse des cellules pariétales, corrélée à une augmentation significative de la sécrétion d'acide basale. Par contre, la castration des rats mâles entraînait la baisse du nombre de cellules pariétales de la muqueuse gastrique à l'origine d'une réduction de la sécrétion basale d'acide (Kayode, 1991). D'autres travaux ont montré que, l'administration des œstrogènes aux rats mâles entraînait la réduction de la sécrétion d'acide gastrique (Olowookorun, 1975).

I.2.2.1.11 - Facteurs génétiques

Les formes familiales de l'ulcère duodéal ont permis de formuler l'hypothèse d'une susceptibilité génétique particulière à la maladie ulcéreuse (Pospai *et al.*, 2005). Les individus issus des familles où règne la maladie ulcéreuse sont prédisposés aux ulcères. Ainsi, les ulcères sont trois fois plus fréquents chez les parents d'ulcéreux que dans le reste de la population (Gastard *et al.*, 1990).

Fouet en 1983 a mis en évidence une hétérogénéité de la maladie distinguant les ulcères gastriques et les ulcères duodénaux, mais aussi à l'intérieur des ulcères duodénaux, au moins deux groupes marqués par le groupe sanguin O d'une part et A, B, AB d'autre part. Le groupe sanguin O et son statut non sécréteur des antigènes augmentent de respectivement 1,3 et 1,5 fois le risque relatif d'ulcère duodéal. L'étude de concordance et de discordance des ulcères

entre les jumeaux, permet de constater que 39 % de la prédisposition pour les ulcères serait dû aux facteurs génétiques (Pospai *et al.*, 2005).

I.2.2.2 - Facteurs de défense et de réparation

Dans l'estomac, les facteurs de défense comprennent: la barrière muco-bicarbonaté, la barrière épithéliale, les prostaglandines et la microcirculation gastrique.

I.2.2.2.1 - La barrière de muco-bicarbonaté ou barrière pré-épithéliale

La barrière muco-bicarbonaté constitue la première ligne de défense de la muqueuse gastrique contre les agents agresseurs endogènes et exogènes (Lichtenberger, 1999 ; Allen et Flemström, 2005). Le mucus gastrique est un gel visqueux, élastique et adhérent, qui recouvre toute la surface de la muqueuse gastro-intestinale. Le rôle protecteur du mucus face aux différentes substances agressives tient à son imperméabilité relative. En effet, le gel de mucus est totalement imperméable à la pepsine. Ainsi, bien que la pepsine solubilise la couche superficielle du mucus, elle n'a aucune possibilité de diffuser à travers le gel et pénétrer jusqu'aux cellules de la muqueuse ; ce qui explique qu'elle ne peut pas digérer les cellules du tissu gastrique. En plus, la faible perméabilité du mucus pour les sels biliaires protège la muqueuse gastrique contre ce puissant agent agresseur (Bernier et Florent, 1985). En revanche, la perméabilité du mucus pour l'eau et les ions H^+ provenant de la sécrétion du HCl est très importante. La perméabilité des ions H^+ est quatre fois plus élevée que celle de l'eau. Ainsi, les ions H^+ diffusant très facilement dans le mucus devraient baisser facilement le pH au voisinage des cellules gastriques et par cette acidité se comporter comme des agresseurs permanents de la muqueuse. Mais, là intervient la sécrétion du bicarbonate de soude qui neutralise (tamponne) les ions H^+ pour donner l'eau et les empêchant ainsi de diffuser vers la muqueuse. Il s'établit entre la muqueuse et la cavité gastrique un gradient de pH, qui réduit progressivement la concentration des ions H^+ libres (Tulassay et Herszényi, 2010). Les altérations de la couche de mucus par les substances ulcérogéniques (tels que les AINS et les sels biliaires) mènent simultanément à une rétrodiffusion d'acide et aux lésions de la muqueuse (Darling *et al.*, 2004 ; Allen et Flemström, 2005). De plus, si les radicaux oxygénés sont générés à la surface de l'épithélium contenant le mucus, ce dernier peut les piéger. Il se comporte donc comme un antioxydant et réduit les dommages causés par les radicaux libres oxygénés (Repetto et Llisuy, 2002).

L'efficacité des propriétés protectrices de la barrière de mucus dépend aussi de son épaisseur (Repetto et Llesuy, 2002). L'épaisseur de cette couche résulte d'un équilibre dynamique entre sa sécrétion et son érosion mécanique par les forces de cisaillements du processus digestif et sa dégradation protéolytique (Bernier et Florent, 1985).

La barrière muco- bicarbonaté est la seule barrière pré-épithéliale entre l'épithélium et la lumière. Lorsque cette barrière est rompue dans certaines situations pathologies, deux autres lignes de défense sont mise en place et sont constituées par la réparation épithéliale et le maintien du flux sanguin de la muqueuse (Tulassay et Herszényi, 2010).

I.2.2.2.2 - La barrière épithéliale

La deuxième ligne de défense de l'estomac est constituée par la barrière épithéliale. Cette barrière est constituée par une couche continue de cellules épithéliales qui sécrètent le mucus, le bicarbonate et les prostaglandines. La fonction de cette barrière est qu'elle forme une couche étanche qui empêche le contact direct entre les substances exogènes (aliments et médicaments) et le milieu intérieur de l'organisme. Cette fonction est liée au fait que les cellules épithéliales qui constituent cette barrière sont étroitement collées les unes des autres grâce aux jonctions étanches (serrées). Cependant la mort et le renouvellement cellulaire rompt à chaque fois la cohésion des jonctions. L'imperméabilité relative du tissu gastrique est donc un équilibre qui dépend à la fois de l'adhérence des cellules les unes des autres et de leur renouvellement régulier (Bernier et Florent, 1985 ; Laine *et al.*, 2008 ;Tulassay et Herszényi, 2010).

Les peptides stimulent la prolifération des cellules épithéliales en cas de dommage et augmentent également la sécrétion du mucus, et inhibent la sécrétion d'acide dans l'estomac. Cependant, après des dommages superficiels, la restitution de l'épithélium externe se produit dans les minutes qui suivent, par la migration des cellules épithéliales préservées et qui sont situées dans les glandes gastriques. La migration précède la prolifération cellulaire et est indépendante de celle-ci, qui se produit des heures après des dommages (Laine *et al.*, 2008).

I.2.2.2.3 - Les prostaglandines

Les prostaglandines sont synthétisées par les cellules de l'épithélium de la muqueuse gastrique, suite à l'action de la cycloxygénase dans le métabolisme de l'acide arachidonique. Le mécanisme cytoprotecteur des prostaglandines contre les dommages de la muqueuse induits par les substances corrosives implique leurs capacités à stimuler la sécrétion du mucus

et du bicarbonate, à augmenter le flux sanguin de la muqueuse et à empêcher la rétrodiffusion de l'acide dans l'épithélium (Farhadi *et al.*, 2003 ; Kato *et al.*, 2005). En plus, certains médiateurs [monoxyde d'azote, *calcitonin gene related peptide*(CGRP)] et hormones [gastrine, leptine et *gastrin release peptide* (GRP)] produisent leurs effets cytoprotecteurs par l'intermédiaire des prostaglandines (Farhadi *et al.*, 2003).

I.2.2.2.4 -La microcirculation gastrique

La régulation de la microcirculation gastrique joue un rôle central dans le maintien de l'intégrité gastrique. Tous les mécanismes de défenses dépendent de l'état de la microcirculation gastrique pour l'apport d'oxygène et des nutriments, de l'entretien d'un environnement acido-basique approprié, et de l'élimination des agents délétères pour la muqueuse (Laine *et al.*, 2008 ; Tulassay et Herszényi, 2010). Physiologiquement, 70 à 90 % du débit sanguin gastrique est destiné à la muqueuse. Dans la sous-muqueuse, le réseau vasculaire est formé d'un plexus artériel et veineux dépourvu de *shunt* artéro-veineux. À l'intérieur de la muqueuse, les capillaires forment un plexus dense, organisé autour des glandes gastriques, qui émerge à la surface de l'épithélium. Le bicarbonate sécrété par les cellules pariétales, au fond des cryptes, diffusent vers les capillaires et migre à la surface de l'épithélium, pour créer un environnement acido-basique favorable. En cas d'ischémie ou de diminution du flux sanguin capillaire, toutes les conditions sont réunies pour réduire les capacités de la muqueuse à neutraliser l'acidité environnante. Ceci joue un rôle fondamental dans la genèse des ulcérations provoquées par le stress. Ainsi le flux sanguin est essentiel pour l'action de plusieurs mécanismes protecteurs. À l'instar, de la réparation, dont l'augmentation du débit sanguin permet la migration des cellules de muqueuse adjacente, qui vont recouvrir les parties détruites (Abdel-Salam *et al.*, 2001). En outre, l'exposition de la muqueuse gastrique à un irritant ou à une rétrodiffusion d'acide mène à une augmentation remarquable du flux sanguin de la muqueuse gastrique. Cette augmentation entraîne le déplacement et/ou la dilution d'acide ayant rétrodiffusé (Holzer, 2006 ; Laine *et al.*, 2008).

Les cellules endothéliales sont aussi capables de générer les médiateurs vasodilatateurs tels que le monoxyde d'azote (NO) et la prostacycline (PGI₂). Ceux-ci s'opposent aux dommages de la muqueuse causés par l'action des vasoconstricteurs tels que le thromboxane A₂, la leukotriène C₄ et l'endothéline. Par conséquent, ces médiateurs maintiennent la viabilité des cellules endothéliales en empêchant l'adhérence des plaquettes et des leucocytes aux cellules endothéliales. Ainsi, ils favorisent la microcirculation et protègent de ce fait la muqueuse gastrique contre les lésions (Laine *et al.*, 2008). En plus, de maintenir le flux

sanguin gastrique, le NO protège le tractus gastro-intestinal ; ceci par l'inhibition de la sécrétion d'acide gastrique, la stimulation de la sécrétion du mucus et du bicarbonate et par la promotion de angiogenèse (Ma et Wallace, 2000).

I.2.3 - MÉCANISME DE GUÉRISON

Pour une bonne compréhension du mécanisme de guérison des ulcères gastriques, il est nécessaire de connaître le mécanisme de guérison des blessures cutanées.

I.2.3.1 - Mécanisme de guérison des blessures cutanées

Une blessure est une rupture de continuité cellulaire, anatomique et fonctionnelle d'un tissu vivant. Elle peut résulter d'une agression physique, chimique, thermique, microbienne, ou immunologique du tissu. Lorsque la peau est déchirée, coupée, ou perforé, on parle de blessure ouverte. Lorsque la force du traumatisme cause une contusion ou un gonflement, on parle de la blessure fermée (Shuid *et al.*, 2005 ; Jalalpure *et al.*, 2008).

La guérison des blessures est un processus complexe qui comporte une cascade de plusieurs mécanismes cellulaires et biochimiques, conduisant à la restauration de l'intégrité structurale et fonctionnelle du tissu blessé. Les phases de ce processus sont : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération et la maturation (Martin, 1997).

a) Hémostase

L'hémostase est une série de réactions qui aboutit à l'arrêt du saignement suite à la rupture d'un vaisseau sanguin. Elle s'effectue en trois étapes successives :

- ***les spasmes vasculaires*** qui sont caractérisés par une vasoconstriction sous l'effet des médiateurs libérés par les cellules endothéliales et les plaquettes (sérotonine). En fonction de la gravité de la blessure, cette étape peut durer 20 à 30 minutes ;

- ***la formation du clou plaquettaire*** qui est un bouchon qui obture temporairement l'ouverture des vaisseaux sanguins et résultant de l'agrégation plaquettaire ;

- ***la coagulation ou formation du caillot*** qui est la transformation du sang en masse gélatineuse. Elle se déroule en 3 étapes comprenant : la formation de l'activateur de la thrombine, la conversion de la prothrombine en thrombine par l'activateur de la thrombine et transformation des molécules de fibrinogène en filaments de fibrine par la thrombine. Cette fibrine est responsable de l'emprisonnement des cellules sanguines pour former le caillot, qui colmate les vaisseaux sanguins (Marieb et Hoehn, 2007).

b) Inflammation

L'inflammation est caractérisée par la rougeur, la chaleur, l'œdème, la douleur et l'impotence fonctionnelle. Pendant cette phase, la production des médiateurs vasodilatateurs tels que les kinines et les prostaglandines entraînent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire. Il en résulte un œdème responsable de la douleur et du gonflement observés peu de temps après les dommages (Gorman, 1978). Les cellules phagocytaires migrent en nombre important vers le site de la blessure. Les polynucléaires neutrophiles sont les premiers leucocytes qui arrivent dans le site de la blessure (environ 6 h après les dommages). Leur nombre augmente de manière exponentielle pour atteindre un pic entre 24 et 48 h post-dommage (Ross et Benditt, 1961). Leur fonction principale est la phagocytose des bactéries présentes dans la blessure. En absence de contamination bactérienne, leur durée dans la blessure est relativement courte (Willoughby, 1970). Les macrophages représentent le deuxième type de leucocytes qui arrivent dans la blessure. Ils apparaissent entre 48 et 96 h après les dommages et atteignent un pic au troisième suivant les dommages. Ils ont une durée plus longue que celle des polynucléaires neutrophiles et persistent jusqu'à la guérison complète. Les macrophages, comme les polynucléaires neutrophiles, phagocytent les microorganismes pathogènes et les débris de tissus. En plus, les macrophages libèrent une pléthore de substances bioactives dont certaines stimulent recrutement des cellules inflammatoires supplémentaires, qui contribuent à la décontamination et l'élimination des tissus nécrotiques; et d'autres substances telles que les facteurs de croissance et les cytokines déclenchent la formation et la propagation du tissu de granulation (Ross et Benditt, 1961).

c) Prolifération

En absence d'infection ou de contamination importante, la phase inflammatoire est brève et l'élimination des éléments indésirables favorise la prolifération. La phase de prolifération est caractérisée par la formation du tissu de granulation à l'intérieur de la blessure. Ce tissu est composé des fibroblastes, des cellules inflammatoires, des nouveaux capillaires noyés dans une matrice extracellulaire lâche de collagène, de la fibronectine et d'acide hyaluronique.

Les fibroblastes apparaissent en premier et en nombre significatif à partir du troisième jour qui suit les dommages, pour atteindre un pic vers le septième jour (Ross et Benditt, 1961). Cette expansion rapide des fibroblastes à l'intérieur de la blessure se produit par l'intermédiaire de la prolifération et de la migration, qui sont induites par des cytokines produites par les plaquettes, les macrophages et lymphocytes (Clarke, 1988). Les fibroblastes sont responsables de la production de la plupart des protéines structurales utilisées lors de la

reconstruction des tissus en générale et du collagène en particulier. Ce collagène représente le constituant principal de la matrice extracellulaire de la blessure et confère la résistance de traction à la cicatrice (Diegelmann *et al.*, 1975). Le collagène est au début déposé de manière aléatoire et par la suite, ces différentes fibrilles se réorganisent en faisceaux alignés et orientés selon les lignes de traction de cicatrisation. Les fibroblastes sont également responsables de la production d'autres constituants de matrice tels que: la fibronectine, l'acide hyaluronique et les glycosaminoglycanes (Kurkinen *et al.*, 1980). Le processus de prolifération des fibroblastes et de leur activité synthétique est appelé fibroplasie.

La revascularisation de la blessure se déroule parallèlement avec la fibroplasie. Au deuxième jour après les dommages, les cellules endothéliales de la veinule la plus proche de la blessure commencent à migrer en réponse aux stimuli angiogéniques. Les bourgeons capillaires poussent à partir des vaisseaux sanguins adjacents à la blessure et s'étendent dans la blessure. Ces capillaires se ramifient à leurs bouts et se rejoignent pour former des boucles capillaires, par lesquels le sang commence à couler. Des nouvelles poussées s'étendent à partir de ces boucles pour former un plexus capillaire (Ausprunk et Folkman, 1977 ; Burger *et al.*, 1983). L'angiogenèse se produit par combinaison de la prolifération et de la migration. Les médiateurs responsables de la croissance et du chimiotactisme des cellules endothéliales comprennent des cytokines produites par des plaquettes, des macrophages et des lymphocytes (Harlan, 1987) ; la faible pression en oxygène (Remensnyder et Majno, 1969) ; l'acide lactique (Imre, 1964) et des amines biogènes (Zauberman *et al.*, 1969). De nombreux facteurs de croissance à savoir tels que: *basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)*, *acid FGF (aFGF)*, *Transforming Growth Factors- α et β (TGF- α et - β)* et *Epidermal Growth Factor (EGF)* représentent des médiateurs potentiels des cytokines qui sont à l'origine de la stimulation de la formation des nouveaux de vaisseaux (Roberts *et al.*, 1986 ; Schreiber *et al.*, 1986 ; Lynch *et al.*, 1989).

Pendant que ces événements se poursuivent en profondeur de la blessure, la restauration de l'intégrité épithéliale se déroule à la surface de la blessure. La ré-épithélialisation de la blessure commence deux heures après les dommages. Les cellules épithéliales commencent à migrer sous la croûte et l'épiderme adjacent à la blessure commence à s'épaissir en moins de 24 h après des dommages. Les cellules basales de la marge situées au bord de la blessure perdent leur attachement au derme sous-jacent, s'agrandissent et commencent à migrer à travers la surface de la matrice provisoire qui remplit la blessure. Les cellules basales proches du bord de la blessure subissent une série de divisions mitotiques rapides et migrent jusqu'à ce que le défaut soit couvert (Stenn et Depalma, 1988). Une fois que le défaut est comblé, les

cellules épithéliales ayant migré perdent leur aspect aplati, prennent la forme d'une colonne et augmentent leur activité mitotique. La superposition de l'épithélium est rétablie et la couche à la surface kératinise par la suite (Johnson et McMinn, 1991). La ré-épithélialisation peut être complète en moins de 48 h, dans le cas des blessures par incisions, ou peut prendre plus de temps dans le cas des blessures plus graves (Woodley *et al.*, 1991).

d) Maturation

Immédiatement après la formation de la matrice extracellulaire, sa réorganisation commence. Au départ, cette matrice est riche en fibronectine, qui forme un réseau temporaire de fibres. Cela sert non seulement comme substrat pour la migration et la croissance des cellules, mais également en tant que matrice pour le dépôt de collagène par les fibroblastes (McDonald *et al.*, 1987). Il existe également des quantités importantes d'acide hyaluronique et de proteoglycanes, qui contribuent à la consistance du gel de la matrice extracellulaire et facilite l'infiltration cellulaire. Le collagène devient le constituant prédominant de la matrice. Les fibres de collagène initialement répartis de façon aléatoire deviennent réticulées et agrégées en faisceaux, qui fournissent progressivement le tissu cicatriciel et augmentent la rigidité et la résistance à la traction. Après une période de latence de 5 jours correspondant au début de la formation du tissu de granulation et de la matrice, on observe une augmentation rapide de la résistance de la blessure due à la fibrogenèse du collagène (Levenson *et al.*, 1965). Ce gain progressif de la résistance à la traction est dû non seulement au dépôt continu de collagène, mais aussi au remodelage du collagène (Kirscher et Shetler, 1974). Le remodelage du collagène dépend à la fois de son anabolisme et de son catabolisme. La destruction du collagène est catalysée par les collagénases et son augmentation est déterminée par l'équilibre de ces mécanismes opposés. Le taux élevé de la synthèse de collagène dans la blessure revient aux niveaux normaux entre 6-12 mois (Barnes *et al.*, 1975).

I.2.3.2- Mécanisme de guérison des ulcères gastriques

La formation des ulcères gastriques chroniques impliquent les dommages tissulaires qui progressent vers les couches muqueuses et sous-muqueuses de l'estomac. Dans les cas extrêmes, les hémorragies peuvent se produire en raison de la destruction de la micro-vascularisation gastrique. La perforation de la paroi gastrique peut se produire dans des cas très graves. Après la rupture du tissu, les priorités majeures de tout organisme sont : l'arrêt des hémorragies, la prévention de l'infection, et la restauration de l'intégrité et de la fonction du tissu. La guérison des ulcères est un processus complexe qui comporte une cascade de

plusieurs mécanismes cellulaires et biochimiques, à l'origine de la réparation du tissu lésé (Schmassmann, 1998). Elle se déroule en plusieurs phases :

a) Phase de développement des ulcères

La phase de développement des ulcères a lieu pendant les dommages de la muqueuse et dure 3 jours. Elle est caractérisée par la nécrose tissulaire, l'infiltration inflammatoire et le développement du tissu de granulation vasculaire.

- **La nécrose tissulaire de la muqueuse** est à l'origine des ulcères gastriques. Elle est provoquée principalement par l'ischémie, à l'origine de l'arrêt de la distribution des nutriments et de la formation des espèces oxygénées réactives. La nécrose tissulaire entraîne la libération des métabolites de l'acide arachidonique y compris les leucotriènes B (Cotran *et al.*, 1999 ; Tarnawski, 2005).

- **L'infiltration inflammatoire** est provoquée par les métabolites de l'acide arachidoniques qui attirent les leucocytes (polynucléaires neutrophiles et les macrophages), causent la vasodilatation et augmentent la perméabilité vasculaire. Ces leucocytes phagocytent le tissu nécrosé et libèrent les cytokines pro-inflammatoires (Cotran *et al.*, 1999 ; Tarnawski, 2005).

- **Le développement du tissu de granulation vasculaire** est influencé par les cytokines et les facteurs de croissance [*Epidermal Growth Factor (EGF)*, *Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)*, *Transforming Growth Factor- β (TGF- β)*] qui activent les fibroblastes locaux, les cellules endothéliales et les cellules épithéliales. Cette activation est nécessaire à la formation et propagation du tissu de granulation vasculaire. Ce tissu est constitué des capillaires, des macrophages et des cellules de soutien, qui remplacent la zone endommagée (Cotran *et al.*, 1999 ; Tarnawski, 2005).

b) Phase de guérison

La phase de guérison a lieu 3 à 10 jours après les dommages et comprenant le début de la guérison, et fin de la guérison.

- **le début de la guérison** comprend la migration rapide des cellules épithéliales et la contraction du site de l'ulcère. La guérison des ulcères commence par la formation d'une zone de guérison, qui s'effectue par la dilatation des glandes et la différenciation de leurs cellules. Ces cellules expriment *Epidermal Growth Factor Receptor (EGF-R)* et débutent activement la prolifération. À ce stade, l'infiltration inflammatoire se produit au niveau du tissu nécrosé et le cratère de l'ulcère (Schmassmann, 1998).

- **La fin de la guérison** est caractérisée par l'angiogenèse dans le site de l'ulcère, la transformation du tissu de granulation et la ré-épithélialisation complet du cratère de l'ulcère. Pendant la guérison, le tissu de granulation subit un remodelage continu, par contraction et changements de sa composition cellulaire. Ainsi, les cellules inflammatoires formées au début la phase de la guérison sont remplacées par des fibroblastes et des micro-vaisseaux à la fin de la phase de guérison (Cotran *et al.*, 1999). Ces fibroblastes et ces myoblastes se multiplient et la zone lésée est comblée par un réseau de capillaires, des fibroblastes en croissance et de quelques macrophages. Pendant que la croissance des fibroblastes et la synthèse du collagène se poursuivent, une grande partie des capillaires néoformés régressent pour ne laisser qu'une trame vasculaire discrète. Celle-ci relie la zone lésée et les tissus sains voisins et véhicule les produits de nutrition des fibroblastes. Les parois des vaisseaux persistant acquièrent les cellules musculaires lisses et deviennent des artérioles et des veinules fonctionnelles (Stevens et Lowe, 1997).

c) Phase de reconstruction

La phase de reconstruction a lieu 20 à 40 jours après l'ulcération et permet la reconstruction des glandes de la *muscularis mucosae* (Schmassmann, 1998). Pendant cette phase, les espaces entre les vaisseaux se remplissent des fibroblastes qui synthétisent le collagène. Ces fibroblastes s'agencent de façon régulière, amenant une orientation du collagène dans le sens de l'attraction physique exercée. Cette disposition procure une plus grande résistance au tissu. Des phénomènes de contraction apparaissent dans les zones lésées grâce à la présence des myoblastes. Ceux-ci contribuent à diminuer la surface de la zone lésée (Stevens et Lowe, 1997).

d) Phase de maturation

La phase de maturation (40-150 jours après l'ulcération) est caractérisée par une maturation et une différenciation des cellules spécialisées (Schmassmann, 1998). La production d'un collagène dense par les fibroblastes est à l'origine d'une cicatrice collagène. Lorsque les fibroblastes ont synthétisé suffisamment de collagènes, ils deviennent inactifs, possèdent alors un noyau fusiforme entouré d'un cytoplasme peu abondant et sont appelés fibrocytes (Stevens et Lowe, 1997)

I.2.4 - TRAITEMENT

Le traitement repose sur la trithérapie qui associe un antibiotique, un anti-sécrétoire et un antiacide; on signale aussi l'usage des antiulcéreux topiques.

a) *Les antibiotiques*

Si l'infection par *H. pylori* est la cause de l'ulcère, comme c'est le cas pour la plupart des sujets, une combinaison de deux antibiotiques est souvent utilisée. Ces antibiotiques sont souvent combinés à un antiacide. Ces antibiotiques sont les suivants :

- *les β -lactamines* sont les plus efficaces *in vivo*. *H. pylori* est très sensible à l'amoxicilline à la dose de 2 g/jour en deux prises. Aucune résistance à cet antibiotique n'a été décrite jusqu'à ce jour ;

- *les imidazolés* (méttronidazole, tinidazole) à la dose d'1 g/jour en deux prises ont une activité indépendante de *H. pylori*. gastrique, mais une résistance primaire de 10 à 90 % selon le pays considéré ;

- *les macrolides* (clarithromycine et la roxythromycine), qui favorisent une bonne diffusion tissulaire et qui ont une faible résistance (inférieure à 8 %). La posologie recommandée est de 1 g/jour en 2 prises (Hitner et Ngale, 1999).

b) *Les anti-sécrétoires*

Les anti-sécrétoires sont constitués par les antagonistes des récepteurs H₂ de l'histamine, les inhibiteurs de la pompe à protons, les anti-cholinergiques et les analogues des prostaglandines.

- *Les antagonistes des récepteurs H₂ ou antihistaminiques H₂* (cimétidine, ranitidine, famotidine) réduisent la quantité d'acide sécrétée par l'estomac afin de protéger la partie atteinte et lui donner le temps de cicatriser. Le médicament se lie aux récepteurs à histamine de façon à empêcher leur activation. Dans le cas des ulcères peptidiques non infectieux, les antagonistes des récepteurs H₂ représentent la meilleure option actuelle (Valtier et Vallot, 1998).

- *Les inhibiteurs de la pompe à protons* (oméprazole, lansoprazole) agissent directement sur la pompe à protons H⁺/K⁺ en bloquant l'ATPase de la cellule pariétale gastrique. Ils inhibent l'ultime étape de la sécrétion des ions H⁺, en agissant directement au niveau du système enzymatique intracellulaire qui excrète les protons H⁺ en les échangeant contre les ions K⁺. L'acidité de l'estomac va diminuer et cette diminution permettra la cicatrisation de l'ulcère (Valtier et Vallot, 1998).

- *Les anti-cholinergiques* (pirenzepine, verapamil) présentent une activité anti-muscarinique *via* leur fixation aux récepteurs de l'acétylcholine et empêchent de ce fait l'action de l'acétylcholine (Vatier et Vallot, 1998).

- *Les analogues des prostaglandines* (misoprostol, enprostil) ont des effets anti-sécrétoires et cytoprotecteurs *via* l'inhibition de la sécrétion des ions H⁺, la stimulation de la production du mucus et la sécrétions du bicarbonate (Vatier et Vallot, 1998).

c) Les antiacides

Les antiacides (Maalox, Mylanta, hydroxyde d'aluminium) ne diminuent pas la sécrétion d'acide, mais neutralisent l'acide présent dans l'estomac, ce qui soulage la douleur. Ils prennent plus de temps pour agir par rapport aux anti-sécrétoires (Vatier et Vallot, 1998).

d) Les antiulcéreux topiques

Les antiulcéreux topiques (sucralfate) ne sont pas des antiacides et des anti-sécrétoires. Ils agissent en formant une barrière protectrice au niveau de la muqueuse gastrique endommagée. Ils se lient aux protéines telles que l'albumine et le fibrinogène produites par les cellules de la muqueuse endommagée présentes dans le cratère de l'ulcère. Une couche se forme et permet de prévenir des dommages futurs en bloquant tout contact de l'acide gastrique et de la pepsine, ce qui favorise la guérison. En plus le sucralfate inhibe l'activité de la pepsine et peut absorber les sels biliaires qui causent l'irritation de la paroi gastrique (Hitner et Ngale, 1999).

I.3 - STRESS OXYDANT

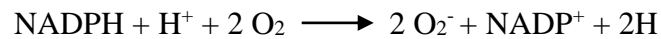
Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des prooxydants, ce qui conduit aux dégâts cellulaires irréversibles (Pincemail, 2005).

I.3.1 - OXYDANTS

Les oxydants sont des substances chimiques capables d'arracher un électron à un atome d'hydrogène ou à une autre molécule. Quand cette molécule perd un électron, elle devient oxydée. Ce processus est appelé oxydation. Les exemples d'oxydants incluent les radicaux libres, les espèces oxygénées actives (EOA) et les espèces azotées activées. Les radicaux libres peuvent être définis comme entités chimiques capables d'exister indépendamment et qui comportent un électron non apparié (Halliwell, 1999).

- de moduler l'expression des gènes de structure codant pour les enzymes antioxydants.

La phagocytose des germes bactériens s'accompagne d'une production massive d'anions superoxydes par le métabolisme leucocytaire appelé «flambée respiratoire». Une NADPH oxydase activée par la protéine kinase C et l'acide arachidonique libéré par la phospholipase A₂ (PLA₂), intervient et permet la synthèse d'O₂⁻, au prix d'une forte consommation d'oxygène suivant la réaction ci-après.



Un leucocyte activé contient donc de fortes proportions d'O₂⁻, d'OH⁻, d'O singulet et de chloramines doués de propriétés bactéricides. Lors de la synthèse des prostaglandines, la phospholipase A₂ catalyse la libération de l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires. Deux enzymes à savoir la lipooxygénase et la cyclooxygénase liées aux membranes plasmiques et microsomale, transforment l'acide arachidonique en dérivés tels que les thromboxanes, les prostaglandines et les leucotriènes. Après action de la lipooxygénase, la transformation de l'acide hydroxydeperoxyécosatétranoïque (hydroperoxyde) en acide hydroxyécosatétranoïque, s'accompagne de la libération du radical OH⁻.

I.3.1.1.2 - Sources exogènes de radicaux libres

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements ultraviolets induisent la synthèse des radicaux libres (O₂⁻, OH⁻, O) et de molécules génératrices de radicaux libres (H₂O₂) par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisateurs. Les radicaux ionisants génèrent également des radicaux libres oxygénés (Favier, 2003).

L'ingestion excessive d'alcool est suivie de la formation des radicaux libres selon divers mécanismes. La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde avec production des ions superoxydes. D'autres agents externes pouvant générer des radicaux libres sont: le tabagisme, les métaux de transition, les contacts avec les agents carcinogènes, les antiseptiques, la prise de médicaments, les pilules contraceptives, les pesticides, les solvants, la pratique intense ou mal gérée d'un sport, le stress intellectuel, le stress thermique, la pollution, les agents infectieux (Favier, 2003).

I.3.1.2 - Conséquences biologique du stress oxydant et quelques maladies liées

I.3.1.2.1 - Conséquences biologiques du stress oxydant

- *les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés* (phospholipides membranaires et lipoprotéines circulantes) sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyde, qui est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué oxydé en radical peroxy. Cette réaction appelée peroxydation lipidique, forme une réaction en chaîne, car le radical peroxy formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide qui forme un nouveau radical diène conjugué (Favier, 2003) ;

- *l'acide désoxyribonucléique (ADN)*, bien qu'étant la mémoire de toute composition biochimique des êtres vivants, est une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Cinq classes de dommages oxydatifs médiés par OH^\cdot peuvent être générées. Parmi elles on peut citer: les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra caténaux, des cassures de brins et des pontages d'ADN-protéine. Les bases qui composent l'ADN et particulièrement la guanine sont très sensibles à l'oxydation. Les lésions non réparées qui en résultent vont perturber les mécanismes de répliquations de l'ADN, par des erreurs de lecture de l'ADN polymérase aboutissant à la mutation par transgression Guanine-Cytosine vers Thymine-Adénine souvent observées dans les cellules cancéreuses (Favier, 2003) ;

- *les espèces oxygénées actives (EOA)* attaquent les macropolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage. Par ailleurs, elles peuvent oxyder dans les conditions physiologiques, en présence des traces métalliques en libérant les cétoaldéhydes, H_2O_2 et OH^\cdot qui entraîneront la coupure des protéines ou leur glycation par attachement des cétoaldéhydes. Ce phénomène de glycoxylation est très courant chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leur paroi vasculaire et de leur rétine (Favier, 2003) ;

- *les protéines* les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent le groupement sulfhydryl ($-\text{SH}$). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et des protéines de transport oxydées et inactivées (Favier, 2003).

Les conséquences biologiques du stress oxydatif seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression des protéines d'adhésion ; des stress moyens faciliteront l'apoptose, la nécrose. Des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant les lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies sont induites par le stress oxydatif: mutation, carcinogénèse,

malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation des auto-anticorps, dépôt des lipides oxydés, immunosuppression (Favier, 2003).

I.3.1.2.2 - Quelques maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses maladies comme facteurs déclenchant ou associant les complications de l'évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale (Favier, 2003).

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré... Ainsi, les rapports entre stress oxydants et cancer s'avèrent très étroits, créant des lésions d'ADN, amplifiant les signaux de proliférations et inhibant des gènes suppresseurs des tumeurs (Favier, 2003).

Le stress oxydant est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les ulcères gastriques et les maladies cardiovasculaires. Dans la genèse des plaques d'athérome, l'oxydation des *Low Density Lipoproteines* (LDL) est un des phénomènes clés transformant les monocytes en cellules spumeuses. Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des autres facteurs athérogènes : augmentation des résistances à l'insuline, activation des cellules endothéliales, libération des facteurs prooxydants (prostacyclines, cytokines, facteurs de fibrinolyse, superoxyde, NO) (Favier, 2003).

I.3.2 - ANTIOXYDANTS

I.3.2.1 - Définition

Un antioxydant est toute substance capable de piéger les radicaux libres en captant l'électron célibataire, les transformant en ions ou en molécules stables. Ce terme est réservé à des composés dont la teneur dans le tissu diminue lors d'un stress oxydant *in vivo* et qui ne donnent pas des composés toxiques (Favier, 2003). Un antioxydant peut encore être défini comme étant une substance qui, présente à faibles concentrations par rapport à un substrat, peut significativement retarder ou inhiber l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990).

I.3.2.2 - Les différents antioxydants

Pour protéger les cellules contre le stress oxydant en contrôlant le taux des espèces oxygénées réactives (radicaux libres), l'organisme possède quelques enzymes qui piègent les radicaux libres (superoxyde dismutase (SOD), catalase, peroxydase, thiorédoxine réductase,...) et le réseau des molécules antioxydantes de faible poids moléculaire (vitamine C, le glutathion, les composés phénoliques, la vitamine E, les caroténoïdes, l'ubiquinone,...). Certaines enzymes antioxydantes telles que la SOD, la glutathion réductase et la catalase nécessitent des ions métalliques comme cofacteurs. En fonction de leurs activités, on distingue les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires (Favier, 2003).

I.3.2.2.1 - Les antioxydants primaires

Les antioxydants principaux ou radicalaires encore appelés antioxydants vrais sont capables d'interrompre la chaîne d'auto catalytique en bloquant les radicaux libres par transfert d'un radical hydrogène. Ce sont les enzymes et les substances qui empêchent l'initiation ou la propagation des réactions radicalaires. Dans ce groupe, nous avons :

a) les enzymes

- **la superoxyde dismutase (SOD)** : c'est une enzyme présente chez tous les êtres aérobies et dans tous les compartiments cellulaires qui peuvent être victimes d'un stress oxydant. La SOD assure l'élimination de l'anion superoxyde, première espèce toxique formée à partir de l'oxygène. Elle assure ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydant. En effet les SOD sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation formant avec deux SOD une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. Pour agir elle nécessite la présence des ions métalliques: Zn, Mn, Cu et Fe (Favier, 2003 ; Pincemail, 2005) ;

- **la catalase** : elle exécute la deuxième étape de la détoxification des espèces réactives oxygénées. Elle élimine l'excès de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) participant ainsi à la régulation de la concentration cellulaire en peroxyde d'hydrogène. Les catalases à cofacteur de fer, présentes dans les membranes des hématies et des peroxysomes hépatiques sont parmi les principales enzymes capables de détruire le H_2O_2 en le transformant en simples molécules d'eau (H_2O) (Favier, 2003) ;

- **les glutathions peroxydases (GPx)** : ce sont les enzymes à sélénium, qui ont besoin du glutathion réduit (GSH) pour fonctionner. Ces enzymes constituent sans doute le principal système de protection car elles détruisent non seulement le système le peroxyde d'hydrogène

mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par l'oxydation des acides gras polyinsaturés ou du cholestérol ainsi que l'oxyde nitrique (NO) (Favier, 2003) ;

- **la thiorédoxine réductase (TRxR)** : elle réduit les thiorédoxines oxydés et présente une activité antioxydante comme toutes les protéines ayant un groupement thiol (SH). Elle intervient également dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Pincemail, 2005) ;

- **l'hème oxygénase** : c'est un système constitué de trois isoenzymes. L'effet protecteur de cette enzyme est indirect. Car il permet la formation de la biliverdine qui se transforme en bilirubine qui possède une activité antioxydante. Par ailleurs, le fer produit par l'activité de l'hème oxygénase stimule la synthèse de la ferretine qui est aussi impliquée dans la réponse antioxydante. Toutefois, l'activité de cette enzyme peut avoir des effets néfastes puisque ce même fer agira comme agent prooxydant via son action catalytique de la production des espèces oxygénées actives (Pincemail, 2005).

b) les molécules oxydantes

- **les protéines de stress thermique** : ces protéines permettent aux cellules de résister à un environnement hostile en prolongeant leur viabilité jusqu'à l'apparition des conditions les plus favorables. L'augmentation de la synthèse de ces protéines doit être considérée comme une réponse d'adaptation au stress oxydant induit par différentes conditions: régulation thermique (hypothermie et hyperthermie), acidose, déplétion énergétique, phénomènes ischémie-reperfusion, infection virale, exercice physique (Kregel, 2002 et cité par Favier, 2003) ;

- **les caroténoïdes** : la plupart des caroténoïdes et la vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques donc les acides gras polyinsaturés (Gey *et al.*, 1987). Le β -caroténoïde agit en synergie avec la vitamine E pour piéger les radicaux libres et inhiber la peroxydation lipidique (Halliwell, 1994) ;

- **les polyphénols** : ils agissent comme antioxydant par deux mécanismes impliquant l'activité antiradicalaire et la chélation des métaux. La plupart des antioxydants vrais sont de nature phénolique. Ils ont une structure chimique idéale pour cette activité antiradicalaire. Leur efficacité s'explique par la délocalisation de l'électron célibataire de l'oxygène avec le noyau aromatique. Ils ont un large spectre d'effets biologiques. En effet, ils inhibent le LDL in vitro avec pour conséquence la prévention de l'athérosclérose (Urquiaga et Leighton,

2000). Ils protègent également l'ADN des dommages oxydatifs, prévenant certaines formes de cancers liés à l'âge (Chung *et al.*, 1998) ;

- **la vitamine C** : elle est excellent piègeur des espèces oxygénées actives et protège ainsi divers substrats biologiques (protéines acides gras, ADN) de l'oxydation. Face à un stress oxydant, la vitamine C sera consommée. Plusieurs études ont par ailleurs montré que les valeurs de vitamine C inférieure à 4 mg/mL de plasma sont associées à un risque accru de maladies liées au stress oxydant telles que les maladies cardiovasculaires (Gey *et al.*, 1987) ;

- **la vitamine E** : sous ce terme est regroupé la famille des tocophérols (α , β , γ et δ) son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induit par un stress oxydant (El-Sohemy *et al.*, 2002) ;

- **le glutathion** : il est un tripeptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant. Le glutathion réduit peut interagir directement avec les espèces oxygénées actives. Mais il est principalement utilisé comme substrat de la glutathion peroxydase qui assure l'élimination des lipides peroxydés (Jones *et al.*, 2002) ;

- **les protéines thiols** : la plupart des protéines possèdent des groupements thiols (-SH) qui réagissent très facilement avec les espèces oxygénées activées. Vu sa grande quantité, l'albumine qui possède des groupements thiols peut être considérée comme l'un des antioxydants majeurs du plasma (Pincemail, 2005) ;

- **l'acide urique** : il constitue le produit terminal majeur du métabolisme des purines chez les primates. Il peut interagir avec les espèces oxygénées activées et particulièrement avec le radical hydroxyle (Pincemail, 2005) ;

- **le Coenzyme Q10 (CoQ10)** : l'ubiquinone ou le CoQ10 est bien connu pour son rôle vital dans la production d'énergie au niveau de la mitochondrie. Le CoQ10 sous sa forme réduite Ubiquinol-10 ou CoQ10H₂ possèdent des propriétés antioxydantes similaires à celles de la vitamine E (Alleva *et al.*, 1997). L'étude du rapport CoQ10H₂/CoQ10 est nécessaire afin d'évaluer correctement l'importance du CoQ10 dans la protection contre l'agression par les espèces oxygénées activées (Lagendijk *et al.*, 1996).

c) les oligo-éléments

- **le sélénium** : il n'est pas en tant que tel un antioxydant, mais il participe au processus de défense contre les espèces oxygénées comme cofacteurs de la glutathion peroxydase. Plusieurs études ont montré qu'une baisse de la concentration en sélénium (< 45 μ g/L) est

associée avec l'apparition des maladies liées au stress oxydant telles que les pathologies coronariennes (Cenac *et al.*, 1996) ;

- **le cuivre** : il est un des cofacteurs essentiels à la SOD. Toute fois, au même titre que le fer, il joue, en tant que métal dit de transition, un rôle important dans le déclenchement des réactions conduisant à la formation d'espèce oxygénées activées à concentration trop élevée (> 1,40 mg/L de plasma) (Del Corso *et al.*, 2000) ;

- **le zinc** : il est un cofacteur essentiel de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction des protéines antioxydantes. Il protège également les groupements thiols des protéines. Il peut inhiber partiellement les réactions de formations d'espèces oxygénées activées induites par le fer et le cuivre (Mezzetti *et al.*, 1998).

I.3.2.2.1 - Les antioxydants secondaires

Les antioxydants secondaires représentent un système de défense secondaire composé d'enzymes protéolytiques dont le rôle consiste à empêcher l'accumulation dans les cellules de protéines ou d'ADN oxydés et à dégrader leurs fragments toxiques (Pincemail, 2005).

I.3.3 - LES MARQUEURS DE L'OXYDATION

Les espèces oxygénées réagissent avec toute une série de substrats biologiques comme les protéines, les lipides ou l'acide désoxyribonucléique (ADN). Les dérivés d'oxydation de ces différents substrats seront donc des marqueurs de la présence d'un stress oxydant (Favier, 2003) :

- les peroxydes lipidiques résultent de l'action des espèces oxygénées activées sur les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires. Les peroxydes lipidiques se décomposent en sous-produits comme le malonaldéhyde (MDA), le 4-hydroxynonanal, l'éthane ou le pentane. Les lipoprotéines de densité légère oxydées proviennent de l'oxydation des lipides circulants ;

- les protéines oxydées ;

- La 8-hydroxy-2'déoxyguanosine provient de l'oxydation de la guanine.

I.4 - PLANTES MÉDICINALES

I.4.1 - GÉNÉRALITÉS

Une plante est considérée comme médicinale lorsqu'au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elle peut être retenue par la pharmacopée mais, celle-ci peut

aussi retenir des plantes qui, bien que non médicinales, sont utiles à la pharmacie. Une plante non inscrite à la pharmacopée peut aussi constituer un médicament. Il suffit qu'elle soit présentée comme possédant des propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies (Brunéton, 1993).

Dans toutes les civilisations, les plantes médicinales ont constitué un support de la médecine traditionnelle. Au niveau du continent africain, la diversité de la flore explique en partie l'utilisation des plantes dans le traitement ou la prise en charge des maladies, ceci dans des systèmes indigènes organisés. En plus de constituer les principaux ingrédients des remèdes dispensés par les tradipraticiens, les plantes médicinales sont aussi considérées comme sources d'énergie à travers l'approvisionnement en nutriments contribuant significativement au bien être des individus (Iwu, 1993).

Pour pouvoir améliorer et maintenir la santé des populations dans le monde, il est important d'utiliser complètement les ressources disponibles humaines et matérielles à cet effet; ceci est fondamental pour l'approche primaire du maintien de la santé. L'utilisation des plantes médicinales présentes dans les communautés constitue dans plusieurs cas la ressource la plus abondant pour la santé (Akerle, 1987).

I.4.2 - TYPES DE PRÉPARATIONS COURANTES DE PLANTES

Selon Reinaldo en 2003, on distingue plusieurs types de préparations :

- ***l'infusion*** : elle consiste à verser de l'eau bouillante dans une quantité indiquée de plante entière ou d'une partie de celle-ci et à laisser infuser hors du feu pendant dix à quinze minutes ;

- ***la décoction*** : elle consiste à faire à introduire la plante dans de l'eau froide, à porter le mélange obtenu à ébullition et à filtrer après refroidissement ;

- ***la macération*** : elle consiste à introduire la plante dans un liquide froid et à laisser tremper pendant une période variant de quelques heures à quelques semaines pour en obtenir le principe actif ;

- ***l'inhalation*** : elle consiste à faire bouillir la plante dans l'eau, comme si on préparait une tisane, et à aspirer par le nez ou la bouche la vapeur qui se dégage ;

- ***le cataplasme ou l'emplâtre*** : il consiste à délayer dans un liquide des poudres ou des farines jusqu'à obtenir une pâte de consistance molle. Cette pâte est étalée sur un linge et appliquée sur la partie du corps à traiter ;

- ***la concoction*** : c'est une préparation faite d'un mélange de plusieurs ingrédients ;

- **les poudres** : on obtient les poudres à partir des plantes desséchées à l'ombre puis triturer dans un mortier. On utilise les poudres en usage externe sous forme de cataplasmes ou pommade, par voie orale en tisane, ou bien encore on les avale directement.

I.4.3 - CLASSES DE COMPOSÉS BIOACTIFS

I.4.3.1 - Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent un groupe d'environ 4000 composés naturels possédants de nombreux effets biologiques parmi lesquelles l'activité antiulcérogénique. Ils sont les constituants importants de l'alimentation des hommes (environ 1 g de flavonoïdes par jour) et sont également trouvés dans les plantes médicinales utilisées en ethnomédecine dans le monde entier (Di Carlo *et al.*, 1999). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets gastro-protecteurs des flavonoïdes, il s'agit notamment de l'augmentation de la production des prostaglandines dans la muqueuse gastrique (Alcaraz et Hoult, 1985), une diminution de la sécrétion d'histamine par les mastocytes par l'inhibition de l'histidine décarboxylase (Bronner et Landry, 1985) et l'inhibition de la croissance de *Helicobacter pylori* (Beil *et al.*, 1995). En outre, les flavonoïdes sont les piègeurs de radicaux libres (Salvayre *et al.*, 1982) ; les radicaux libres jouent un rôle important dans la formation des ulcères gastro-intestinaux. En raison de leur faible toxicité et de leurs propriétés rapportées, les flavonoïdes pourraient avoir un potentiel thérapeutique idéal pour le traitement des maladies gastro-intestinales associés à une infection à *Helicobacter pylori* (Di Carlo *et al.*, 1999).

Les flavonoïdes possédants une activité anti-ulcérogénique sont: les naringins, quercétines, silymarins, anthocyanosides et dérivés sophoradins. En outre, plusieurs extraits contenant des flavonoïdes se sont révélés exercer une activité gastro-protectrice (Di Carlo *et al.*, 1999), bien que la composition chimique précise dans de nombreux cas est inconnue.

- **La quercétine** est le flavonoïde le plus abondant et il se trouve dans de nombreux végétaux. Il inhibe la formation des lésions gastriques induites par le stress à l'eau froide et la ligature du pylore (Martin *et al.*, 1993), la réserpine (Manicheva et Barnaulov, 1984) et l'éthanol absolu ou de HCl/éthanol (Di Carlo *et al.*, 1994 ; Izzo *et al.*, 1994). Le mécanisme de protection implique la stimulation de la production des prostaglandines endogènes (Moroney *et al.*, 1988), l'inhibition de la pompe à protons gastrique (Di Carlo *et al.*, 1999), l'inhibition de la voie de la lipoxigénase (Moroney *et al.*, 1988), l'inhibition de la synthèse des facteurs d'activation plaquettaires (Izzo *et al.*, 1994), l'inhibition de la peroxydation lipidique (Alarcon

de la Lastra *et al.*, 1994) et l'élimination des radicaux libres (Martin *et al.*, 1998). La quercétine inhibe aussi la croissance de *Helicobacter pylori* *in vitro* (Beil *et al.*, 1995).

- **La naringine** : de nombreux travaux ont montré que la naringine protège la muqueuse gastrique des animaux contre les ulcérations induites par le stress à l'eau froide, la ligature du pylore et de l'éthanol absolu (Martin *et al.*, 1993 ; Motilva *et al.*, 1993). L'action gastro-protectrice de la naringine implique l'augmentation de la teneur en glycoprotéine et de la viscosité de la muqueuse gastrique ainsi que par ses propriétés antioxydantes (Robak *et al.*, 1988 ; Martin *et al.*, 1994).

- **La silymarine** est un complexe de flavonoïde qui prévient significativement les ulcérations induites par le stress à l'eau froide et par l'histamine. Les effets antiulcérogéniques de la silymarine pourraient être liés à son mécanisme d'inhibition de la voie de la lipoxigénase: ce qui évite la synthèse des leucotriènes (Alarcon de la Lastra *et al.*, 1992).

- **Les anthocyanosides** des extraits de *Vaccinium myrtillus* exercent des activités antiulcérogéniques préventive (ulcères induits par la ligature du pylore, la réserpine et la phénylbutazone) et curative significatives. Les anthocyanosides agissent par augmentation de la production du mucus (Cristoni et Magistretti, 1987; Magistretti *et al.*, 1988).

- **Les dérivés des sophoradins** : les sophoradins ont été isolés à partir de la racine de *Sophora subprostrata*, une plante utilisée en Chine pour le traitement des affections du tractus gastro-intestinale (Kyogoku *et al.*, 1979). Les sophoradins possèdent les effets curatifs sur les ulcères gastriques chroniques (Konturek *et al.*, 1986). Brzozowski *et al.* en 1998, ont montré que SU- 840, un dérivé synthétique des sophoradins réduit les sécrétions d'acide gastrique et de pepsine, ainsi que les lésions gastriques induites par l'éthanol, l'aspirine et le stress. Ces effets ont été attribués à l'augmentation de la production monoxyde d'azote et des prostaglandines.

I.4.5.2 -Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un groupe de divers produits naturels qui ont un impact majeur dans l'histoire de la santé. Ils ont un faible poids moléculaire, contiennent l'azote et dérivent la plupart du temps des acides aminés. Ces métabolites secondaires se trouvent dans 20 % des espèces de plantes. Ils possèdent plusieurs activités biologiques comprenant les activités émétique, anticholinergique, antitumorale, diurétique, sympathomimétique, antivirale, antihypertensive, hypnoanalgésique, antidépressive, myorelaxante, antimicrobienne et anti-inflammatoire (Henriques *et al.*, 2004). La morphine est le premier alcaloïde identifié dans les plantes. La morphine est utilisée pour le traitement des douleurs aiguës et chroniques.

La morphine et l'éphédrine inhibent les ulcères gastriques induits par la réserpine (Al-Shabanah *et al.*, 1993). Les alcaloïdes de type Tabersonine issu de *Voacanga africana* et du type protoberberine (7,8,-dihydro-8-hydroxypalmatine) issu de *Enantia chlorantha* possèdent des propriétés préventives et curatives contre les ulcères gastriques (Tan et Nyasse, 2000 ; Tan *et al.*, 2000 a). Ces propriétés sont attribuées à leur capacité à stimuler la production du mucus. D'autres alcaloïdes de type coptisine et 8-oxorocoptisine isolés de *Coptidis rhizome* ont montré des effets gastroprotecteurs similaires à ceux de la cimétidine et le sucralfate (Hirano *et al.*, 2000 ; 2001). Les anisodamines et anisodines sont des analogues de l'atropine qui protègent la muqueuse des dommages induits par l'indométacine, la réserpine, le stress, la ligature du pylore, l'acide acétique et l'éthanol absolu (Yong *et al.*, 1991 ; Wan, 1993). Ils inhibent la formation des ulcères gastriques par : la réduction de la sécrétion gastrique d'acide et la stimulation de la sécrétion du bicarbonate. La cocaïne isolée de *Erythroxylum cocaprévient* la formation des ulcères induits par la réserpine (Sandor et Cuparencu, 1977). La nicotine isolée de *Nicotina tabacum* protège la muqueuse des dommages induits par l'aspirine par la réduction des hémorragies et l'augmentation le gradient de pH/volume du suc gastrique (Fallone et Morris, 1995). Les alcaloïdes de type matrine (13- α 'hydroxymatrine et oxy-matrine) isolés de *Sophora flavescens* inhibent les ulcères induits par la ligature du pylore, le stress et l'indométacine. Ces inhibitions ont été attribuées à la baisse de la sécrétion d'acide et l'inhibition de la motilité gastrique (Zhu *et al.*, 1993 ; Yamazaki, 2000). La piperine est un alcaloïde qui protège la muqueuse gastrique des dommages provoqués par le stress, indométacine, l'éthanol et la ligature du pylore. Ces effets sont dus aux baisses du suc gastrique, d'acidité gastrique et de l'activité de la pepsine (Bai et Xu, 2000). La capsaïcine a des effets préventifs et curatifs sur les ulcères gastriques induits par les agents irritants. Il inhibe la sécrétion d'acide, stimule la sécrétion alcaline/mucus et augmente le flux sanguin (Park *et al.*, 2000). Les alcaloïdes stéroïdiens isolés de *Pachysandra trainalis* préviennent les lésions gastriques induites par le stress (Watanabe *et al.*, 1986). La mélatonine protège la muqueuse gastrique contre les dommages causés par l'ischémie-reperfusion et l'éthanol par l'augmentation du flux sanguin gastrique et la capture des radicaux libres (Konturek *et al.*, 1997). La yohimbine obtenue de *Pausinystalia yohimbe*, réduit activement les ulcérations gastriques (Ozaki, 1989). Les nigakinone et méthylningakinone réduisent les sécrétions acide/pepsine gastriques et augmentent la production du mucus (Niiho *et al.*, 1994). Les cantin-6-one 4-méthoxycantinone protègent contre les lésions induites par l'éthanol et l'indométacine (Noldin *et al.*, 2005). Les alcaloïdes de type pyrrolizidine extraient de *Senecio brasiliensis*, ont une activité significative sur les ulcères gastriques aiguës et chroniques. Ces

alcaloïdes augmentent la sécrétion du mucus et les prostaglandines dans la muqueuse gastrique (Toma *et al.*, 2004). Les alcaloïdes de type Tabersonine issus de *Voacanga africana* et du type protoberberine (7,8-dihydro-8-hydroxypalmatine) issus de *Enantia chlorantha* possèdent des activités anti-*Helicobacter pylori* (Tan *et al.*, 2006 b).

I.4.5.3 - Les tannins

Plusieurs plantes contenant les tannins (polyphénols) sont utilisées en ethnomédecine à différentes fins (anti-diarrhéique, antiseptique, antimicrobienne, antifongique, antipoison, anti-inflammatoires et antiulcéreuse) (Simões *et al.*, 2003). Les tannins sont utilisés en raison de leurs propriétés astringentes (capture), car réagissent au contact des protéines tissulaires. Les tannins tannent la couche la plus externe de la muqueuse pour la rendre imperméable (étanche) et plus résistante aux blessures ou aux irritations chimiques et mécaniques (Asuzu et Onu, 1990).

Quand une faible concentration de tannins est appliquée sur la muqueuse, seule la couche la plus externe est tannée, devenant de moins en moins perméable et offrant une protection accrue pour les couches sous-jacentes contre l'action des bactéries, des irritations chimiques et mécaniques. Des concentrations élevées de tannins provoquent la coagulation des protéines de la couche plus profonde de la muqueuse, ce qui entraîne des inflammations, des diarrhées et des vomissements. Plusieurs plantes ayant une activité antiulcéreuse et qui contiennent des tannins ont été rapportées par Borrelli et Izzo en 2000.

I.4.5.4 - Les triterpènes

Pendant les deux dernières décennies, la recherche sur les triterpènes s'est intensifiée en raison de leur potentiel pharmacologique. Les triterpènes possèdent des activités antivirale, antimicrobienne, hépatoprotectrice, anti-tumorale, anti-inflammatoire et gastroprotectrice. Le β -lupeol, est un triterpène isolé de *Pseudobombax ellipticum*, les triterpènes de type saponines isolés de *Camellia sinensis* et les triterpènes de type oléane possèdent des propriétés cytoprotectrices (stimulation de la production des prostaglandines, des sulfhydryles et monoxyde d'azote) (Morikawa *et al.*, 2006 ; Sun *et al.*, 2006). Un triterpène de type glycoside (9- β -méthyl-19-norlanosta-5-ène cucurbitane) extrait de *Cucumis sativus* possède des effets cytoprotecteur (augmentation de la production du mucus), anti-sécrétoire (inhibition de la sécrétion de HCl) et antioxydant (élimination des radicaux libres) (Gill et Bali, 2011).

I.4.5.5 - Les saponines

Les saponines sont très répandues chez les végétaux et constituent une forme particulière de glycosides. Elles sont appelées ainsi à cause de leur effet mousseux (*soap-like effect*), ce qui est dû à leurs propriétés tensioactives. Ils ont également des propriétés hémolytiques. Ils sont très toxiques lorsqu'ils sont administrés par voie veineuse ; mais relativement non toxique lorsqu'ils sont administrés par voie orale. La matière végétale contient souvent des saponines stéroïdiennes et triterpéniques (aglycone ou sapogénine) en quantités considérables. Il a été montré que plusieurs plantes contenant des saponines en quantité élevée possèdent une activité anti-ulcérogénique. Parmi celles-ci, on a les racines de réglisse (2 à 12 % d'acide glycyrrhizique), les graines de la marronnier (13 % de aescin), le rhizome de *Panax japonicus* et le fruit de *Kochia scoparia* (20 % oligoglycosides d'acide oléanolique) (Matsuda *et al.*, 1998). Les activités protectrices de ces saponines ne sont pas dues à l'inhibition de la sécrétion d'acide gastrique, mais probablement due à l'activation des facteurs de protection de la muqueuse (Saitoh *et al.*, 1977).

I.4.5.6 - Les quinones

L'acide cyperenoïque isolé de *Jatropha isabeli* présente des effets gastroprotecteurs pour différents modèles d'ulcères. Les dérivés de l'acide cyperenoïque sont constitués d'une partie terpène et une partie quinone. Ils stimulent la prolifération des fibroblastes et la synthèse des prostaglandine E₂ (Theoduloz *et al.*, 2012).

I.4.5.7 - Les stérols

Les phytostérols présents dans certains aliments ont des effets cytoprotecteurs, curatifs et anti-*Helicobacter pylori* (Tovey *et al.*, 2011). Les huiles essentielles de *Casearia sylvestris* ont des propriétés anti-sécrétoires, curatives et anti-inflammatoires (Esteves *et al.*, 2005). Les stérols en association avec des flavonoïdes présentent des effets cytoprotecteurs via la stimulation de la synthèse des prostaglandines (Kishore *et al.*, 2011).

I.4.5.8 - La résine

La résine naturelle prélevée du tronc de *Protium heptaphyllum* possède des propriétés cytoprotectrices, anti-sécrétoires, curatives et anti-inflammatoires. Elle est très peu toxique à faible dose (Oliveira *et al.*, 2004).

I.4.5.9 - Les protéines

Les isolats de protéines (lactosérum) inhibent la formation des ulcères gastriques induits par l'éthanol absolu chez les rats. Le mécanisme d'action gastroprotecteur implique l'augmentation de la sécrétion de la gastrine, des substances sulfhydriles, du mucus (Castro *et al.*, 2010) et la synthèse du glutathion (Rosaneli *et al.*, 2002).

I.4.5.10 - Les acides aminés

Ikeda *et al.* en 1997 ont démontré que l'administration intra-duodénale d'une solution d'acide aminé a significativement inhibé la sécrétion d'acide gastrique provoquée par l'infusion intra-gastrique de peptone. Cependant, des études ont montré que certains acides aminés individuels (leucine, isoleucine et proline) augmentent la sécrétion d'acide gastrique (Ignatenko, 1984 ; Feig et Nahrwold, 1988), tandis que d'autres acides aminés tels que la L-sérine (Tariq et Moutaery, 1997), le tryptophane, la L-arginine, la glycine (Brzozowski *et al.*, 2002 ; Bülbüller *et al.*, 2003), la tyrosine et l'acide L-glutamique (Yang et Nahrwold, 1993) protègent la muqueuse gastrique (Kondratenko *et al.*, 2007). Subudhi et Sahoo en 2011 ont montré que les acides aminés conjugués (Méthionine et histidine) inhibaient la sécrétion gastrique d'une façon comparable à l'oméprazole. Donc, quoique le mécanisme exact de l'activité antiulcéreuse des acides aminés individuels soit encore mal connu, leurs dérivés N-acylé ont montré une activité inhibitrice directe *in vitro* sur la pompe H⁺/K⁺/ATPase, ainsi qu'une efficacité *in vivo* contre la ligature du pylore (Sharma *et al.*, 2007).

I.5 - GÉNÉRALITÉS SUR *Eremomastax speciosa* (HOCHST) CUFORD.

I.5.1 - SYSTÉMATIQUE

La plante utilisée est de la famille des Acanthaceae, du genre *Eremomastax* (synonymes : *Paulawihelmia* (Lindau) et *Ruellia* (S. Moore)) et de l'espèce *Eremomastax speciosa* (Hochst.) Cuford (Burkill, 1985).

Ces noms vernaculaires sont :

- au **Cameroun** : “pang nymshé” (chez les *Bangangté*), “Purple leaf” (en anglais *Pidgin*), “banguimo” (chez les *Bafut*), “mejama Njombe” (chez les *Bakweri*), “Alio” (chez les *Maka*), “pèkidjum” (chez les *Badjoun*), “ntamir” (chez les *Nso*) (Adjanothoum *et al.*, 1996) ;
- au **Ghana** : *madubiri* (chez les Akan-Akuape), “a-guare-(a)nsra” (chez les *Asante*, *Fante* et *Twi* (“guare” : veut dire “utilisé pour laver le corps” et “ansra” veut dire “pomade”)) ;

- en **Cote d'Ivoire** : *karagbéi* et *Wotiaï* (chez les *Kru-Guere*), et *Guégambo* (chez les *Kweni*) (Burkill, 1985) ;

- au **Nigéria** : “ákúkwó” ou “ijiji uku” [chez les *Igbo (Ogwashì)*] ; “àgbòlò úkwú” [chez les *Igbo (Ukwuani)*], et “açoyn” (chez les *Yoruba*) (Burkill, 1985) ;

- en **Sierra Leone** : “wote”(Mende) (Burkill, 1985).

I.5.2 - APERÇU BOTANIQUE

Eremomastax speciosa est un arbuste polymorphe et robuste dont la taille peut atteindre 2 m. La tige est quadrangulaire et pluri-branchiale. Le limbe des feuilles est ovale, plus ou moins triangulaire, présente 5 à 7 paires de nervures latérales et est doublement coloré de vert au dessus et de violet en dessous (Figure 11). C'est cette distinction caractéristique qui lui donne le nom de “*pang nyemshe*” dans la tribu Bamiléké (région de l'Ouest Cameroun), ce qui signifie “rouge d'un côté” (Tan *et al.*, 1996).



Figure 11 : Photo des parties aériennes de *Eremomastax speciosa* prise par Amang en 2008.

I.5.3 - RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

Eremomastax speciosa est une plante tropicale qui pousse dans les forêts secondaires. Elle est très répandue en Afrique Centrale et de l'Ouest, au Sud Soudan, en Éthiopie et à Madagascar (Heine, 1966).

I.5.4 - VERTUS ETHNOPHARMACOLOGIQUES

Eremomastax speciosa est une plante utilisée pour l'ornement. Elle est vulgairement appelée "plante du sang", car elle est énormément utilisée pour le traitement des anémies (Heine, 1966). Cette propriété antianémique (augmentation du nombre des globules rouges, du volume du sang, de la concentration en hémoglobine et du nombre des globules blancs) longtemps réclamée a été démontrée expérimentalement par Okokon *et al.* en 2007, qui par la même occasion a également démontrée l'activité antimicrobienne de cette plante contre les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Aspergillus Niger*. Cette plante est aussi utilisée pour le traitement de la dysenterie, des fractures, des hémorroïdes et des infections du tractus urinaires (Adjanohoum *et al.*, 1996).

Au Ghana, les feuilles de *E. speciosa* sont utilisées pour "laver le corps". Après un tel lavage, l'utilisation d'une pommade n'est plus nécessaire. Cette plante est aussi utilisée par le peuple Akuapem comme un poison des poissons (Burkill, 1985).

Au Nigeria, les feuilles de *E. speciosa* sont utilisées pour le traitement des infertilités masculines (Erhabor *et al.*, 2013). Des études menées dans la localité Akwa Ibon ont montré que cette plante est utilisée pour améliorer la fertilité féminine, l'arrêt du saignement post-partum et l'expulsion du placenta (Mboso *et al.*, 2013).

En Côte d'Ivoire et au Nigéria, la pulpe des feuilles est appliquée sur les blessures infectées par le ver de guinée pour détruire le parasite. Les feuilles sont aussi utilisées contre le mal de tête et comme antidote des poisons (Burkill, 1985).

Au Cameroun, *E. speciosa* est utilisée en ethnomédecine pour le traitement de divers maux d'estomac. L'activité anti-diarrhéique de l'extrait aqueux des feuilles de *E. speciosa* a été montrée par Oben *etal.* en 2006. Le peuple Douala (région du Littoral) utilise *E. speciosa* pour le traitement du paludisme, des douleurs rénales, du diabète, des gales, de l'anémie et des douleurs nerveuses (Dibong *et al.*, 2011). *E. speciosa* a été cité pour son usage dans la région Ouest dans le traitement de l'infertilité féminine (Telefo *et al.*, 2012), la fièvre jaune et la varicelle (Mpondo et Dibong, 2012). Elle est aussi utilisée dans le traitement des menstruations irrégulières par la population Aguambu-Bamumbu des hauts plateaux du Lebiallem (région du Sud-ouest) (Focho *et al.*, 2009). Son usage a également été cité par Ndenecho (2009) pour le traitement des douleurs menstruelles, de la gonorrhée, de l'appendicite et aussi comme un antipoison et pour augmenter la pureté du sang dans la localité du Mont Cameroun.

Les informations provenant de la médecine traditionnelle au Cameroun suggèrent que *E. speciosa* possède un potentiel antiulcérogénique important. Les travaux préliminaires réalisés par Tan *et al.* en 1996 ont montré que l'administration de l'extrait aqueux de *E. speciosa* à la dose 190 mg/kg inhibait de façon significative la formation des lésions gastriques induites par le HCl/EtOH et par la ligature du pylore chez les rats.

I.5.5 - COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE

Les travaux effectués par Mboso *et al.* en 2013 sur l'analyse phytochimique de l'extrait à l'éthanol de *E. speciosa* ont permis de révéler la présence de plusieurs classes de composés bioactifs à savoir: les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols, les tannins, les triterpènes et les saponines. Ceux effectués par Oben *et al.* en 2006 sur le screening phytochimique de l'extrait aqueux avaient révélé la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins et les saponine.



CHAPITRE II :
MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1 - MATÉRIEL

II.1.1 - MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les parties aériennes (feuilles et tiges) de *Eremomastax speciosa* ont été récoltées dans la ville de Yaoundé, région du Centre Cameroun, pendant les mois de mai et juin 2012. La plante a été identifiée à l'Herbier National du Cameroun de Yaoundé par Monsieur Paul MEZILI, en comparaison du spécimen N° HNC/136984 (R. Letouzey) conservé à l'Herbier. Elle a été découpée en fins morceaux, puis séchée à la température ambiante (25 °C) du laboratoire et réduite en poudre. Cette poudre obtenue a été utilisée pour les extractions (aqueuse et organique).

III.1.1 - MATÉRIEL ANIMAL

Les animaux utilisés pour ce travail étaient constitués des rats mâles albinos de souche Wistar (*Ratus norvegicus*), âgés de 13 à 14 semaines et pesant entre 180 à 220 g. Ces animaux étaient élevés à l'Animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale, de l'Annexe de la Faculté des Sciences, de l'Université de Yaoundé I. Ils étaient logés collectivement dans les cages à raison de 5 animaux du même sexe par cage. Ils étaient élevés dans les conditions de température ambiante, aération suffisante, un cycle lumineux naturel. Ils étaient nourris à la provende standard (fabriquée par S.P.C. Ltd, Bafoussam-Cameroun) composée de : 11 % d'humidité ; 23 % de protéines ; 9,5 % au minimum de matières grasses ; 10 % de matières minérales ; 0,9 % de méthionine ; 0,8 % de lysine ; 3000 kcal ; 4,5 % au maximum de cellulose, Vitamines A, D, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂, PP et K₃. Ils recevaient l'eau du robinet *ad libitum*.

II.2 - MÉTHODES

II.2.1 - ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE DE *Eremomastax speciosa*

II.2.1.1 - Préparation des extraits

II.2.1.1.1 - Préparation de l'extrait aqueux

Cinq cent grammes de poudre de *E. speciosa* ont été extraites par infusion dans 4 L d'eau distillée bouillante pendant 15 minutes. Après filtration du mélange à l'aide du papier filtre Wattman N° 3, le filtrat a été évaporé à 40 °C dans une étuve à ventilation (Raven Oven,

N° : J2479, Scientific Greenfield, Great Britain). La pâte marronne obtenue représentait 77,78 g, soit un rendement de 15,56 % (Figure 12).

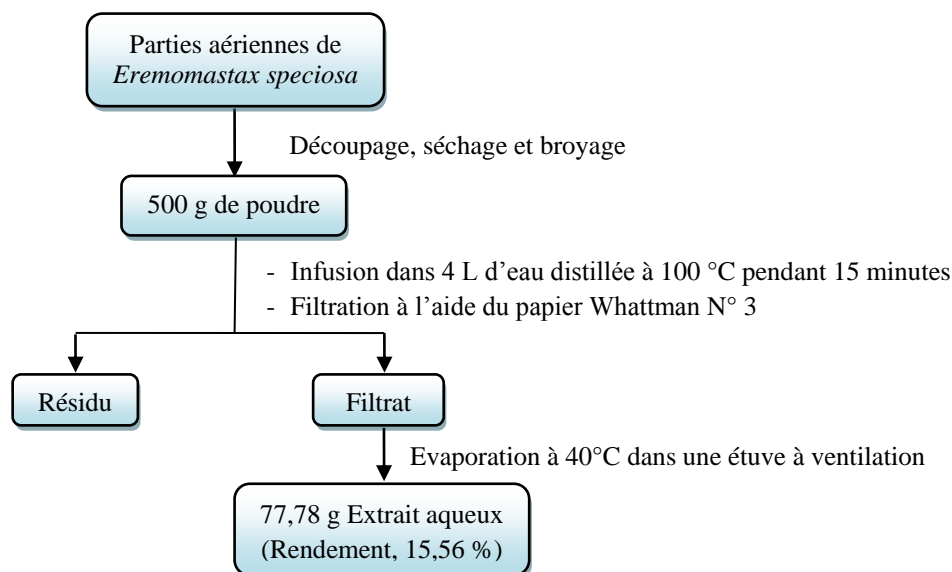


Figure 12 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux de *E. speciosa*.

II.2.1.1.2 - Préparation des extraits organiques

II.2.1.1.2.1 - Essai d'extraction aux solvants organiques

L'essai d'extraction a été effectué dans le but de choisir le bon solvant ou mélange de solvants d'extraction qui extrait le plus grand de composés, en utilisant cinq solvants ou mélange de solvants d'extractions [méthanol, hexane, acétate d'éthyle, chlorure de méthylène et méthanol/chlorure de méthylène (2/1)]. 2 g de poudre de la plante ont été mélangées avec 10 mL de chaque solvant ou mélange de solvants, dans des flacons de 20 mL, pendant 72 h à la température ambiante. Une goutte de chaque flacon a été prélevée et déposée sur une plaque de chromatographie sur couche mince, puis éluée avec les solvants de polarités croissantes et révélée à la lumière UV, à l'iode et à l' $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ (1/1). Des cinq solvants ou mélanges de solvants utilisés, le mélange méthanol/chlorure de méthylène et le méthanol avaient extrait le plus grand nombre de composés. Ils ont été ainsi retenus pour le procédé d'extraction.

II.2.1.1.2.2 - Préparation de l'extrait au méthanol

Deux cent grammes de poudre de *E. speciosa* ont été macérées dans 1 L de méthanol pur, pendant 72 heures. Après filtration du mélange à l'aide du papier filtre Wattman N° 3, le filtrat obtenu a été concentré à l'évaporateur rotatif à une température de 65 °C. L'extrait brut

(12,6 g) obtenue représentait un rendement de 6,3 % par rapport à la masse de poudre initiale utilisée (Figure 13).

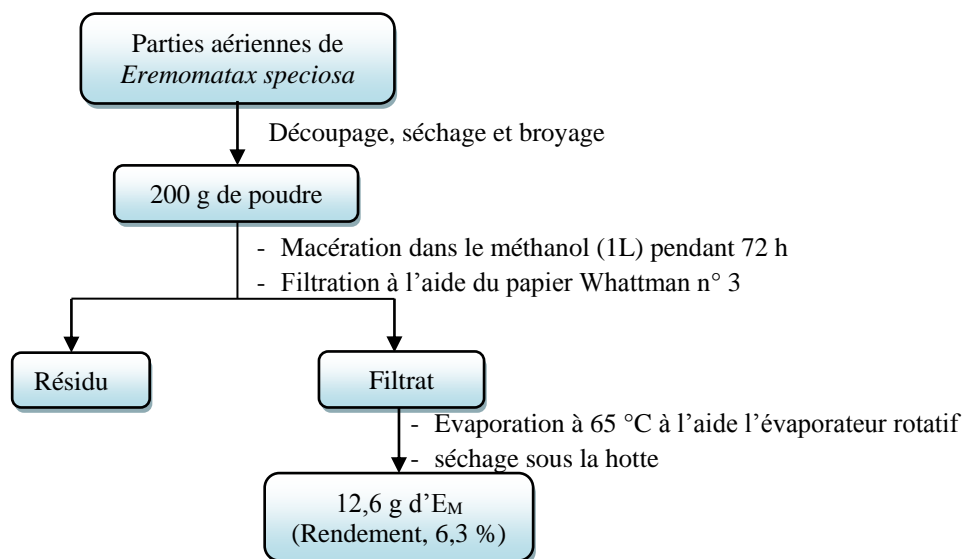


Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait au méthanol de *E. speciosa*.

II.2.1.1.2.3 - Préparation de l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène et de ses fractions

Trois mille sept cent quatre-vingt seize grammes (3796 g) de poudre de *E. speciosa* ont été macérées dans 15 L du mélange méthanol/chlorure de méthylène (2/1) (v/v) pendant 72 heures, à la température du laboratoire. Après filtration à l'aide du papier filtre Whatman N° 3, le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C et à 65 °C successivement, pour éliminer le chlorure de méthylène et le méthanol, respectivement. L'extrait brut (E_B) de *E. speciosa* avait une masse de 318 g, correspondant à un rendement d'extraction de 8,38 % par rapport à la masse initiale de poudre utilisée.

Cent cinquante neuf grammes (159 g) d'extrait brut prélevé ont été épuisés dans 1 L d'hexane. L'extrait brut épuisé à l'hexane (EE_H) a donné une masse de 39,3 g, soit un rendement de 24,72 % par rapport à la masse de E_B utilisée. 119,7 g de résidu ont été épuisés ensuite dans 0,5 L de chlorure de méthylène, suivant la procédure utilisée précédemment. La masse de résidu épuisé au chlorure de méthylène (EE_{CM}) a donné de 30,5 g, soit un rendement de 25,48 % par rapport à la masse de résidu utilisée pour l'épuisement. 89,2 g de résidu ont été épuisés par la suite dans 0,25 L d'acétate d'éthyle. Le résidu épuisé à l'acétate d'éthyle (EE_{AC}) obtenu a donné une masse de 5,6 g, soit un rendement de 6,28 %. Enfin, 83,6 g de résidu a été épuisé dans 0,125 L de méthanol. Le résidu épuisé au méthanol (EE_M) obtenu a donné une masse de 3,3 g, soit un rendement de 3,95 % (Figure 14).

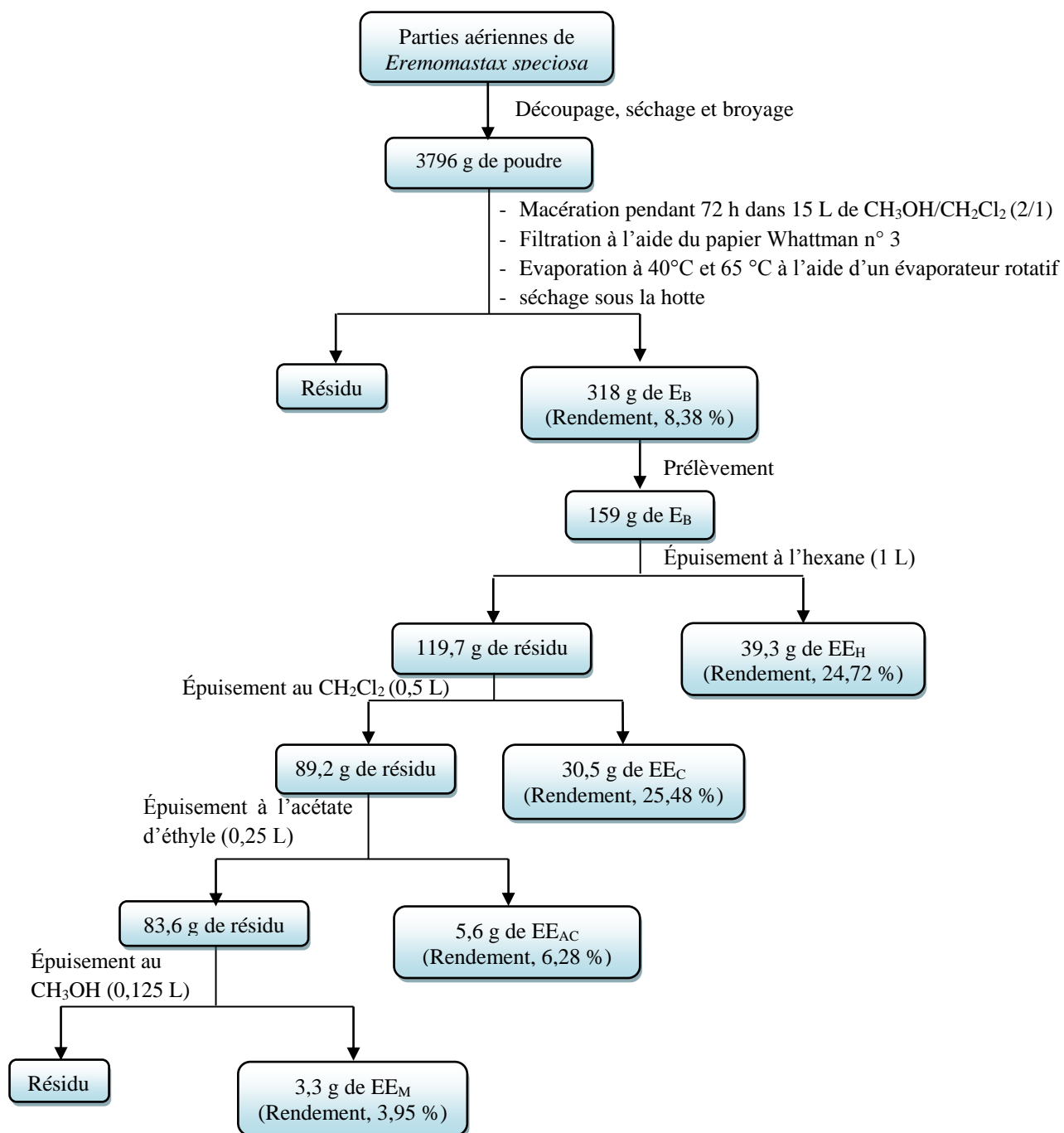


Figure 14 : Protocole de préparation de l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène et de ses fractions de *E. speciosa*.

EB : extrait brut, EE_H : extrait épuisé à l'hexane, EE_{CM} : extrait épuisé au chlorure de méthylène, EE_{AC} : extrait épuisé à l'acétate d'éthyle, EE_M : extrait épuisé au méthanol.

Tous ces extraits et fractions ont été conservés dans un réfrigérateur à 4 °C pour les tests phytochimiques et pharmacologiques.

II.2.1.2 - SCREENING PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS ET FRACTIONS DE *Eremomastax speciosa*

A l'aide des méthodes décrites par Bruneton en 1993, les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits et fractions de *E. speciosa* afin de déceler la présence (+) ou l'absence (-) des classes de composés bioactifs en leur sein.

II.2.1.2.1 - Test des phénols

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol et 3 gouttes de chlorure ferrique 5 % ont été ajoutés. L'observation de la couleur bleue ou violette marquait la présence des phénols.

II.2.1.2.2 - Test des flavonoïdes

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol, 5 gouttes d'acide chlorhydrique concentré et une petite quantité de copeau de magnésium a été ajoutée. La présence des flavonoïdes se signalait par une coloration rouge brique précédée d'une effervescence.

II.2.1.2.3 - Test des alcaloïdes (test de Dragendorff)

- **Préparation du réactif de Dragendorff** : 0,85 g de nitrate de Bismuth ont été dissout dans 40 mL d'acide acétique glacial. La solution obtenue a été mélangée à une autre constituée de 8 g d'iodure de potassium dans 20 mL d'eau distillé.

- **Mode opératoire** : Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol. Une goutte de ce mélange a été déposée sur une plaque de chromatographie sur couche mince (CCM). Elle a été pulvérisée avec le réactif de Dragendorff. La présence des alcaloïdes ou d'une cétone α , β insaturée se manifestait par virage de la couleur du jaune à l'orange.

II.2.1.2.4 - Test des tannins

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol et 2 mL de chlorure ferrique 5 % a été ajouté. La formation de la couleur noire verdâtre marquait la présence des tannins.

II.2.1.2.5 - Test des triterpènes et des stérols (test de Libermann-Burchard)

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol, 2 mL de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique (5 %) et 3 mL d'acide sulfurique concentré ont été ajouté. La coloration rouge violacée marquait la présence des triterpènes. Le virage de cette coloration au bleue signalait la présence des stérols.

II.2.1.2.6 - Test des saponines

Un demi gramme (0,5 g) d'extrait ou de fraction a été mélangé à 5 mL d'eau distillée, le mélange a été ensuite chauffé dans un bain marie pendant 3 minutes et puis vigoureusement agité pendant 10 s au vortex. La présence d'une mousse d'épaisseur 1 cm environ et qui persiste plus d'une minute après agitation matérialisait la présence des saponines.

II.2.1.2.7 - Test des quinones (Test de Bornträger)

Un demi gramme (0,5 g) d'extrait ou de fraction de plante a été dissout dans 10 mL de mélange éther-chloroforme, puis filtré. 1 mL de NaOH à 10 % a ajouté à 1 mL de ce filtrat. Le mélange a été homogénéisé. La coloration rose, rouge ou violette indiquait la présence des quinones.

II.2.1.2.8 - Le test des anthocyanines

Un demi-gramme (0,5 g) d'extrait ou fraction a été mélangé à 15 mL de HCl à 1 % et l'ensemble a été porté à ébullition. La variation de coloration du rouge orangé au bleu orangé a mis en exergue la présence des anthocyanines.

II.2.1.2.9 - Test de coumarines

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissouts dans 6 mL de méthanol et 1 mL d'hydroxyde de sodium 10 % a été ajouté. La formation d'une couleur jaune indiquait la présence de coumarines.

II.2.1.2.10 - Test de glycoside

Un demi gramme (0,5 g) d'extrait a été dissout dans 5 mL de HCl, puis a été neutralisé par 5 mL d'une solution NaOH à 5 %; au mélange a été ajoute goutte à goutte une solution de Fehling. La présence des glucosides se manifestait par l'apparition d'un précipité rouge brique.

II.2.1.2.11 - Test de la résine

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol, 6 mL de solution d'acétate cuivre a été ajouté, le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos pour séparation. L'observation d'une couleur verte matérialisait la présence de résine.

II.2.1.2.12 - Test des sucres (test de Molish)

Un gramme (1 mg) d'extrait ou de fraction a été dissout dans 1 mL de réactif de Molisch [mélange éthanol- α naphthol 1 % (v/v)] et 5 gouttes d'acide sulfurique ont été ensuite ajoutées. La confirmation de la présence des sucres a été faite par l'observation de la couleur rouge violacée.

II.2.1.2.13 - Test des acides

Un demi-gramme (0,5 g) d'extrait ou de fraction a été dissout avec 10 mL de solution de bicarbonate de sodium. La présence d'une effervescence indiquait la présence des acides.

II.2.1.2.14 - Test des protéines (Test de Biuret)

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol. 2 mL solution d'hydroxyde de sodium de 10 % et deux gouttes de solution de sulfate de cuivre 0,1 % ont été ajoutés. L'observation de la couleur violette/rose marquait la présence des protéines.

II.2.1.2.15 - Test des acides aminés (Test de Ninhydrin)

Deux milligrammes (2 mg) d'extrait ou de fraction ont été dissout dans 6 mL de méthanol et 2 mL de solution de ninhydrine 0,2 % ont été ajouté. L'observation d'une couleur pourpre suggérant la présence des acides aminés libres.

II.2.2 - ÉTUDE DES EFFETS CYTOPROTECTEURS ET ANTIOXYDANTS DE *Eremomastax speciosa* CHEZ LES RATS

II.2.2.1 - Évaluation des effets cytoprotecteurs de *Eremomastax speciosa*

II.2.2.1.1 - Lésions gastriques induites par le mélange acide chlorhydrique/éthanol (HCl/EtOH)

L'induction des lésions gastriques par le mélange HCl/éthanol a été réalisée en suivant la méthode décrite par Hara et Okabe en 1985. 30 rats mâles ont été mis à jeûne non hydrique dans les cages métaboliques pendant 48 heures. Ces animaux ont été répartis en 6 lots de 5 rats chacun dont : 1 lot témoin négatif, 1 lot témoin positif et 4 lots expérimentaux. Ils ont été traités respectivement, à l'eau distillée (1 mL/200 g), au sucralfate (50 mg/kg) et aux extraits aqueux (200 et 400 mg/kg) et méthanolique (100 et 200 mg/kg) de *E. speciosa*. Une heure après, le mélange HCl/EtOH (1/1) a été administré à la dose de 1 mL/200 g, *per os* à tous les animaux. Une heure plus tard, sous anesthésie à l'éther éthylique les rats ont subi une laparotomie ; les ligatures ont été posées au niveau des sphincters œsophagien et pylorique de l'estomac ; l'estomac a été isolé délicatement et 10 mL de formaldéhyde 2 % ont été injectés dans celui-ci à l'aide d'une seringue ; 10 minutes après, l'estomac a été ouvert le long de sa grande courbure et a été lavé délicatement sous l'eau du robinet coulant à faible pression. Les lésions de la partie glandulaire ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée. Les scores des lésions ont été attribués selon la méthode décrite par Tan *et al.* en 1996. Le mucus déshydraté de chaque rat a été raclé délicatement à l'aide d'une lame porte objet de microscope (Marhuenda *et al.*, 1993 ; Tan *et al.*, 2000 a). Ce mucus prélevé a été pesé à l'aide d'une balance à précision. Les homogénats d'estomac ont été préparés pour le dosage de quelques paramètres du stress oxydant.

II.2.2.1.2 - Lésions gastriques induites par l'éthanol absolu

L'induction des ulcères gastriques par l'éthanol absolu a été effectuée en suivant le protocole décrit précédemment pour la méthode HCl/EtOH, à la différence que la solution de HCl/EtOH a été remplacée par l'éthanol absolu.

II.2.2.1.3 - Lésions gastriques induites par le stress à l'eau froide

L'induction des lésions gastriques par le stress à l'eau froide a été réalisée suivant la méthode de Tagaki et Okabe (1968), décrite par Ohta *et al.* (1999). 30 rats mis à jeûne pendant 48 heures ont été répartis en 6 lots, dont 1 lot témoin négatif traité à la dose 1 mL/200 g d'eau distillée, 1 lot témoin positif traité à la dose 50 mg/kg de cimétidine et 4 lots expérimentaux traités aux doses 200 et 400 mg/kg d'extrait aqueux, et 100 et 200 mg/kg d'extrait méthanolique. Une heure après, ils ont été introduits dans des cages grillagées

individuelles et immergés dans l'eau (3-5 °C) jusqu'au niveau du xyphoïde pendant 2 heures. Ces rats ont été sacrifiés sous faible anesthésie à l'éther éthylique et les lésions gastriques ont été évaluées. Les homogénats d'estomac ont été préparés pour le dosage de quelques paramètres de l'oxydation cellulaire.

II.2.2.1.4 - Lésions gastriques induites par le mélange HCl/EtOH chez les rats prétraités à l'indométacine

L'effet d'un prétraitement à l'indométacine sur l'effet préventif de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par le mélange de HCl/EtOH (1/1) a été évalué par modification de la méthode décrite par Sun *et al.* en 1992. Tous les rats ont reçu l'indométacine (20 mg/kg) par voie intra-péritonéale. 1 heure après, les animaux ont été traités par voie orale avec l'extrait aqueux (200 et 400 mg/kg) pour les lots tests, au sucralfate (50 mg/kg) pour le lot témoin positif et à l'eau distillée (1 mL/200 g) pour le lot témoin négatif. Une heure plus tard, la solution de HCl/EtOH (1 mL/200 g) a été administrée à chaque animal. Ces animaux ont été sacrifiés 60 minutes après, sous faible anesthésie à l'éther éthylique. Par la suite, les estomacs ont été prélevés et les scores des lésions ont été évalués.

II.2.2.1.5 - Lésions gastriques induites par l'indométacine

L'induction des ulcères gastriques par l'indométacine a été réalisée par la méthode décrite par Pillai et Santhakumari (1984) légèrement modifiée. 20 rats mis à jeûne pendant 48 heures ont reçu chacun l'indométacine (50 mg/kg) par voie orale une heure après l'administration de l'extrait aqueux de *E. speciosa* (200 et 400 mg/kg), du sucralfate (50 mg/kg, pour le lot témoin positif) et d'eau distillée (1 mL/200 g, pour le lot témoin négatif). Cinq heures après, ces animaux ont été sacrifiés sous faible anesthésie à l'éther éthylique et les lésions gastriques ainsi que la quantité du mucus ont été évaluées.

II.2.2.2 - Évaluation de la capacité antioxydante de *Eremomastax speciosa* in vivo

II.2.2.2.1 - Préparation des homogénats d'estomacs

Dans un bac de glace, 1 g d'estomac de chaque animal a été broyé et homogénéisé à 20 % avec 5 mL de tampon Tris-HCl (50 mM). Après centrifugation à 5700 tr/mn pendant 30 min, le surnageant (homogénat) a été récupéré et conservé dans un congélateur à 4 °C pour les dosages de quelques paramètres du stress oxydant.

II.2.2.2.2 - Préparation des hémolysât

Le sang prélevé dans les tubes héparinés a été laissé au repos pendant 10 minutes; 100 µL de culot ont été prélevés à l'aide d'une micropipette et introduit dans un tube à essai contenant 4 mL d'une solution de NaCl (9 ‰). Après centrifugation à 5700 tr/mn pendant 10 minutes, le surnageant (solution de NaCl) a été éliminé. 2 mL d'eau distillée ont été ajoutés et le mélange a été homogénéisé au vortex. Les hémolysât obtenus ont été conservés au frais pour les dosages des paramètres de l'oxydation cellulaire.

II.2.2.2.3 - Dosage des protéines dans les homogénats d'estomac et les hémolysât

La méthode du Biuret décrite par Henry *et al.* (1974) a été utilisée le dosage des protéines.

a) Principe

En milieu basique, le tartrate forme avec le sel cuivrique un complexe bleu violet absorbant à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en protéine dans la solution.

b) Mode opératoire

Dans chaque tube à essai test, a été introduit 50 µL d'échantillon (homogénat ou hémolysât). Dans le tube blanc, les échantillons ont été remplacés par le NaCl (9 ‰). Après introduction des différents réactifs dans le tube (Tableau II), l'ensemble est homogénéisé au vortex et incubé pendant 10 minutes à température ambiante.

L'absorbance a été lue à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre le tube blanc. La concentration des protéines dans les tubes tests a été déterminée en se servant de la courbe d'étalonnage (Figure 15).

Tableau II : Dosage des protéines.

Tube n°	0	1	2	3	4	5	6	X ₁	X _n

SAB (mL) (0,3 mg/mL)	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25	1,50	0,00	0,00
NaCl (mL) (9 ‰)	3	2,75	2,50	2,25	2,00	1,75	1,50	2,95	2,95
Réactif de Biuret (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Échantillons (µL)	0	0	0	0	0	0	0	50	50
Quantité de protéines (mg)	0,00	1,25	2,50	3,75	5,00	6,25	7,50	-	-

Tube 0: Tube blanc; **Tubes 1 à 6:** Tubes étalon; **Tube X₁ à X_n:** tubes échantillons.

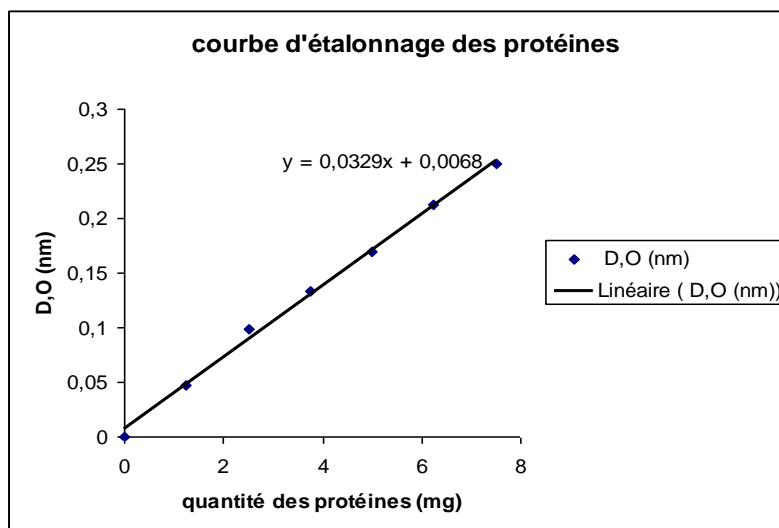


Figure 15 : Courbe d'étalonnage des protéines par la méthode de Biuret.

II.2.2.2.4 - Dosage du superoxyde dismutase (SOD)

Le dosage de la SOD a été effectué suivant la méthode décrite par Misra et Fridovich en 1972.

a) Principe

La présence de SOD dans un échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. L'augmentation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité du superoxyde dismutase est notée entre 20 et 80 secondes (s) à 480 nanomètre (nm).

b) Mode opératoire

Dans une cuve à spectrophotométrie ont été introduits 134 µL de l'homogénat 20 % d'estomac ou d'hémolysât et 1666 µL de tampon carbonate. Après avoir calibré le spectrophotomètre, on déclenche la réaction en ajoutant 0,2 mL d'adrénaline (0,3 mM) au mélange réactionnel. Ce mélange a été homogénéisé par inversion rapide de la cuve. L'augmentation de l'absorbance a été notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm. Dans la cuve

du témoin a été mis 1666 μL de tampon carbonate ; 0,2 μL de solution d'adrénaline et 134 μL d'eau distillée.

c) Calcul de la concentration en SOD

L'activité spécifique de la SOD a été évaluée en unité de SOD/mg de protéines. Une unité de la SOD a été définie comme la quantité de SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant 1 min.

- Détermination de la concentration en SOD :

La variation de la densité optique est : $\Delta A (\text{min}) = A_{20\text{s}} - A_{80\text{s}}$

% inhibition = $(100 - \Delta A_{\text{Ech}} \times 100) / \Delta A_{\text{Blanc}}$

50 % d'inhibition correspond à 1 unité ; X % d'inhibition correspond à N unités ;

- L'activité spécifique de la SOD (unité SOD/mg de protéines) = (Nombre d'unités SOD/MI)/mg de protéines x facteur de dilution.

II.2.2.2.5 - Dosage de la catalase

Le dosage de la catalase a été effectué suivant la méthode décrite par Sinha en 1972.

a) Principe

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Ce peroxyde détruit se lie au dichromate de potassium pour former un précipité vert d'acide perchlorique instable, qui est ensuite détruit par la chaleur pour former un complexe vert absorbant à 570 nm. L'activité de la catalase qui est proportionnelle à la densité optique de ce complexe sera déterminée grâce à la courbe d'étalonnage.

b) Mode opératoire

A 50 ml d'une solution aqueuse de dichromate de potassium à 5 % (v/v) ont été ajoutés lentement 150 ml d'acide acétique glacial. Les tubes ont été complétés comme l'indique le tableau III.

Les données obtenues ont été utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration de H_2O_2 (μmol) (Figure 16).

Dans chaque tube à essai test, a été introduit 50 μL d'homogénat ou d'hémolysât et 750 μL de tampon phosphate 0,1 M de pH 7,5. Le chronomètre était déclenché lorsqu'on ajoutait 200 μL de substrat peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après 1 minute, la réaction était arrêtée par ajout de 2 mL de la solution de dichromate/acide acétique. Dans le tube témoin a été mis 800 μL de tampon phosphate 0,1 M, pH 7,5. L'ensemble des tubes était chauffé à 100 °C pendant 10 minutes et après refroidissement, la densité optique était lue à 570 nm.

Tableau III : Protocole de dosage de la catalase.

N° du tube	1	2	3	4	5	6
Volume de H ₂ O ₂ (µL) (50 Mm)	0	20	40	80	160	320
Quantité de H ₂ O ₂ (µmol)	0	1	2	4	8	16
Solution de dichromate/acide acétique (mL)	2	2	2	2	2	2
Après formation d'un précipité bleu, les tubes sont chauffés jusqu'à ébullition pendant 10 min (apparition de la couleur verte de l'acétate chronique) et refroidis à température ambiante.						
Eau distillée (µL)	1000	980	960	920	840	680
L'absorbance est lue à 570 nm						

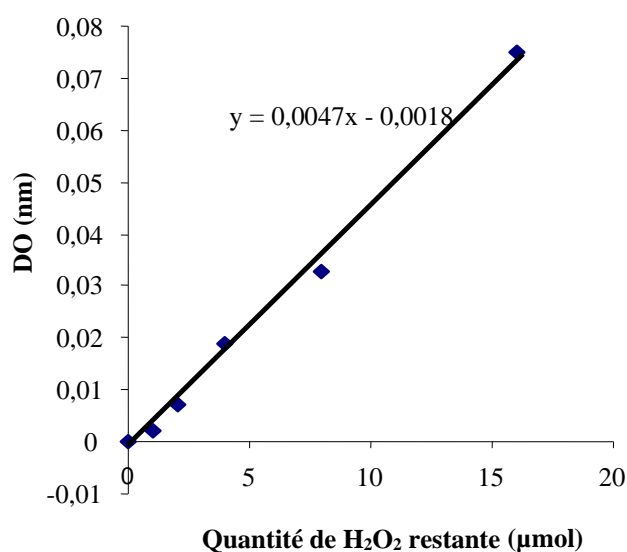


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la catalase.

c) Calcul de la concentration en catalase

La quantité de peroxyde d'hydrogène qui reste dans la solution après ajout de l'acide perchromique a été évaluée en utilisant la courbe d'étalonnage. L'activité spécifique de la catalase est exprimée en µM de H₂O₂/min/mg de protéine.

II.2.2.2.6 - Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du GSH a été effectué suivant la méthode décrite par Ellman en 1959.

a) Principe

L'acide 2,2-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements SH du glutathion formant un complexe coloré jaune qui absorbe à 412 nm.

b) Mode opératoire

Dans un tube à essai a été introduit 0,02 mL de surnageant d'homogénat d'estomac ou d'hémolysât et 3 ml de réactif d'Ellman. Après agitation au vortex, on laissait se développer la coloration pendant 60 mn à température ambiante. Dans le tube contrôle était mis 0,02 mL de tampon Tris-HCl 50 mM, KCl 150 mM, pH 7,4 et 3 mL de réactif d'Ellman. L'absorbance de chaque tube était ensuite lue à 412 nm contre le blanc.

c) *Calcul de la concentration de GSH*

La concentration en glutathion a été exprimée en mol/g d'organe. Le calcul a été effectué en utilisant la loi de Beer-Lambert: $DO = \epsilon \cdot C \cdot L$

$$C_{GSH} = \frac{DO V_t}{\epsilon \cdot L \cdot V_i \cdot m_{org}}$$

DO: densité optique mesurée en 412 nm
 ϵ : coefficient d'extinction molaire = $13600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
 C_{GSH} : concentration du glutathion dans le tissu
L: longueur de la cuve (1 cm)
 V_t : volume total de l'homogénat
 m_{org} : masse d'organe utilisée pour préparer l'homogénat
 V_i : volume utilisé pour le dosage

II.2.2.2.7 - Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du MDA a été effectué suivant la méthode décrite par Wilbur *et al.* en 1949.

a) *Principe*

Les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique en milieu acide et à chaud pour donner un produit de couleur rouge qui absorbe la lumière à 500 nm.

b) *Mode opératoire*

Dans chaque tube à essai test a été introduit 2 mL d'homogénat d'organe ou d'hémolysât, 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % et 2 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Dans le tube témoin, l'homogénat ou l'hémolysât a été remplacé par 2 mL de tampon Tris HCl 50 mM, KCl 50 mM, pH 7,4. Les tubes ont été bouchés à l'aide des billes de verre et incubés au bain marie pendant 10 min à 90 °C. Ils sont ensuite refroidis à l'eau du robinet, puis centrifugés à 5700 tr/min pendant 10 min. Le surnageant a été prélevé et l'absorbance a été lue à 500 nm contre le blanc.

c) *Calcul de la concentration du MDA*

Après lecture des densités optiques, la concentration en malondialdéhyde a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ cm}^2 \cdot \text{mmol}$).

$$\text{MDA (mmol/g d'organe)} = \frac{\text{DO} \cdot V_t}{\epsilon \cdot L \cdot m_{\text{org}} \cdot V_i}$$

DO: densité optique mesurée à 530 nm

ϵ : coefficient d'extinction molaire = $13600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

V_t : volume total d'homogénat

m_{org} : masse d'organe utilisé pour préparer l'homogénat

V_i : volume utilisé pour le dosage

L: longueur de la cuve (1 cm)

II.2.3 - ÉTUDE DU MÉCANISME ANTI-SÉCRÉTOIRE DE *Eremomastax speciosa* CHEZ LES RATS

II.2.3.1 - Screening anti-sécrétoire de *Eremomastax speciosa*

II.2.3.1.1 - Lésions gastriques induites par la ligature du pylore

L'induction des lésions gastriques par la ligature du pylore a été réalisée selon la méthode décrite par Shay *et al.* en 1945. 55 rats mâles mis à jeûne non hydrique pendant 48 heures ont été répartis en 11 lots de 5 rats, dont : 9 lots expérimentaux, 1 lot témoin positif et 1 lot témoin négatif. Ils ont reçu par gavage une dose des extraits aqueux (100 et de 200 mg/kg) et au méthanol/chlorure de méthylène (100 et de 200 mg/kg), des fractions à l'hexane (100 mg/kg), au chlorure de méthylène (100 et de 200 mg/kg), à l'acétate d'éthyle (100 mg/kg) et au méthanol (100 mg/kg) pour les groupes expérimentaux ; de cimétidine (50 mg/kg) pour le lot témoin positif et d'eau distillée (1 mL/200 g) pour le lot témoin négatif. Une heure après, sous faible anesthésie à l'éther éthylique, une laparotomie a été effectuée et une ligature a été posée au niveau du sphincter pylorique. L'estomac a été replacé délicatement dans l'abdomen et l'incision a été recousue. 6 heures après, sous faible anesthésie à l'éther éthylique les rats ont été sacrifiés. Le suc gastrique de chaque animal a été collecté, centrifugé et le volume a été mesuré. Ce suc a été conservé à 4 °C pour le titrage de l'acidité et l'évaluation de l'activité de la pepsine. Les lésions de la partie glandulaire de l'estomac ont été mesurées et les scores des lésions formées ont été attribués suivant la méthode décrite par Tan *et al.* en 1996. Le mucus a été prélevé et pesé. Les extraits et/ou les fractions qui ont réduit le plus l'acidité gastrique ont été retenus pour l'évaluation de leurs effets sur l'hypersécrétion gastrique.

II.2.3.1.2 - Lésions gastriques induites par la ligature du pylore chez les rats prétraités à l'indométacine

Les lésions ont été induites par la méthode de la ligature du pylore décrite par Shay *et al.* en 1945 et modifiée par un prétraitement *per os* à l'indométacine. 25 rats mâles mis à jeûne non hydrique depuis 48 heures ont été répartis en 5 lots de 5 animaux ; dont : 2 lots expérimentaux traités aux doses de 100 et de 200 mg/kg à l'extrait au méthanol de *E. speciosa*, 1 lot témoin positif traité à la dose de 50 mg/kg de sucralfate, 1 lot témoin négatif traité à 1 mL/200 g d'eau distillée et 1 lot normal ne recevant aucun traitement. Une heure après le traitement, 50 mg/kg d'indométacine a été administrée par voie orale. Une heure plus tard, le pylore de chaque rat a été ligaturé sous faible anesthésie et l'incision a été recousue. Tous les rats ont été sacrifiés 6 heures après la ligature sous faible anesthésie à l'éther éthylique. Le sang a été prélevé au niveau de la pointe ventriculaire du cœur à l'aide d'une seringue; ce sang a été collecté dans les tubes à héparines et conservé à 4 °C pour le dosage des paramètres du stress oxydatif. La suite du protocole est le même que celui décrit précédemment.

Le screening anti-sécrétoire a montré qu'à la dose 100 mg/kg, les extraits aqueux, au méthanol/chlorure de méthylène et la fraction au chlorure de méthylène entraînaient la réduction la plus importante de l'acidité gastrique. Cette réduction a été plus significative à la dose de 200 mg/kg. Ces extraits et fraction à la dose 200 mg/kg ont été retenus pour l'évaluation de leurs effets sur l'hypersécrétion gastrique induite par les sécrétagogues (histamine et carbachol).

II.2.3.2 - Hypersécrétion gastrique induite par l'histamine

L'hypersécrétion gastrique induite par l'histamine a été étudiée par la méthode décrite par Vela *et al.* en 1997. 25 rats mâles mis à jeûne depuis 48 heures ont été répartis en 5 lots dont: 3 lots expérimentaux traités *per os* à la dose 200 mg/kg des extraits au méthanol /chlorure de méthylène, aqueux et de la fraction au chlorure de méthylène ; 1 lot témoin positif traité *per os* à 100 mg/kg de cimétidine ; et 1 lot témoin négatif traité *per os* à 1 mL/200 g d'eau distillée. 30 minutes après le traitement, le pylore de chaque rat a été ligaturé par la méthode décrite par Shay *et al.* en 1945. Une heure plus tard, l'histamine à la dose de 2,5 mg/kg a été injecté par voie sous cutanée. Les animaux ont été sacrifiés 4 heures après l'injection d'histamine. Le suc gastrique de chaque rat a été mesuré et l'acidité a été titrée. Les lésions ont été évaluées et le mucus a été prélevé et pesé.

II.2.3.3 - Hypersécrétion gastrique induite par le carbachol

L'hypersécrétion gastrique induite par le carbachol a été étudiée par la méthode décrite par Vela *et al.* en 1997 : le protocole expérimental a été presque que le même que celui décrit lors du test précédant, à la différence que l'histamine a été remplacé par le carbachol à la dose de 0,5 mg/kg et que le témoin positif a été traité avec la ranitidine à 50 mg/kg.

II.2.3.4 - Hypersécrétion gastrique induite par administration répétée d'histamine "Augmented histamine test"

Les extraits aqueux, au méthanol/chlorure de méthylène et la fraction au chlorure de méthylène ont présenté près que les mêmes effets anti-sécrétoires. En raison de la présence des traces de méthanol et/ou chlorure de méthylène dans l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène, et la fraction au chlorure de méthylène qui pourrait être toxique, et du coût élevé de ces solvants organiques l'extrait aqueux a été choisi pour la suite du travail.

Dans "Augmented histamine test", l'hypersécrétion d'acide a été réalisée par la méthode décrite par Tan et Nyasse en 2000, qui combine successivement la ligature du pylore et les injections répétées d'histamine. Le protocole a été presque le même que celui décrit pour l'étude de l'hypersécrétion gastrique induite par l'histamine à la différence que l'histamine a été administré par voie sous cutanée à la dose 1 mg/kg à 4 reprises et à intervalle d'une heure (1 mg/kg, *s.c.*, x 4). Le témoin positif recevait comme médicament de référence la ranitidine à la dose 100 mg/kg. Les animaux ont été sacrifiés une heure après la prise de la dernière dose d'histamine.

II.2.3.5- Hypersécrétion gastrique induite par une combinaison de l'indométacine et du carbachol

La méthode décrite par Rainsford en 1978 a été utilisée avec des modifications. Les ulcères gastriques ont été induits après 48 heures de jeûne non hydrique, par administration d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (indométacine : 30 mg/kg, *s.c.*) et du carbachol (0,5 mg/kg, *s.c.*) une heure après la ligature du pylore. L'extrait aqueux de *E. speciosa* (200 et 400 mg/kg), la ranitidine (100 mg/kg) et le véhicule (eau distillée 1 mL/200 g) ont été administrés par voie orale à dose unique, 30 minutes avant la ligature du pylore. 4 heures après l'administration d'indométacine et du carbachol, les animaux ont été sacrifiés. Le suc gastrique, le mucus et les lésions gastriques ont été mesurés.

II.2.3.6 - Étude de la voie d'action anti-sécrétoire de l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa*

II.2.3.6.1 - Effets de l'extrait aqueux de *Eremomatax speciosa* administré par voie duodénale sur l'hypersécrétion gastrique induite par l'histamine

Quinze rats mâles mis à jeûne depuis 48 heures ont été repartis en 3 lots dont : 2 lots tests et 1 lot témoin négatif. Leur pylore a été ligaturé en utilisant la méthode décrite par Shay *et al.* en 1945. Immédiatement après la ligature, les animaux ont reçu une injection intra-duodénale d'extrait aqueux aux doses de 200 et 400 mg/kg pour les lots expérimentaux et d'eau distillée à la dose de 1 mL/200 g pour le lot témoin négatif. Une heure après, l'histamine (2,5 mg/kg) a été injecté par voie sous cutanée à tous les animaux. Ces animaux ont été sacrifiés 4 heures après l'injection de l'histamine. Le suc gastrique de chaque rat a été mesuré et l'acidité a été titrée. Les lésions ont été évaluées et la masse du mucus a été mesurée.

II.2.3.6.2- Effets de l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa* administré par voie duodénale sur l'hypersécrétion gastrique induite par le carbachol

Quinze rats mâles mis à jeûne depuis 48 heures ont été repartis en 3 lots dont : 2 lots tests et 1 lot témoin négatif. Le protocole expérimental était presque le même que celui décrit précédemment, à la différence que l'histamine a été remplacé par le carbachol (0,5 mg/kg).

II.2.3.6.3 - Effets de l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa* administré par voie duodénale sur l'hypersécrétion gastrique induite par une combinaison du carbachol et d'indométacine

Le protocole expérimental était presque le même que celui décrit en II.2.3.5, à la différence que l'extrait a été administré par voie intra-duodénale et ceci immédiatement après la ligature du pylore.

II.2.3.7- Mesure du pH du suc gastrique

Le pH du suc gastrique de chaque rat a été mesuré à l'aide d'un pH mètre électronique.

II.2.3.8- Titrage de l'acidité du suc gastrique

Le titrage du suc gastrique de chaque rat a été effectué par dosage potentiométrique, en utilisant une solution de soude (NaOH) 0,1 N à l'aide d'un pH-mètre électronique. Cette acidité a été exprimée en milliéquivalent par litre (mEq/L).

Un bécher (50 mL) contenant 1 mL du suc gastrique centrifugé à 5600 tr/min pendant 10 min, a été porté sous agitation magnétique, pour des séries de dosages avec une solution de soude 0,1 N contenue dans une burette (10 mL). Le pH-mètre a été initialement calibré avec deux solutions de tampon phosphate de pH 4,01 et 6,86. Après la mesure du pH des différents sucs gastriques, on a laissé couler goutte à goutte la solution de NaOH 0,1 N dans le bécher. Chaque fois qu'on ajoutait 0,125 mL de NaOH dans le bécher, le pH était enregistré. L'opération s'arrêtait lorsque la variation du pH devenait insignifiante ou nulle. A l'aide des différents pH obtenus, une courbe d'évolution en fonction du volume de NaOH ajouté a été tracée. La droite équidistante aux deux tangentes coupait la courbe en un point (point d'inflexion) dont la projection orthogonale sur l'axe des abscisses donnait le volume de NaOH nécessaire pour neutraliser l'acidité du suc gastrique (Figure 17).

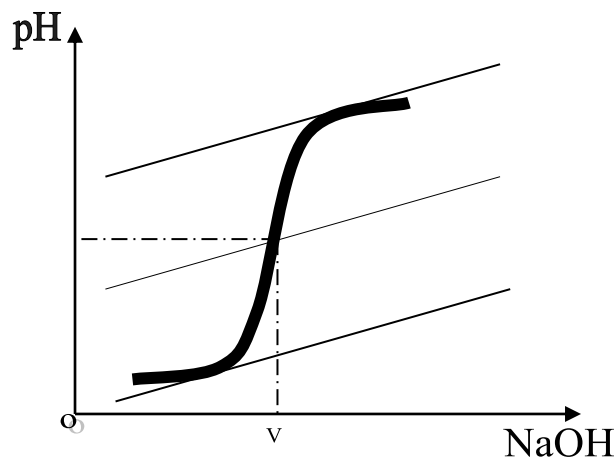


Figure 17 : Courbe de titrage de l'acide gastrique par NaOH.

L'acide chlorhydrique et le NaOH étant respectivement un monoacide et une monobase, leur molarité était égale à leur normalité.

$$N_2 = \frac{N_1 \times V_1}{V_2}$$

N_1 = Normalité de NaOH

V_1 = Volume de NaOH

N_2 = Normalité de l'acide gastrique

V_2 = Volume de l'acide gastrique

II.2.3.9 - Détermination de l'activité de la pepsine dans le suc gastrique

a) Principe

La pepsine en milieu acide hydrolyse les protéines en peptides et en acides aminés. En faisant agir le suc gastrique de chaque rat sur une solution d'albumine (50 mg/mL), la quantité de protéines hydrolysées dans chaque tube était déterminée à l'aide du protocole de dosage de protéines totales de Biuret (Henry *et al.*, 1974).

b) Mode opératoire

Le protocole est le même que celui décrit pour le dosage des protéines totales en II.2.2.2.3.

II.2.4 - EFFETS CURATIFS DE *Eremomastax speciosa* SUR LES ULCÈRES GASTRIQUES CHRONIQUES

II.2.4.1 - Ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique glacial

L'induction des ulcères gastriques chroniques a été réalisée par l'injection de l'acide acétique (30 %) dans la paroi gastrique suivant la méthode décrite par Pillai et Santhakumari en 1984. 30 rats ont été sélectionnés et répartis en 6 lots de 5 rats chacun : 1 lot témoin transversal (rats sacrifiés au 4^e jour après induction des ulcères), 2 lots de rats expérimentaux traités aux doses 200 et 400 mg/kg d'extrait, 1 lot témoin positif, 1 lot de rats normaux et 1 lot témoin longitudinal (rats non traités sacrifiés au 14^e jour après induction des ulcères). Les rats ont été mis à jeûne pendant 24 heures, mais avec accès libre à l'eau. Sous faible anesthésie à l'éther éthylique, les poils du flanc gauche de l'animal ont été rasés et une incision abdominale y a été faite; un volume de 0,05 mL d'acide acétique à 30 % a été injecté dans la paroi stomacale au niveau de la petite courbure. Après avoir nettoyé l'estomac avec du coton imbibé d'une solution de NaCl à 9 ‰, une suture a été réalisée pour fermer l'incision. La Bétadine a été appliquée sur l'incision une à deux fois par jour pour éviter l'infection de la blessure. Les aliments et l'eau de boisson ont été mis à la disposition des rats dès la fin de l'opération. Au quatrième jour après l'induction des ulcères, les 5 rats du lot témoin transversal ont été sacrifiés. 10 mL de formaldéhyde à 2 % ont été injectés dans la lumière stomacale après la ligature des sphincters œsophagien et pylorique. Après 10 minutes, l'estomac a été ouvert le long de la grande courbure et lavé délicatement à l'eau du robinet. La longueur et la largeur de chaque ulcère ont été mesurées et la surface exprimée en mm². Le

mucus déshydraté de chaque rat a été raclé délicatement avec une lame porte objet de microscope (Marhuenda *et al.*, 1993 ; Tan *et al.*, 2000 a). Ce mucus a été pesé à l'aide d'une balance électronique. L'estomac a été prélevé et fixé dans une solution de formaldéhyde à 10 %. Les cinq lots restants, à partir du quatrième jour après l'induction des ulcères, ont été traités quotidiennement par administration *per os* de l'extrait de *E. speciosa* (200 et 400 mg/kg), la ranitidine (50 mg/kg), et l'eau distillée (1 mL/200 g), respectivement, aux deux lots expérimentaux, au lot témoin positif et au lot témoin négatif. Après dix jours de traitement, ces rats ont été sacrifiés et les étapes décrites plus haut ont été suivies pour l'évaluation macromorphologique du degré d'ulcération. Les estomacs ont été fixés dans le formol tamponné à 10 % pour les analyses histologiques dans le but d'apprécier le degré et la profondeur des ulcères au niveau cellulaire.

II.2.4.2 - Réalisation des coupes histologiques

La réalisation des coupes histologiques des zones ulcérées s'est faite suivant les étapes ci-après :

a) Le "trimming" ou recoupe

Les estomacs fixés ont été découpés au niveau de la zone ulcérée suivant un plan transversal et placés dans des cassettes histologiques étiquetées.

b) Déshydratation

La déshydratation comporte 3 étapes : la déshydratation elle-même, l'éclaircissement et l'imprégnation.

- **La déshydratation proprement dite** : les cassettes ont séjourné successivement dans des bains d'éthanol de concentration croissante: 1 bac d'éthanol 50 % (1 h), 1 bac d'éthanol 70 % (1 h), 2 bac d'éthanol 95 % (1 h et 1 h 30 mn) et 3 bac d'éthanol 100 % (1 h, 1 h 30 mn et 2 h).

- **L'éclaircissement** : elle consiste à remplacer la solution de déshydratation par un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. Les cassettes ont séjourné successivement dans deux bains de xylène respectivement pendant 1 heure et 1 heure 30 minutes.

- **L'imprégnation** : elle consiste au remplacement de l'eau des cellules et des tissus par une substance neutre qui durcit les prélèvements (la paraffine), dans le but d'obtenir des coupes fines. Les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné dans trois bains de paraffine à 60 °C pendant respectivement 1 heure, 1 heure 30 minutes et 2 heures.

c) Inclusion

L'inclusion fournit un support externe aux tissus, ce qui permet la réalisation des coupes au microtome. Les tissus ont été placés dans des moules remplis de paraffine en fusion à 60 °C. Ces moules ont été placés sur une plaque réfrigérante (4 °C) pour solidification après orientation appropriée du tissu dans le bloc.

d) Coupes

Les blocs obtenus ont été coupés sur un microtome à volant de marque Leitz wetzlar. Des rubans de coupes de 5 µm d'épaisseur obtenus ont été étalés dans un bain-marie à 40 °C contenant de l'eau gélifiée. Au moyen de lames porte-objet propres et étiquetées, les coupes ont été recueillies et séchées à l'étuve (45 °C) pendant 24 heures.

e) Colorations

Les colorations permettaient de visualiser les constituants cellulaires et tissulaires, en leur faisant capter et fixer des colorants de façon plus ou moins sélective. La technique de coloration à l'hématoxyline-éosine (H & E) a été utilisée. L'hématoxyline, basophile, colore en bleu-violet les composants nucléaires et l'éosine, acidophile, colore les composants cytoplasmiques en rose-rouge. La procédure de coloration s'était déroulée en deux étapes:

- **Déparaffinage et réhydratation** : les coupes ont été déparaffinées et réhydratées respectivement dans une série de bains de xylène et d'alcool de concentrations décroissantes jusqu'à l'eau distillée. Les coupes sont passées dans le xylène (3 x 5 mn), l'éthanol 100 % (3 x 5 mn), l'éthanol 95 % (5 mn), l'éthanol 70 % (5 mn) et l'eau distillée (5 mn).

- **Coloration proprement dite** : les lames contenant les coupes passaient successivement dans les bains d'hématoxyline de Mayer (2 x 5 mn), d'eau de robinet (2 x 5 mn), d'éthanol 70 % (5 mn) et 95 % (5 mn), d'éosine alcoolique 0,5 % (5 mn) et enfin d'eau de robinet (5 mn).

f) Montage

Il permettait de protéger les coupes par une fine lamelle de verre et de les conserver pour les observations microscopiques. Le milieu de montage était de la résine synthétique (le Baume de Canada) non miscible à l'eau, les coupes devaient être déshydratées avant d'être montées. Cette opération a été effectuée en deux étapes: la première consistait en la déshydratation dans trois bains d'alcool absolu (3 x 5 mn) et la deuxième en l'éclaircissement dans trois bains de xylène (3 x 5 mn).

II.2.5 - ÉVALUATIONS ET ANALYSES DES DONNÉES

II.2.5.1 - Scores des ulcères

Le protocole d'attribution des scores aux ulcères gastriques aigus est consigné dans le tableau décrit par Tan *et al.* en 1996.

Tableau IV : Attribution des scores en fonction de la surface ulcérée (Tan *et al.*, 1996).

Surface ulcérée (SU) (mm ²)	Score
SU =0,0	0,0
0,0 < SU ≤ 0,5	1,0
0,5 < SU ≤ 2,5	2,0
2,5 < SU ≤ 5,0	3,0
5,0 < SU ≤ 10,0	4,0
10,0 < SU ≤ 15,0	5,0
15,0 < SU ≤ 20,0	6,0
20,0 < SU ≤ 25,0	7,0
25,0 < SU ≤ 30,0	8,0
30,0 < SU ≤ 35,0	9,0
SU > 35,0	10,0

Les scores attribués aux ulcères gastriques chroniques correspondaient aux surfaces ulcérées exprimées en millimètres carrés (Tan *et al.*, 2000 a).

II.2.5.2 - Indice d'ulcère

L'indice d'ulcère (IU) est le score moyen d'ulcère de chaque traitement plus ou moins l'erreur standard de la moyenne (ESM).

$$IU = \sum_1^n \text{score} \pm \text{ESM}$$

II.2.5.3 - Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition des ulcères (% I) d'un traitement donné est déterminé en fonction du lot témoin selon la formule ci-après:

$$\% I = \frac{\text{Indice d'ulcère du témoin négatif} - \text{indice d'ulcère du test}}{\text{Indice d'ulcère du témoin négatif}} \times 100, \text{ formule décrite par Njar } et al. \text{ en } 1995.$$

II.2.5.4 - Pourcentage de guérison

Le pourcentage de guérison (% G) des ulcères d'un traitement donné est calculé en fonction du lot témoin négatif suivant la formule ci-dessous (Tan *et al.*, 2000 a) :

$$\% G = \frac{\text{Indice d'ulcère du témoin longitudinal} - \text{indice d'ulcère du test}}{\text{Indice d'ulcère du témoin longitudinal}} \times 100$$

II.2.5.5 - Pourcentage de la surface ulcérée

Le pourcentage de la surface ulcérée (% SU) chez un rat est égal au rapport de la surface totale ulcérée sur la valeur moyenne de la surface pyloro-antrale (675 mm²), multiplié par 100.

$$\% SU = \frac{\text{Surface ulcérée totale (mm}^2\text{)}}{675} \times 100, \text{ formule décrite par Tan } \textit{et al.} \text{ en 1997.}$$

II.2.5.6 - Analyse statistique des données

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM). Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Graph Pad InStat (DATASET 2. ISD). L'analyse de la variance (ANOVA) suivie du test non paramétrique de Student-Newman-Keuls a été utilisée pour comparer les moyennes des différents groupes. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

CHAPITRE III : RÉSULTATS

III.1 - SCREENING PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS ET FRACTIONS DE *Eremomastax speciosa*

Les classes de composés sont inégalement réparties dans les différents extraits et fractions de *E. speciosa* (Tableau V). L'extrait aqueux (12) contenait le plus de classes composés (phénol, flavonoïdes, alcaloïdes, tannins, triterpénoïdes, stérols, quinone, anthocyanines, glycosides, résine, protéines et acides aminés), suivi des extraits au méthanol (11) (phénol, flavonoïdes, alcaloïdes, triterpénoïdes, stérols, quinone, coumarine, glycosides, sucre, protéines et acides aminés) et au méthanol/chlorure de méthylène (10) (phénol, flavonoïdes, alcaloïdes, triterpénoïdes, stérols, quinone, coumarine, glycoside, acide et acides aminés), des fractions au chlorure de méthylène (10) (phénol, flavonoïdes, alcaloïdes, triterpénoïdes, stérols, quinone, glycosides, acide, protéines et acides aminés), à l'acétate d'éthyle (8) (flavonoïdes, triterpénoïdes, stérols, quinone, glycosides, acide, protéines et acides aminés), à l'hexane (5) (flavonoïdes, triterpénoïdes, stérols, glycosides et acide) et au méthanol (3) (flavonoïdes, alcaloïdes et coumarine).

Tableau V : Classes de Composés chimiques présentes dans les différents extraits et fractions de *E. speciosa*.

Échantillons Classes de composés	Extrait aqueux	Extrait au CH ₃ OH (E _M)	Extrait au CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂ (E _B)	Extrait épuisé à l'hexane (E _B E _H)	Extrait épuisé à CH ₂ Cl ₂ (E _B E _C)	Extrait épuisé à l'acétate d'éthyle (E _B E _{AC})	Extrait épuisé au CH ₃ OH (E _B E _M)
Phénols	+	+	+	-	+	-	-
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	+	-	+	-	+
Tannins	+	-	-	-	-	-	-
Triterpénoïdes	+	+	+	+	+	+	-
Stérols	+	+	+	+	+	+	-
Saponines	-	-	-	-	-	-	-
Quinones	+	+	+	-	+	+	-
Anthocyanines	+	-	-	-	-	-	-
Coumarine	-	+	+	-	-	-	+
Glycosides	+	+	+	+	+	+	-
Résine	+	-	-	-	-	-	-
Sucres	-	+	-	-	-	-	-
Acides	-	-	+	+	+	+	-
Protéines	+	+	-	-	+	+	-
Acides aminés	+	+	+	-	+	+	-

+: présent; - : Absent

III.2 - EFFETS CYTOPROTECTEURS ET ANTIOXYDANTS DE *Eremomastax speciosa*

III.2.1 - EFFETS CYTOPROTECTEURS DE *Eremomastax speciosa*

III.2.1.1 - Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits par le mélange de HCl/EtOH

Les lésions gastriques qui résultent de l'administration orale de la solution HCl/EtOH se trouvent dans la partie glandulaire de l'estomac et se présentent sous forme de bandes sombres (Figure 18). Ces bandes sont de grandes tailles chez le témoin négatif (Figure 18 A) ; leurs tailles baissent chez les animaux traités aux extraits aqueux et méthanolique à la dose de 100 mg/kg (Figures 18 B et D) pour disparaître complètement chez les animaux traités aux extraits à la dose 200 mg/kg (Figures 18 C et E) et au sucralfate (Figure 18 F).

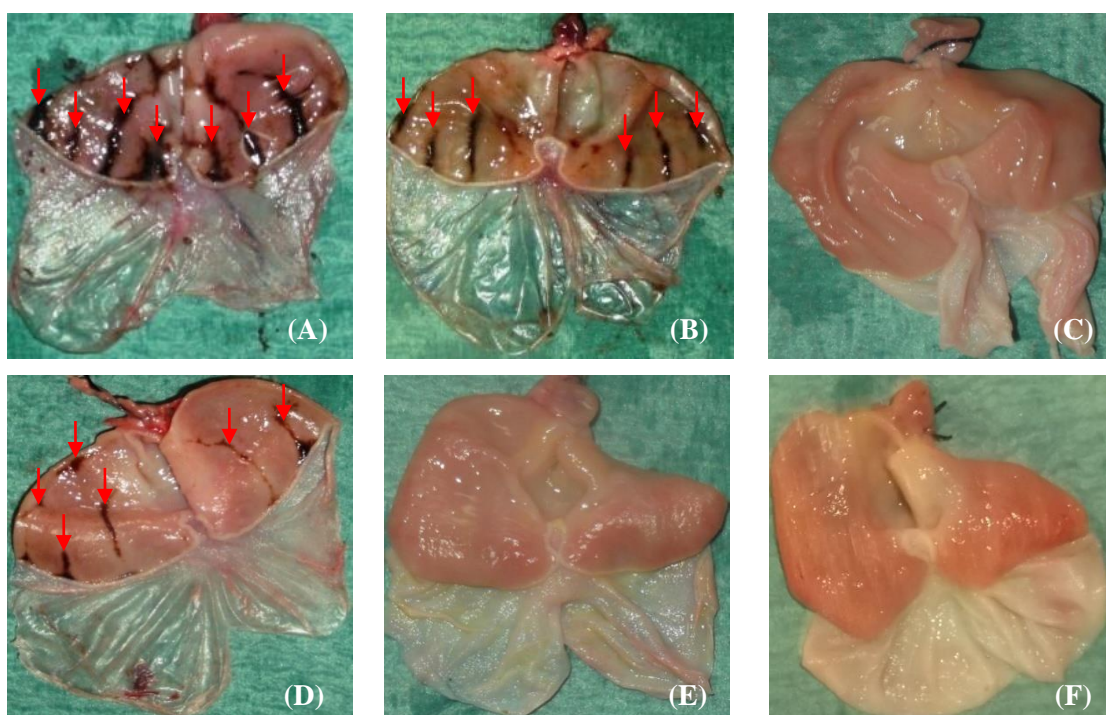


Figure 18 : Effets des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par le mélange de HCl/EtOH.

(A) : témoin négatif ; (B) : 100 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 200 mg/kg de d'extrait aqueux ; (D) : 100 mg/kg d'extrait au méthanol ; (E) : 200 mg/kg d'extrait au méthanol ; (F) : 50 mg/kg de sucralfate ; \rightarrow : indications des lésions gastriques.

Les extraits aqueux et méthanolique de *E. speciosa* ont inhibé de manière significative la formation des lésions gastriques induites par la solution de HCl/EtOH chez les rats. L'extrait

aqueux a produit une inhibition de 44,64 % pour la dose 100 mg/kg et de 100 % pour la dose 200 mg/kg. Pour l'extrait au méthanol, l'inhibition de la formation des lésions est passée de 68,62 à 100 % aux doses de 100 et 200 mg/kg, respectivement. Le sucralfate a prévenu complètement la formation des lésions gastriques de la même manière que la dose 200 mg/kg des deux extraits. La sécrétion du mucus a augmenté de manière significative chez les animaux traités aux extraits par rapport au témoin négatif. La masse du mucus est passée de 263,71 mg chez le témoin négatif à 286,79 et 319,43 mg chez les animaux traités à l'extrait aqueux aux doses de 100 et 200 mg/kg, respectivement. Quant aux animaux traités à l'extrait au méthanol, la sécrétion du mucus a augmenté de 274,81 mg à 331,87 mg aux doses de 100 et 200 mg/kg, respectivement (Tableau VI).

Tableau VI : Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par la solution de HCl/EtOH.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	3,92 ± 0,08	4,01	-	263,71 ± 13,74
Extrait aqueux	100	5	2,17 ± 0,21*	1,51	44,64	286,79 ± 11,06
Extrait aqueux	200	5	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	319,43 ± 12,30*
Extrait au méthanol	100	5	1,23 ± 0,23*	1,09	68,62	274,81 ± 7,48
Extrait au méthanol	200	5	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	331,87 ± 20,10*
Sucralfate	50	5	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	309,99 ± 11,87

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; Les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

III.2.1.2 - Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits par l'éthanol absolu

Les lésions gastriques résultantes de l'induction par l'éthanol absolu sont plus sévères que celles observées pour l'induction par le mélange de HCl/EtOH ; mais avec les mêmes aspects (Figure 19). La longueur des bandes baisse progressive lorsqu'on part du lot témoin négatif (Figure 19 A) aux lots traités aux doses 100 mg/kg de l'extrait au méthanol (Figure 19 D), 200 mg/kg de l'extrait aqueux (Figure 19 B), 50 mg/kg de sucralfate (Figure 19 F), 200 mg/kg de l'extrait au méthanol (Figure 19 E) et 400 mg/kg de l'extrait aqueux (Figure 19 C).

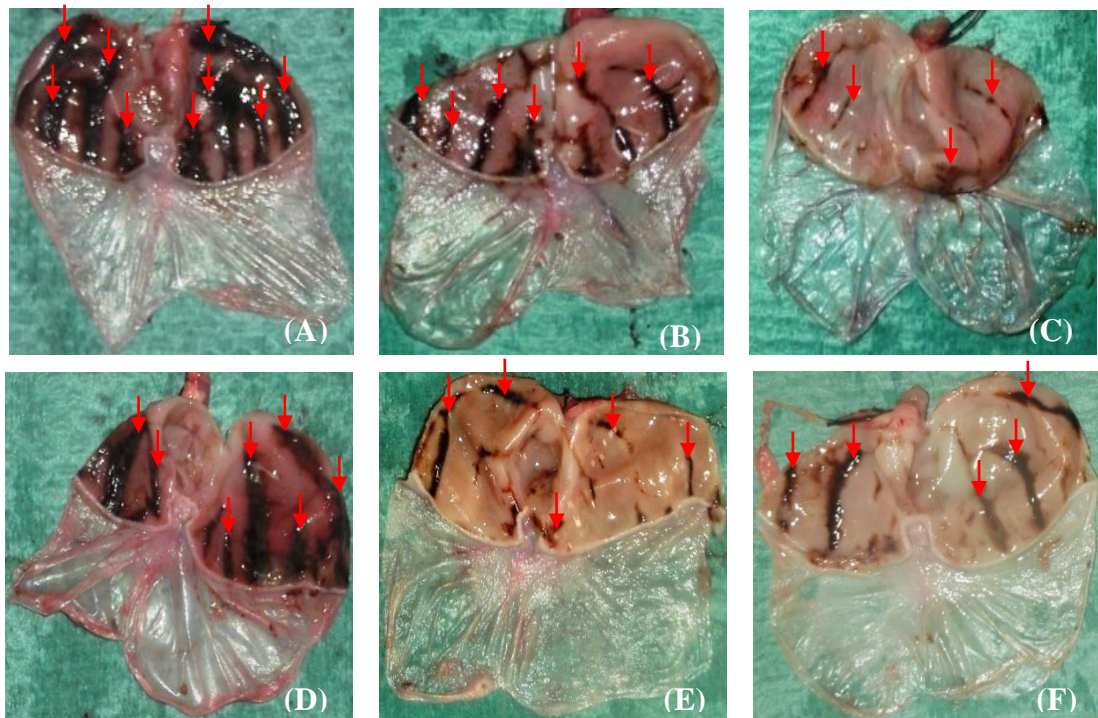


Figure 19 : Effets des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par l'éthanol absolu.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg de d'extrait aqueux ; (D) : 100 mg/kg d'extrait au méthanol ; (E) : 200 mg/kg d'extrait au méthanol ; (F) : 50 mg/kg de sucralfate ; → : indication des lésions gastriques.

Les extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* ont inhibé significativement la formation des lésions gastriques induite par l'éthanol absolu (Tableau VII). Mais cette inhibition a été moins importante que celle observée lors de l'induction par la solution de HCl/EtOH. La dose de 200 mg/kg des extraits aqueux et méthanolique a produit une inhibition de 27,84 et 45,80 %, respectivement, comparée au 100 % d'inhibition obtenu avec la méthode HCl/éthanol pour ces deux extraits. La masse du mucus a connue une augmentation significative à la dose 200 mg/kg pour l'extrait au méthanol ($113,83 \pm 10,35$ mg) et 400 mg/kg pour l'extrait aqueux ($97,33 \pm 8,88$ mg) par rapport au témoin négatif ($49,60 \pm 5,60$ mg).

Tableau VII : Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par l'éthanol absolu.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	4,85 ± 0,62	14,4	-	49,60 ± 5,60
Extrait aqueux	200	5	3,50 ± 0,39	5,30	27,84	70,60 ± 7,35
Extrait aqueux	400	5	2,93 ± 0,18*	3,47	39,59	97,33 ± 8,88**
Extrait au méthanol	100	5	3,78 ± 0,36	6,7	22,06	73,66 ± 6,79
Extrait au méthanol	200	5	2,63 ± 0,55*	3,9	45,80	113,83 ± 10,35**
Sucralfate	50	5	3,48 ± 0,28	4,5	26,60	47,26 ± 7,54

N = nombre de rats, % S.U = pourcentage de la surface ulcérée, % I = pourcentage d'inhibition. Les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

III.2.1.3 - Effets cytoprotecteurs de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits par le stress à l'eau froide

Les lésions gastriques induites par le stress à l'eau froide sont localisées au niveau de la partie glandulaire et se présentent sous forme de tâches sombres (Figure 20). Ces tâches sont abondantes chez le témoin négatif (Figure 20 A). Elles baissent graduellement chez les animaux traités aux doses 200 mg/kg d'extrait aqueux (Figure 20 B), 100 mg/kg d'extrait au méthanol (Figure 20 D), 200 mg/kg d'extrait au méthanol (Figure 20 E), pour disparaître complètement chez les animaux traités aux doses 400 mg/kg d'extrait (Figure 20 C) et 50 mg/kg de cimétidine (Figure 20 F).

Les extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* ont inhibé significativement la formation des ulcères aigus induits par le stress à l'eau froide (Tableau VIII). Les extraits aqueux et méthanolique (200 mg/kg) ont présenté un pourcentage d'inhibition de 37,98 et 80,42, respectivement. Les doses de 400 mg/kg d'extrait aqueux et 50 mg/kg de cimétidine ont présenté une inhibition complète des ulcères gastriques. L'inhibition des lésions gastriques s'est accompagnée d'une augmentation significative de la sécrétion du mucus chez les animaux traités aux extraits.

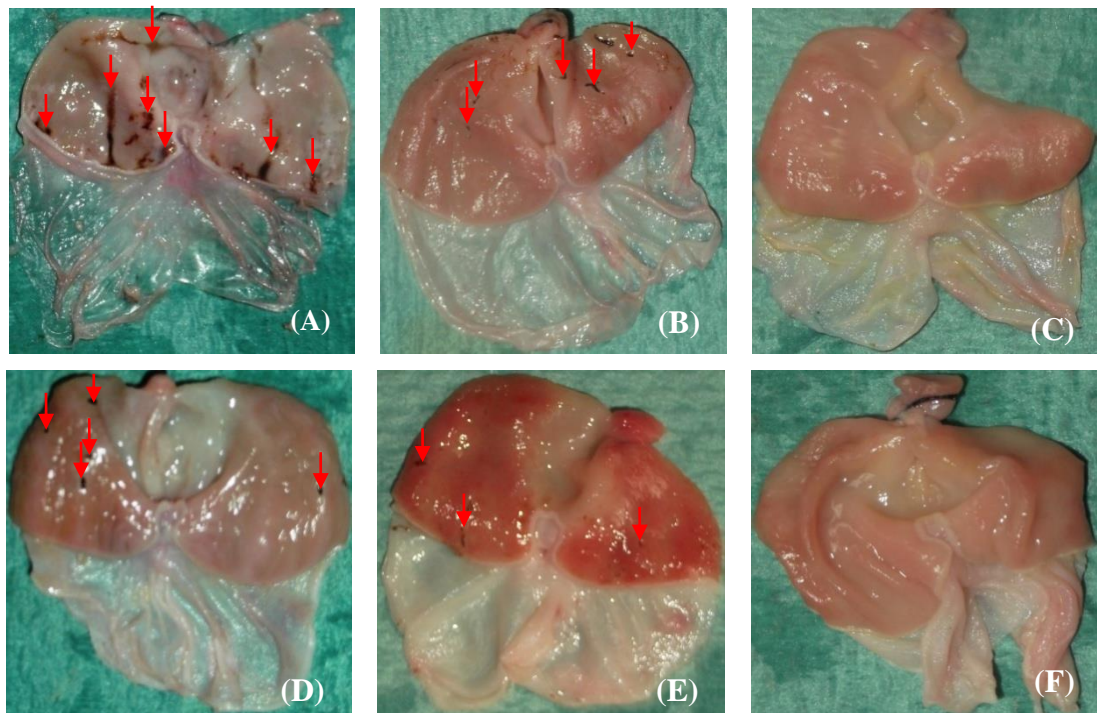


Figure 20 : Effets des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par le stress à l'eau froide.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg de d'extrait aqueux ; (D) : 100 mg/kg d'extrait au méthanol ; (E) : 200 mg/kg d'extrait au méthanol ; (F) : 50 mg/kg de sucralfate ; → : indication des lésions gastriques.

Tableau VIII : Effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par le stress à l'eau froide.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	3,37 ± 0,24	2,19	-	82,75 ± 5,21
Extrait aqueux	200	5	2,09 ± 0,17**	1,07	37,98	114,53 ± 6,05
Extrait aqueux	400	5	0,00 ± 0,0**	0,00	100,00	131,17 ± 11,54**
Extrait au méthanol	100	5	1,16 ± 0,28	0,30	65,58	111,02 ± 14,71*
Extrait au méthanol	200	5	0,66 ± 0,21*	0,02	80,42	146,38 ± 9,50**
Cimétidine	50	5	0,00 ± 0,0**	0,00	100,00	98,06 ± 10,47

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.2.1.4 - Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits par le mélange de HCl/EtOH chez les rats prétraités à l'indométacine

Les lésions gastriques induites par le mélange de HCl/EtOH chez les rats prétraités à l'indométacine, se présentent sous formes de bandes sombres localisées au niveau de la partie glandulaire de l'estomac (Figure 21). Le témoin négatif présente des bandes de plus grande taille (Figure 21 A). La taille de ces bandes baisse progressivement dans les lots traités aux doses de 200 mg/kg d'extrait (Figure 21 B), 50 mg/kg de sucralfate (Figure 21 D) et 400 mg/kg d'extrait (Figure 21 C).

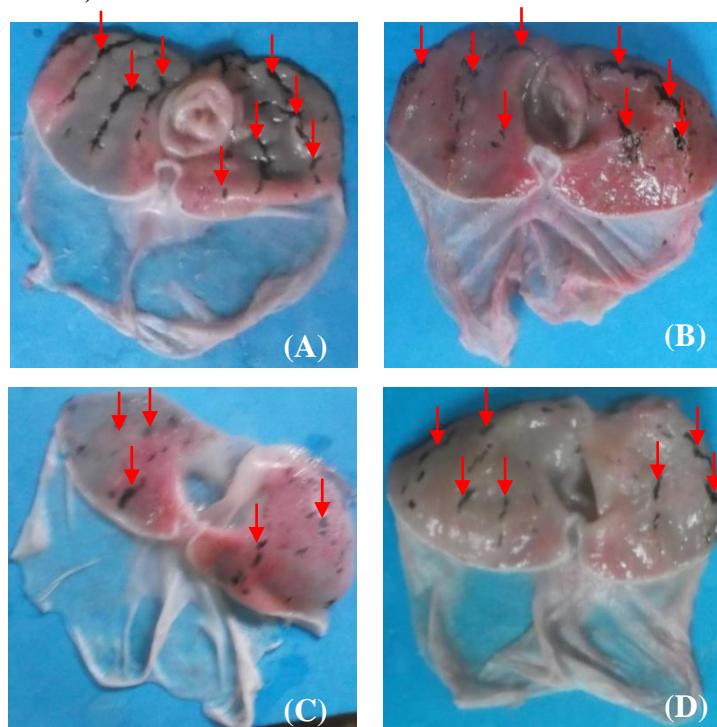


Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par le mélange de HCl/EtOH chez les rats prétraités à l'indométacine.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg de *E. speciosa* ; (C) : 400 mg/kg de *E. speciosa* ; (D) : 50 mg/kg de sucralfate ; → : indications des lésions gastriques.

Le prétraitement à l'indométacine suivi de l'induction des lésions gastriques par le mélange HCl/EtOH a réduit les effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* par rapport à ceux observés lors de l'induction par le mélange de HCl/éthanol sans prétraitement. Le pourcentage d'inhibition est passé de 100 % à 39,63 % à la dose de 200 mg/kg d'extrait, soit une réduction de 60,37 % alors que la production du mucus est passée de 319,43 à 89,35 mg pour la même dose d'extrait, correspondant à une baisse de 72,03 % (Tableau IX).

Tableau IX : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par le HCl/EtOH chez les rats prétraités à l'indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	4,34 ± 0,50	4,59	-	76,03 ± 6,40
Extrait aqueux	200	5	2,62 ± 0,18**	3,38	39,63	89,35 ± 4,34
Extrait aqueux	400	5	1,71 ± 0,43**	1,50	60,60	105,81 ± 8,63**
Sucralfate	50	5	2,52 ± 0,21**	1,13	41,92	70,73 ± 3,30

N = nombre de rats, % S.U = pourcentage de la surface ulcérée, % I = pourcentage d'inhibition. Les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

III.2.1.5 - Effets cytoprotecteurs de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits par l'indométacine

Les lésions gastriques induites par l'indométacine se présentent sous forme de points sombres localisés au niveau de la partie glandulaire de l'estomac. Le nombre et la taille de ces points n'ont pas varié significativement dans les différents groupes (Figure 22).

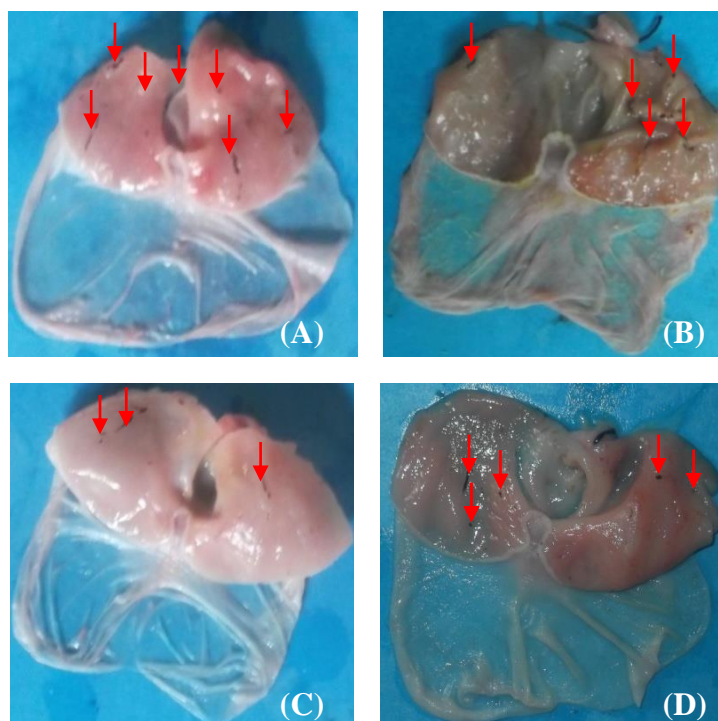


Figure 22 : Effets de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par l'indométacine.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg de *E. speciosa* ; (C) : 400 mg/kg de *E. speciosa* ; (D) : 50 mg/kg de sucralfate ; → : indications des lésions gastriques.

L'extrait aqueux de *E. speciosa* n'a pas présenté des effets cytoprotecteurs significatifs suite à l'induction des lésions gastriques par l'indométacine. L'inhibition de la formation des lésions a été faible aux doses de 200 et 400 mg/kg d'extrait (12,13 et 13,80 %), de même que pour le sucralfate à la dose 50 mg/kg (12,55 %). La sécrétion du mucus n'a pas augmenté de façon significative chez les rats traités à l'extrait et au sucralfate par rapport au témoin négatif (Tableau X).

Tableau X : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par l'indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	11,96 ± 1,22	2,39 ± 0,14	1,77	-	166,43 ± 9,37
Extrait aqueux	200	5	10,30 ± 1,81	2,10 ± 0,05	1,53	12,13	174,90 ± 7,63
Extrait aqueux	400	5	9,50 ± 1,66	2,06 ± 0,09	1,41	13,80	183,35 ± 5,90
Sucralfate	50	5	8,30 ± 1,78	2,09 ± 0,21	1,23	12,55	168,97 ± 4,92

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition. Les valeurs représentent les moyennes ± ESM.

III.2.2 - EFFETS DE *Eremomastax speciosa* SUR QUELQUES PARAMÈTRES DU STRESS OXYDANT

III.2.2.1 - Effets de *Eremomastax speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats ulcérés par le mélange HCl/EtOH

L'extrait au méthanol de *E. speciosa* a entraîné une variation des paramètres du stress oxydant, dans le tissu gastrique, des rats ulcérés par la solution HCl/EtOH. Les taux des antioxydants (SOD, la catalase et le glutathion réduit) ont augmenté de manière significative chez les animaux traités à l'extrait par rapport au témoin négatif. Le taux d'un produit majeur de l'oxydation cellulaire (MDA) a baissé de façon significative chez les animaux traités par rapport au témoin négatif. Ces taux d'antioxydants et de pro-oxydant n'ont pas variés de manière significative entre les rats normaux et ceux traités à l'extrait (Tableau XI).

Tableau XI : Effets de *E. speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats ulcérés par le mélange de HCl/EtOH.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	SOD (U/mg de protéines)	catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	GSH (mol/g de tissu $\times 10^{-4}$)	MDA (mmol/g de tissu $\times 10^{-6}$)
Rats normaux	-	5	12,46 \pm 0,37	10,44 \pm 1,35	9,13 \pm 0,50	10,45 \pm 1,19
Témoin négatif	-	5	9,45 \pm 0,44 ^{ΦΦ}	7,34 \pm 1,40	6,17 \pm 0,39 ^Φ	22,26 \pm 0,89 ^{ΦΦ}
<i>E. speciosa</i>	100	5	10,40 \pm 0,37	12,17 \pm 1,38*	9,09 \pm 1,01*	14,64 \pm 0,74**
<i>E. speciosa</i>	200	5	13,53 \pm 0,41**	16,66 \pm 1,27* ^Φ	9,69 \pm 0,52**	10,91 \pm 1,28**
Sucralfate	50	5	11,37 \pm 0,29**	10,88 \pm 0,66	7,14 \pm 0,37	18,52 \pm 0,77*

Les valeurs du tableau représentent les moyennes \pm ESM. *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif ; ^Φp < 0,05 et ^{ΦΦ}p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport aux rats normaux.

III.2.2.2 - Effets de *Eremomastax speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats ulcérés par l'éthanol absolu

Le traitement par l'extrait au méthanol de *E. speciosa* des rats ulcérés par l'éthanol absolu, a entraîné une augmentation significative des taux de SOD et de catalase par rapport au témoin négatif. Le taux de GSH n'a pas varié significativement dans les différents lots. Le taux de MDA a baissé significativement chez les animaux traités par rapport au témoin négatif (Tableau XII).

Tableau XII : Effets de *E. speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats ulcérés par l'éthanol absolu.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	SOD (U/mg de protéines)	catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	GSH (mol/g de tissu $\times 10^{-4}$)	MDA (mmol/g de tissu $\times 10^{-6}$)
Rats normaux	-	5	10,11 \pm 0,82	9,94 \pm 0,86	6,26 \pm 0,90	2,79 \pm 0,20
Témoin négatif	-	5	5,07 \pm 0,47	5,07 \pm 0,25	4,05 \pm 0,30	6,75 \pm 0,65
<i>E. speciosa</i>	100	5	14,10 \pm 1,70*	6,11 \pm 0,35	6,48 \pm 0,69	4,12 \pm 0,86**
<i>E. speciosa</i>	200	5	21,78 \pm 2,88**	7,82 \pm 0,37*	6,70 \pm 0,50	3,14 \pm 0,63**
Sucralfate	50	5	15,18 \pm 1,89**	6,52 \pm 0,22	5,48 \pm 0,58	5,98 \pm 0,67

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

III.2.2.3 - Effets de *Eremomastax speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydant tissulaire chez les rats ulcérés par le stress à l'eau froide

L'extrait au méthanol de *E. speciosa* a entraîné une augmentation significative des taux des enzymes antioxydantes du tissu gastrique (SOD, Catalase et GSH) et une baisse significative du taux de MDA chez les rats traités par rapport au lot témoin négatif (Tableau XIII).

Tableau XIII : Effets de *E. speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydants tissulaires chez les rats ulcérés par le stress à l'eau froide.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	SOD (U/mg de protéines)	catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	GSH (mol/g de tissu $\times 10^{-4}$)	MDA (mmol/g de tissu $\times 10^{-6}$)
Rats normaux	-	5	8,26 \pm 1,02	5,13 \pm 0,90	6,99 \pm 0,12	3,08 \pm 0,59
Témoin négatif	-	5	5,53 \pm 0,20	3,07 \pm 0,70	6,26 \pm 0,20	4,98 \pm 0,82
<i>E. speciosa</i>	100	5	6,78 \pm 0,17	7,34 \pm 1,20*	10,90 \pm 1,14*	1,20 \pm 0,49*
<i>E. speciosa</i>	200	5	9,99 \pm 1,30*	8,30 \pm 1,40*	13,60 \pm 0,07*	2,10 \pm 0,63*
Cimétidine	50	5	6,31 \pm 0,31	7,01 \pm 1,25*	7,57 \pm 1,12	1,90 \pm 0,52*

Les valeurs représentent les moyennes \pm ESM ; *p < 0,05 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

III.2.2.4- Effets de *Eremomastax speciosa* sur quelques paramètres du stress oxydant chez les rats ulcérés par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine

L'extrait au méthanol de *E. speciosa* a entraîné une variation de certains paramètres du stress oxydant, des rats ulcérés par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine. Il s'agit des taux de superoxyde dismutase, de catalase, de glutathion réduit et de malondialdéhyde présents dans les homogénats d'estomac et les hémolysats (Tableaux XIV et XV).

- **le taux de SOD** est plus élevé dans le lot des rats normaux par rapport à celui des animaux des autres lots. Ce taux a subi une augmentation significative (p < 0,05) dans le lot des animaux traités par l'extrait à la dose de 200 mg/kg par rapport à celui des animaux du lot témoin négatif, mais sans toutefois atteindre le taux de celui des animaux normaux. La variation de ce taux n'a pas été significative entre le tissu gastrique et les membranes des cellules sanguines chez les animaux ayant subis un même traitement ;

- **le taux de catalase** est plus élevé dans le lot des rats normaux par rapport aux autres lots. Il a augmenté de façon significative ($p < 0,05$), uniquement chez les animaux traités à la plus grande dose d'extrait par rapport au lot témoin négatif. Il a été également observé une variation non significative de la concentration de catalase entre les homogénats et hémolysâts pour un même traitement ;

- **le taux du glutathion** a baissé de façon non significative dans le lot témoin négatif et les lots tests par rapport au lot des rats sains. Il a également subi une augmentation non significative chez les animaux traités à l'extrait par rapport au témoin négatif sans toutefois revenir au niveau de celui des rats normaux. Il a cependant subi une variation significative entre les homogénats et hémolysâts pour les animaux d'un même lot ($p < 0,01$) ;

- **le taux de malondialdéhyde** est faible dans le lot des rats sains par rapport à ceux des autres lots. Ce taux a baissé de manière très significative ($p < 0,01$) chez les animaux traités à l'extrait par rapport au témoin négatif, mais n'est pas revenue au niveau de celui des animaux sains. Il a varié de façon significative entre les homogénats et hémolysâts pour les rats ayant subi le même traitement.

Tableau XIV : Effets antioxydants tissulaires de *E. speciosa* chez les rats soumis à la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	SOD (U/mg de protéines)	catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	GSH (mol/g de tissu $\times 10^{-4}$)	MDA (mmol/g de tissu $\times 10^{-6}$)
Rats normaux	-	5	$9,41 \pm 0,53^{**}$	$6,31 \pm 0,68^*$	$6,26 \pm 0,09$	$2,79 \pm 0,2^{**}$
Témoin négatif	-	5	$3,57 \pm 0,40^{\Phi\Phi}$	$3,08 \pm 0,64^{\Phi}$	$4,15 \pm 0,30$	$10,66 \pm 0,85^{\Phi\Phi}$
<i>E. speciosa</i>	100	5	$5,64 \pm 0,36^{\Phi\Phi}$	$3,67 \pm 0,62^{\Phi}$	$4,89 \pm 0,24$	$4,65 \pm 1,25^{**}$
<i>E. speciosa</i>	200	5	$6,97 \pm 0,80^{*\Phi}$	$5,89 \pm 0,55^*$	$5,00 \pm 0,31$	$3,97 \pm 0,68^{**}$
Suralfate	50	5	$5,80 \pm 1,26^{\Phi\Phi}$	$4,09 \pm 0,59$	$7,03 \pm 0,92^{**\Phi}$	$4,40 \pm 0,34^{**}$

N = nombre de rats ; les valeurs du tableau représentent les moyennes \pm ESM ; * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$: différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif ; $^{\Phi}p < 0,05$ et $^{\Phi\Phi}p < 0,01$: différence statistiquement significative par rapport aux rats normaux.

Tableau XV : Effets antioxydants sanguins de *E. speciosa* chez les rats soumis à la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	SOD (U/mg de protéines)	Catalase (μmol de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	GSH (mmol/g de tissu $\times 10^{-3}$)	MDA (mmol/g de tissu $\times 10^{-7}$)
Rats normaux	-	5	$8,36 \pm 0,72^{**}$	$6,07 \pm 0,56^{**}$	$5,76 \pm 0,39^{\Psi\Psi}$	$6,11 \pm 1,14^{**}$
Témoin négatif	-	5	$2,90 \pm 0,58^{\Phi\Phi}$	$2,01 \pm 0,39^{\Phi\Phi}$	$3,74 \pm 0,50^{\Psi\Psi}$	$43,08 \pm 2,82^{\Phi\Phi \Psi\Psi}$
<i>E. speciosa</i>	100	5	$4,45 \pm 0,53^{\Phi\Phi}$	$2,94 \pm 0,74^{\Phi\Phi}$	$4,37 \pm 0,20^{\Psi\Psi}$	$15,27 \pm 1,08^{** \Psi\Psi}$
<i>E. speciosa</i>	200	5	$6,49 \pm 0,38^{** \Phi\Phi}$	$5,25 \pm 0,65^{**}$	$4,47 \pm 0,30^{\Psi\Psi}$	$7,05 \pm 0,49^{** \Psi\Psi}$
Sucralfate	50	5	$4,52 \pm 0,47^{\Phi\Phi}$	$3,38 \pm 0,32^{\Phi\Phi}$	$6,19 \pm 0,30^{\Psi\Psi}$	$8,12 \pm 0,78^{** \Psi\Psi}$

N = nombre de rats ; les valeurs représentent les moyennes \pm ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif ; Φ p < 0,05 et $\Phi\Phi$ p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport aux rats normaux; $\Psi\Psi$ p < 0,01 : différence statistiquement significative entre l'homogénat et l'hémolysât pour un même lot.

III.3 - ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRE DE *Eremomastax speciosa*

III.3.1 - SCREENING DE L'ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRES DE *Eremomastax speciosa*

III.3.1.1 - Effets anti-sécrétoires des extraits et fractions de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques aigus induits par la ligature du pylore

Les lésions gastriques induites par la ligature du pylore se présentent sous forme de points et bandes sombres (Figure 23). Le nombre et la taille de ceux-ci derniers diminuent progressivement lorsqu'on part du témoin négatif (Figure 23 A) au lot traité à l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg (Figure 23 J), en passant par les lots traités à la dose 100 mg/kg des fractions au méthanol (Figure 23 F), à l'acétate d'éthyle (Figure 23 E), au chlorure de méthylène (Figure 23 D), à l'hexane (Figure 23 C), des extraits au méthanol/chlorure de méthylène (Figure 23 B) et aqueux à la dose 100 mg/kg (Figure 23 I), de la cimétidine à la dose 50 mg/kg (Figure 23 K), de la fraction au chlorure de méthylène à la dose 200 mg/kg (Figure 23 G), pour s'annuler complètement à la dose 200 mg/kg de l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène.

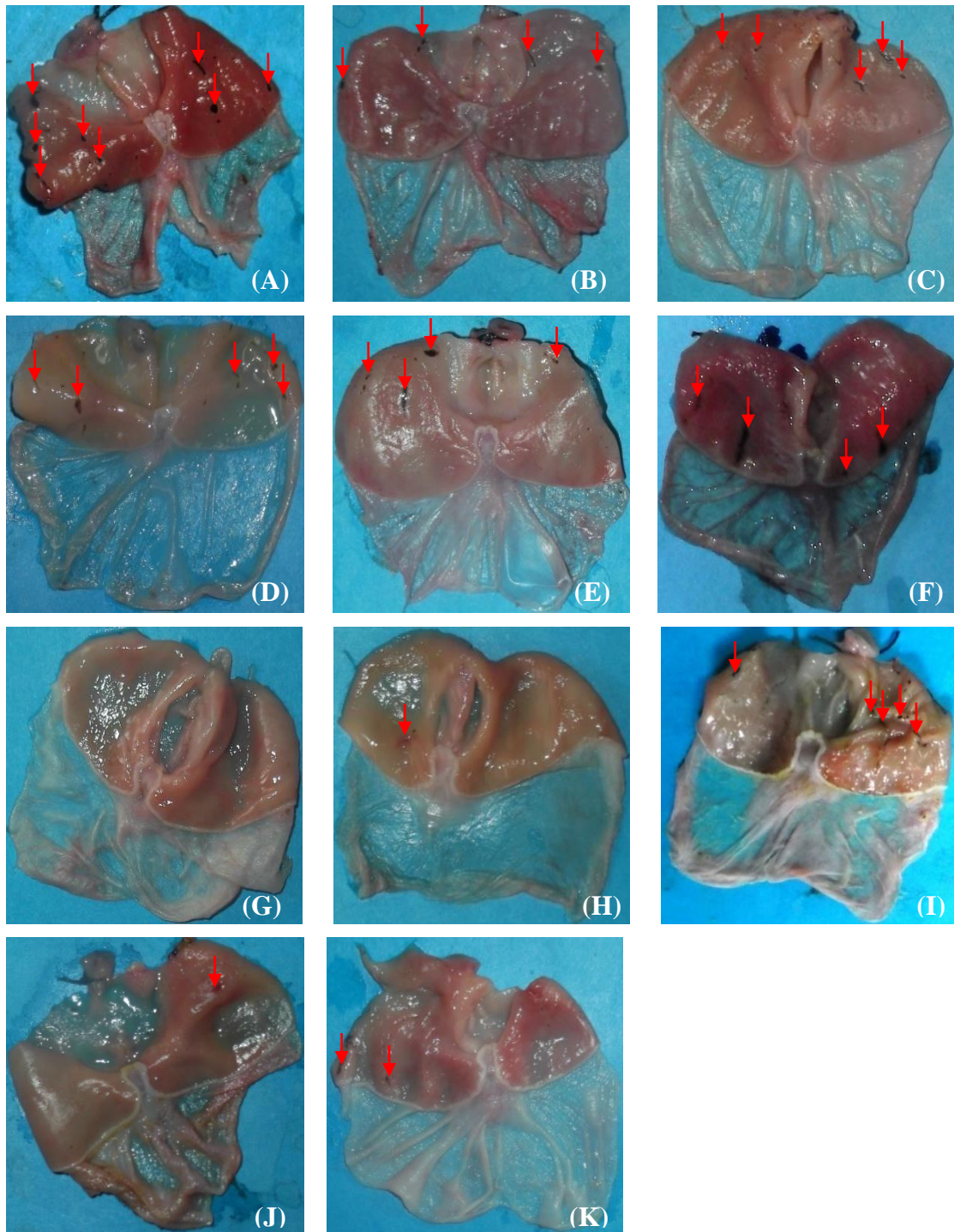


Figure 23 : Effets de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par la ligature du pylore.

(A) : témoin négatif ; (B) : 100 mg/kg d'extrait CH₃OH/CH₂Cl₂ ; (C) : 100 mg/kg de la fraction à l'hexane ; (D) : 100 mg/kg de la fraction CH₂Cl₂ ; (E) : 100 mg/kg de la fraction à l'acétate d'éthyle ; (F) : 100 mg/kg de la fraction CH₃OH ; (G) : 200 mg/kg d'extrait au CH₃OH/CH₂Cl₂ ; (H) : 200 mg/kg de la fraction CH₂Cl₂ ; (I) : 100 mg/kg d'extrait aqueux ; (J) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (K) : 50 mg/kg de cimétidine ; → : indications des lésions gastriques.

Les extraits et fractions de *E. speciosa* ont inhibé la formation des lésions gastriques induites par la ligature du pylore (Tableau XVI). On note une inhibition significative de la formation des ulcères chez les animaux traités à la dose 100 mg/kg d'extrait au méthanol/chlorure de méthylène (% I = 39,43) et sa fraction à l'hexane (I % = 28,60) par rapport au témoin négatif. Il a été observé une inhibition non significative de la formation des ulcères chez les animaux traités à la dose 100 mg/kg des fractions au chlorure de méthylène (% I = 17,53), à l'acétate d'éthyle (I % = 12,37) et au méthanol (% I = 11,60) par rapport au témoin négatif. L'inhibition de la formation des ulcères a été significativement à la dose 200 mg/kg avec les extraits au méthanol/chlorure de méthylène (% I = 100,00), et aqueux (% I = 74,23), et de la fraction au chlorure de méthylène (% I = 66,49) par rapport au témoin négatif. Les extraits et les fractions de *E. speciosa* ont entraîné une augmentation significative de la production du mucus par rapport au témoin négatif, à l'exception des animaux du lot traité à la fraction au chlorure de méthylène à la dose 100 mg/kg.

Tableau XVI : Effets cytoprotecteurs de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par la ligature du pylore.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	20,20 ± 1,08	3,88 ± 0,21	2,99	-	45,04 ± 5,09
Fraction à l'hexane	100	5	10,70±1,46**	2,77±0,16*	1,59	28,60	70,72 ± 2,73**
Fraction à l'acétate d'éthyle	100	5	15,60 ± 0,44*	3,40 ± 0,19	2,31	12,37	60,70 ± 2,83**
Fraction au CH ₃ OH	100	5	16,65 ± 1,02*	3,43 ± 0,16	2,47	11,60	65,87 ± 2,7**
Extrait CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	100	5	9,20 ± 1,03**	2,35±0,05**	1,36	39,43	78,20 ± 3,53**
Extrait au CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	200	5	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	98,47 ± 3,67**
Fraction au CH ₂ Cl ₂	100	5	12,80±1,03**	3,20 ± 0,17	1,90	17,53	51,13 ± 2,95
Fraction au CH ₂ Cl ₂	200	5	1,40 ± 0,53**	1,30 ± 0,37**	0,21	66,49	84,74 ± 6,05**
Extrait aqueux	100	5	16,88±1,06*	1,46 ± 0,06**	2,50	46,10	79,20 ± 3,34**
Extrait aqueux	200	5	1,20±0,46**	1,00 ± 0,27**	1,78	74,23	92,19 ± 3,05**
Cimétidine	50	5	6,70 ± 1,39**	1,60 ± 0,43**	0,99	58,76	87,45 ± 3,76**

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif

Les extraits et fractions de *E. speciosa* ont inhibé les sécrétions gastriques induites par la ligature du pylore (Tableau XVII). On observe, une baisse significative du volume du suc gastrique chez les animaux traités à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène aux doses 100 et 200 mg/kg ($V_{SG} = 2,04$ et $1,81$ mL), à la fraction au chlorure de méthylène aux doses 100 et 200 mg/kg ($V_{SG} = 2,14$ et $1,96$ mL), à l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg ($V_{SG} = 2,10$ mL) et le témoin positif ($V_{SG} = 2,06$ mL) par rapport au témoin négatif ($V_{SG} = 5,07$ mL). Il a été noté une baisse significative de l'acidité gastrique chez les rats traités à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène aux doses 100 et 200 mg/kg (AG = $46,00$ et $38,60$ mEq/L), à la fraction au chlorure de méthylène aux doses 100 et 200 mg/kg (AG = $55,60$ et $43,20$ mL), à l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg ($40,02$ mEq/L) et le témoin positif (AG = $33,40$ mEq/L) par rapport au témoin négatif (AG = $79,40$ mEq/L).

Tableau XVII : Effets des extraits et fractions de *E. speciosa* sur la sécrétion du suc gastrique induite par la ligature du pylore.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (V_{SG}) (mL)	Acidité gastrique (AG) (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	$2,66 \pm 0,15$	$5,07 \pm 0,20$	$79,40 \pm 5,63$	-
Fraction à l'hexane	100	5	$3,45 \pm 0,24^{**}$	$4,54 \pm 0,21$	$64,20 \pm 6,91$	19,14
Fraction à l'acétate d'éthyle	100	5	$2,94 \pm 0,06$	$5,30 \pm 0,26$	$71,60 \pm 4,06$	9,82
Fraction au CH_3OH	100	5	$3,06 \pm 0,13$	$5,16 \pm 0,21$	$67,00 \pm 6,12$	15,62
Extrait au CH_3OH/CH_2Cl_2	100	5	$3,95 \pm 0,16^{**}$	$2,04 \pm 0,29^{**}$	$46,00 \pm 6,33^{**}$	42,07
Extrait au CH_3OH/CH_2Cl_2	200	5	$4,01 \pm 0,17^{**}$	$1,81 \pm 0,13^{**}$	$38,60 \pm 3,90^{**}$	51,39
Fraction au CH_2Cl_2	100	5	$3,54 \pm 0,19^{**}$	$2,14 \pm 0,32^{**}$	$55,60 \pm 6,57^*$	29,97
Fraction au CH_2Cl_2	200	5	$3,94 \pm 0,09^{**}$	$1,96 \pm 0,10^{**}$	$43,20 \pm 3,65^{**}$	45,59
Extrait aqueux	100	5	$3,01 \pm 0,15^*$	$4,70 \pm 0,30$	$63,40 \pm 4,10^{**}$	20,15
Extrait aqueux	200	5	$3,97 \pm 0,13^{**}$	$2,10 \pm 0,17^{**}$	$40,02 \pm 2,56^{**}$	49,60
Cimétidine	50	5	$4,31 \pm 0,15^{**}$	$2,06 \pm 0,28^{**}$	$33,40 \pm 4,32^{**}$	57,93

N = nombre de rats ; les valeurs du tableau représentent les moyennes \pm ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.3.1.2 - Effets anti-sécrétoires de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine

Les ulcères gastriques résultants de la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine sont localisés au niveau de la partie glandulaire de l'estomac. Ils se présentent sous forme de bandes et de points sombres (Figure 24). On observe une réduction progressive du nombre et de la taille de ces bandes et points, lorsqu'on part du lot témoin négatif (Figure 24 A) aux lots traités à l'extrait aux doses 100 et 200 mg/kg (Figures 24 B et C), pour s'annuler complètement chez les animaux traités par le sucralfate (Figure 24 D).

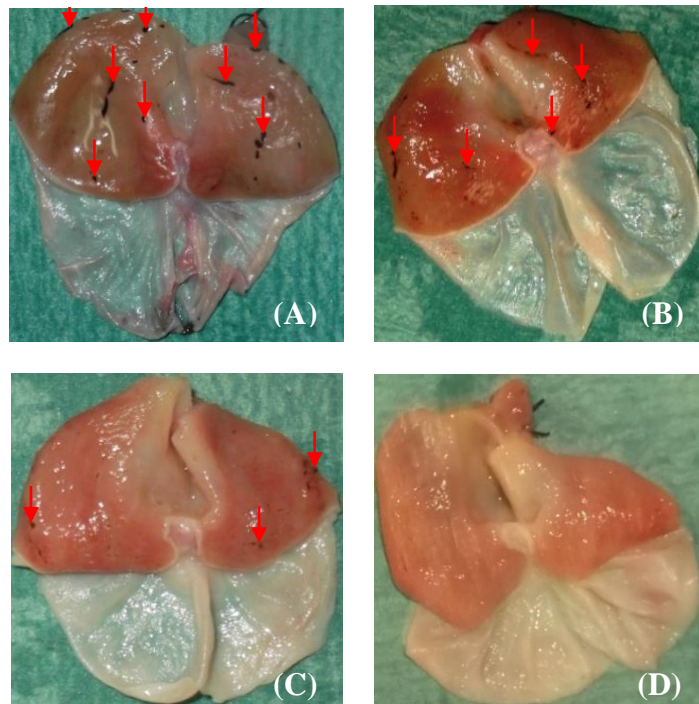


Figure 24 : Effets de *E. speciosa* sur les lésions induites par la ligature du pylore avec prétraitements à l'indométacine.

(A) : témoin négatif ; (B) : 100 mg/kg de *E. speciosa* ; (C) : 200 mg/kg de *E. speciosa* ; (D) : 50 mg/kg de sucralfate ; → : indication des lésions gastriques.

L'administration par voie orale de l'extrait au méthanol de *E. speciosa* aux doses 100 et 200 mg/kg a inhibé de façon significative (% I = 45,26 et 60,00) la formation des lésions gastriques induites par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine par rapport au témoin négatif. L'indice d'ulcère est passé de 3,80 chez le témoin négatif à 2,06 et 1,52 pour les animaux traités aux doses 100 et 200 mg/kg d'extrait au méthanol respectivement. À la dose 50 mg/kg, le sucralfate a inhibé complètement les ulcères gastriques (% I = 100). Cet extrait aux doses 100 mg/kg et 200 mg/kg a aussi augmenté significativement la sécrétion du mucus (189,77 et 201,69 mg) de manière dose-dépendante par rapport à celle du lot témoin

négatif (161,50 mg). Il a été noté une baisse significative de la sécrétion du mucus (98,52 mg) chez les rats traités au sucralfate par rapport à celle du témoin négatif.

Tableau XVIII : Effets cytoprotecteurs de l'extrait au méthanol de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par la ligature du pylore chez les rats prétraités à l'indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Indice d'ulcère	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	3,80 ± 0,33	4,01	-	161,50 ± 7,20
Extrait au méthanol	100	5	2,06 ± 0,08**	1,09	45,26	189,77 ± 4,09*
Extrait au méthanol	200	5	1,52 ± 0,15**	0,49	60,00	201,69 ± 2,78**
Sucralfate	50	5	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	98,52 ± 3,26**

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

Le traitement par l'extrait au méthanol de *E. speciosa* n'a pas entraîné une variation significative du volume du suc gastrique à la suite de l'induction des ulcères par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine. L'acidité gastrique a baissé de façon significative chez les rats traités à l'extrait par rapport au témoin négatif; elle est passée de 51,47 mEq/L chez le contrôle négatif, à 41,45 mEq/L et 28,18 mEq/L chez les animaux ayant reçu l'extrait aux doses de 100 et de 200 mg/kg, respectivement. L'activité de la pepsine n'a pas subi de variation significative dans les différents lots (Tableau XIX).

Tableau XIX : Effets de l'extrait au méthanol de *E. speciosa* sur la sécrétion gastrique induite par la ligature du pylore avec prétraitement à l'indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	Activité de la pepsine (%)
Témoin négatif	-	5	3,49 ± 0,32	4,67 ± 0,33	51,47 ± 1,53	83,97 ± 0,86
Extrait au méthanol	100	5	4,01 ± 0,12	3,75 ± 0,35	41,45 ± 3,24*	84,45 ± 0,98
Extrait au méthanol	200	5	4,34 ± 0,13	3,33 ± 0,26*	28,18 ± 3,04**	82,59 ± 0,58
sucralfate	50	5	4,05 ± 0,28	3,38 ± 0,33*	34,33 ± 2,48**	84,62 ± 0,97

N = nombre de rats; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.3.2 - ACTIVITÉ ANTIHISTAMINIQUES DES EXTRAITS ET FRACTION DE *Eremomastax speciosa*

Les lésions gastriques résultantes de la combinaison de la ligature du pylore à l'histamine, se présentent sous forme de bandes rouges dont la longueur varie d'un traitement à un autre (Figure 25). Le témoin négatif montre les bandes de grande longueur (Figure 25 A) ; celles-ci diminuent progressivement chez les animaux traités à l'extrait aqueux (Figure 25 D), à la fraction au CH₂Cl₂ (Figure 25 C) ; pour s'annuler complètement chez les rats traités à l'extrait au CH₃OH/CH₂Cl₂ (Figure 25 B) et à la cimétidine (Figure 25 E).

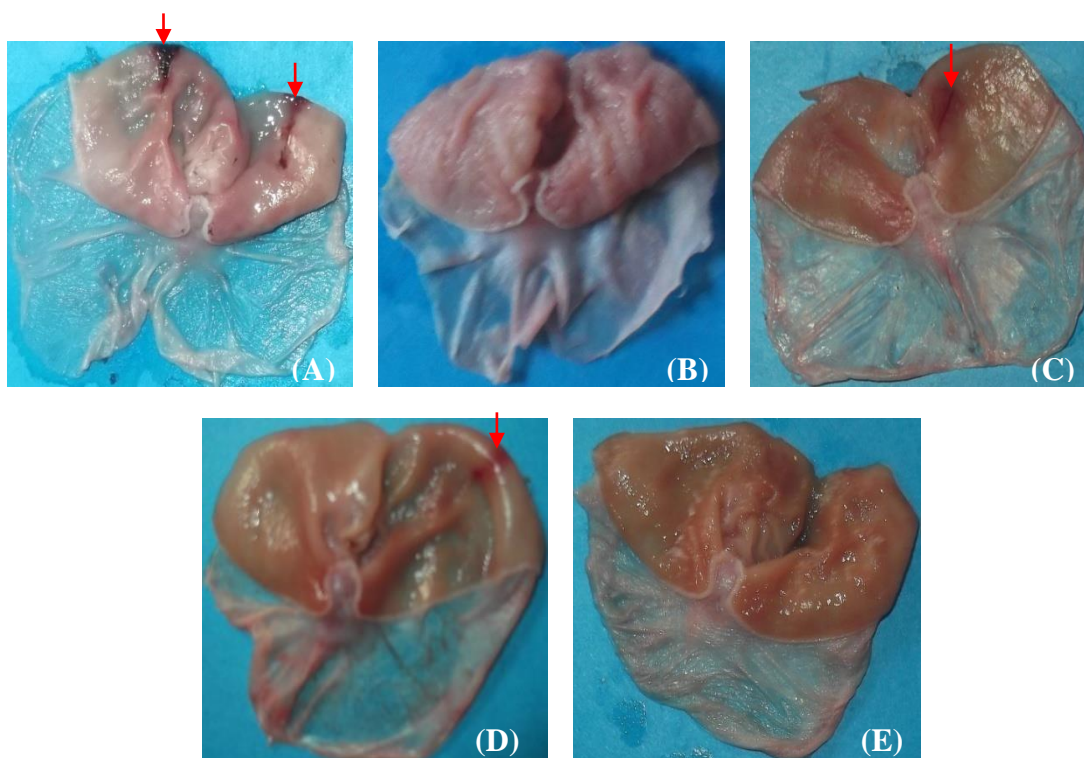


Figure 25 : Effets de l'administration orale de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par l'histamine.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait CH₃OH/CH₂Cl₂ ; (C) : 200 mg/kg de la fraction au CH₂Cl₂ ; (D) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (E) : 100 mg/kg de cimétidine ; → indications des lésions gastriques.

Le traitement par l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène, sa fraction au chlorure de méthylène et l'extrait aqueux de *E. speciosa*, à la dose 200 mg/kg, ont inhibé de façon significative les lésions gastriques induites par la ligature du pylore/histamine par rapport au témoin négatif; cette réduction a été totale pour l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène. Le pourcentage d'inhibition a été de 100 ; 61,89 ; 53,88 ; respectivement, chez les animaux traités à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène, à la fraction au chlorure de méthylène de cet extrait et à l'extrait aqueux. Cette inhibition s'est accompagnée d'une augmentation

significative de la production du mucus chez les animaux traités à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène ($92,13 \pm 2,89$ mg), à la fraction au chlorure de méthylène ($87,32 \pm 6,91$ mg) et à l'extrait aqueux ($85,05 \pm 4,21$ mg) par rapport au témoin négatif ($52,83 \pm 2,96$ mg). Les animaux traités avec la cimétidine ont présenté des résultats similaires à ceux traités avec l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène.

Tableau XX : Effets de l'administration par voie orale des extraits et fraction de *E. speciosa* sur les ulcères induits par l'histamine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	$20,80 \pm 1,60$	$4,12 \pm 0,16$	3,08	-	$52,83 \pm 2,96$
Extrait au CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	200	5	$0,00 \pm 0,00^{**}$	$0,00 \pm 0,00^{**}$	0,00	100,00	$92,13 \pm 2,89^{**}$
Fraction au CH ₂ Cl ₂	200	5	$3,20 \pm 1,46^{**}$	$1,57 \pm 0,65^{**}$	0,47	61,89	$87,32 \pm 6,91^{**}$
Extrait aqueux	200	5	$4,00 \pm 1,17^{**}$	$1,90 \pm 0,29^{**}$	0,59	53,88	$85,05 \pm 4,21^{**}$
Cimétidine	100	5	$0,00 \pm 0,00^{**}$	$0,00 \pm 0,00^{**}$	0,00	100,00	$88,8 \pm 3,62^{**}$

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée, % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes \pm ESM ; $^{**}p < 0,01$: différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

Le volume du suc gastrique et l'acidité gastrique ont connu une baisse significative ($p < 0,01$) dans les différents lots traités par rapport au témoin négatif. Il a été noté une baisse d'acidité gastrique de 54,33; 42,43; 31,79 et 60,00 % chez les animaux traités à l'extrait au CH₃OH/CH₂Cl₂, à la fraction au CH₂Cl₂, à l'extrait aqueux et à la cimétidine, respectivement (Tableau XXI).

Tableau XXI : Effets de l'administration par voie orale des extraits et fraction de *E. speciosa* sur la sécrétion gastrique induite par l'histamine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	$2,37 \pm 0,04$	$6,87 \pm 0,31$	$86,50 \pm 2,98$	-
Extrait au CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	200	5	$4,74 \pm 0,34^{**}$	$3,07 \pm 0,18^{**}$	$39,50 \pm 3,19^{**}$	54,33
Fraction au CH ₂ Cl ₂	200	5	$4,47 \pm 0,27^{**}$	$3,32 \pm 0,38^{**}$	$49,80 \pm 4,14^{**}$	42,43
Extrait aqueux	200	5	$4,33 \pm 0,23^{**}$	$3,50 \pm 0,45^{**}$	$59,00 \pm 4,08^{**}$	31,79
Cimétidine	100	5	$4,96 \pm 0,24^{**}$	$2,28 \pm 0,20^{**}$	$34,60 \pm 3,33^{**}$	60,00

N : nombre de rats ; les valeurs représentent les moyennes \pm ESM ; $^{**}p < 0,01$: différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

III.3.3 - ACTIVITÉ ANTI-CHOLINERGIQUE DES EXTRAITS ET FRACTION DE *Eremomastax speciosa*

Les lésions gastriques induites par la ligature du pylore/carbachol sont localisées au niveau de la partie glandulaire de l'estomac et se présentent sous forme de bandes sombres (Figure 26). La longueur de ces bandes baisse progressivement lorsqu'on part du témoin négatif (Figure 26 A) au lot traité à la ranitidine (Figure 26 E), en passant par les lots traités à la fraction au chlorure de méthylène (Figure 26 C), à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène (Figure 26 B) et à l'extrait aqueux (Figure 26 D).

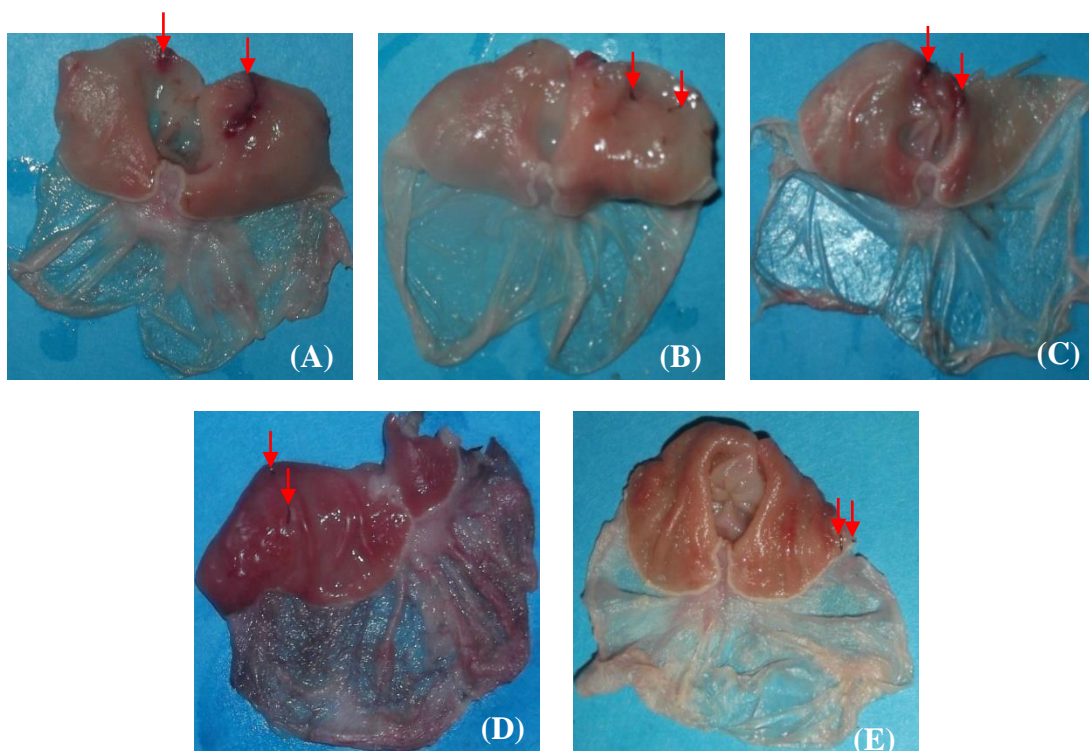


Figure 26 : Effets de l'administration orale de *E. speciosa* sur les lésions induites par la ligature le carbachol.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait au $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (C) : 200 mg/kg de la fraction au CH_2Cl_2 ; (D) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (E) : 100 mg/kg de cimétidine ; \rightarrow : indications des lésions gastriques.

L'administration par voie orale de l'extrait au $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, de la fraction au CH_2Cl_2 et de l'extrait aqueux de *E. speciosa* à dose 200 mg/kg a prévenu de manière significative la formation des lésions gastriques induites par le carbachol par rapport au témoin négatif (Tableau XXII). Le pourcentage d'inhibition des ulcères par la plante a subi une variation par rapport à celui obtenu lors de l'étude de l'activité antihistaminique. Ainsi, ce pourcentage a baissé pour les lots traités à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène (de 100 % à 64,52 %) et à la fraction traitée au chlorure de méthylène (de 61,89 % à 57,07 %). Ce pourcentage a augmenté pour les lots traités à l'extrait aqueux (de 53,88 à 70,22 %). La sécrétion du mucus

a subi une augmentation significative chez les animaux traités par *E. speciosa* par rapport au témoin négatif. Toutefois cette sécrétion est inférieure à celle obtenue lors de l'étude de l'activité antihistaminique.

Tableau XXII : Effets de l'administration *per os* des extraits et fraction de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par le carbachol.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	19,20 ± 1,56	4,03 ± 0,13	2,84	-	49,34 ± 3,20
Extrait au CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	200	5	2,70 ± 0,80**	1,43±0,37**	0,40	64,52	78,82 ± 3,64**
Fraction au CH ₂ Cl ₂	200	5	3,30 ± 0,97**	1,73 ± 0,50**	0,49	57,07	76,08 ± 2,83**
Extrait aqueux	200	5	2,20 ± 0,75**	1,20 ± 0,34**	0,33	70,22	79,19 ± 3,66**
Ranitidine	50	5	2,10 ± 0,91**	1,10 ± 0,46**	0,31	72,71	69,42 ± 3,42*

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

Le traitement par l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène, la fraction au chlorure de méthylène et l'extrait aqueux (200 mg/kg) ont baissé significativement la sécrétion gastrique d'acide induite par le carbachol par rapport au témoin négatif (Tableau XXIII). Cette baisse de l'acidité gastrique a été moins importante que celle observée après induction des ulcères avec l'histamine pour les lots traités à l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène (de 54,00 à 39,50 mEq/L) et à la fraction au chlorure de méthylène (de 59,80 à 49,80 mEq/L) ; Elle est plus significative pour le groupe traité avec l'extrait aqueux (de 50,00 à 59,00 mEq/L).

Tableau XXIII : Effets de l'administration *per os* des extraits et fraction de *E. speciosa* sur la sécrétion gastrique induite par le carbachol.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	2,59 ± 0,04	6,89 ± 0,22	84,80 ± 3,57	-
Extrait au CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	200	5	4,35 ± 0,12**	3,57 ± 0,30**	54,00 ± 4,30**	36,32
Fraction au CH ₂ Cl ₂	200	5	4,12 ± 0,14**	3,71 ± 0,25**	59,80 ± 4,49**	29,48
Extrait aqueux	200	5	4,24 ± 0,22**	3,99 ± 0,27**	50,00 ± 4,26**	41,04
Ranitidine	50	5	5,48 ± 0,17**	2,76 ± 0,37**	39,00 ± 5,34**	54,01

N : nombre de rats ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.3.4 - EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *Eremomastax speciosa* SUR L'HYPERSECRETION GASTRIQUE INDUITE PAR L'ADMINISTRATION REPETEE D'HISTAMINE "AUGMENTED HISTAMINE TEST"

Les lésions gastriques résultantes de l'administration répétée d'histamine se présentent sous forme de bandes rouges et sont localisées au niveau de la partie glandulaire de l'estomac (Figure 27). La taille de ces bandes baisse significativement chez les animaux traités à l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg (Figure 27 B) par rapport au témoin négatif (Figure 27 A). Ces bandes disparaissent complètement chez les animaux traités à la dose 400 mg/kg de cet extrait (Figure 27 C) et 100 mg/kg de ranitidine (Figure 27 D).

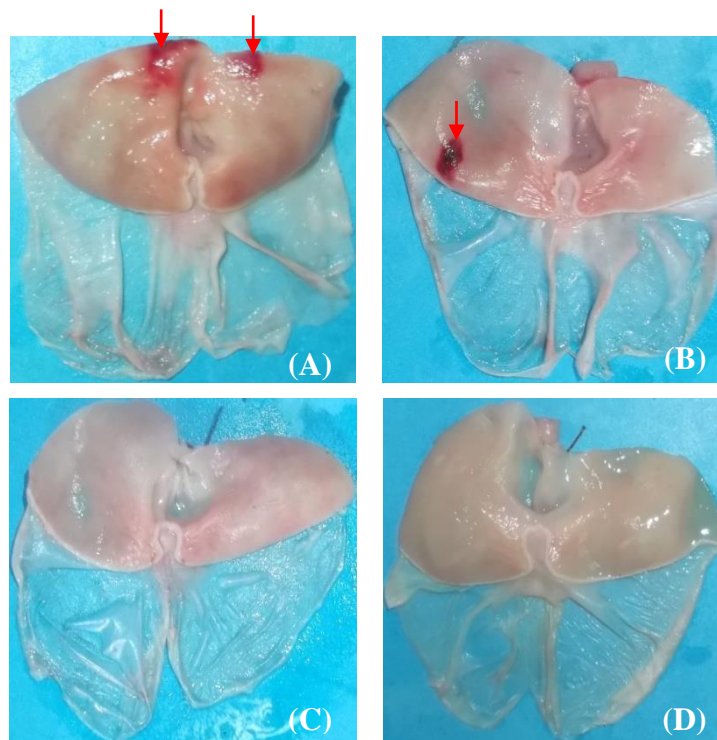


Figure 27 : Effets de l'administration orale de *E. speciosa* sur les lésions induites par l'administration répétée d'histamine.

(A) : Témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg d'extrait aqueux ; (D) : 100 mg/kg de ranitidine ; → : indications des lésions gastriques.

Le traitement *per os* par l'extrait aqueux de *E. speciosa* aux doses 200 et 400 mg/kg a prevenu significativement la formation des lésions gastriques induites par l'administration répétée d'histamine par rapport au témoin négatif (Tableau XXIV). Cette prévention a été totale à la dose 400 mg/kg de cet extrait et à 100 mg/kg de ranitidine. Le pourcentage d'inhibition a été plus faible à la dose 200 mg/kg d'extrait aqueux chez les animaux soumis aux injections répétées d'histamine (% I = 47,58) que celui des animaux soumis à la ligature

et histamine (% I = 53,88). La sécrétion du mucus a augmenté significativement aux doses 200 et 400 mg/kg par rapport au témoin négatif.

Tableau XXIV : Effets de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques induits par l'administration répétée d'histamine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	22,20 ± 1,88	4,33 ± 0,17	3,29	-	52,84 ± 2,42
Extrait aqueux	200	5	7,60 ± 0,97**	2,27 ± 0,19**	1,13	47,58	82,20 ± 2,82**
Extrait aqueux	400	5	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,0**	0,00	100,00	96,51 ± 3,12**
Ranitidine	100	5	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	73,21 ± 2,43**

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

L'extrait aqueux de *E. speciosa* a baissé de façon significative la sécrétion du suc gastrique induite par l'administration répétée d'histamine par rapport au témoin négatif (Tableau XXV). Cette baisse de la sécrétion a été corrélée par une baisse de l'acidité dans le même sens. Le pourcentage de réduction de l'acidité (41,69) est plus élevé à la dose 200 mg/kg d'extrait aqueux, que celui obtenu à la même dose pour l'induction des ulcères par ligature du pylore et l'histamine (31,79).

Tableau XXV : Effets de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur l'hypersécrétion gastrique induite par l'administration répétée d'histamine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	2,29 ± 0,06	7,42 ± 0,26	90,20 ± 2,71	-
Extrait aqueux	200	5	3,99 ± 0,16**	3,76 ± 0,26**	52,60 ± 2,96**	41,69
Extrait aqueux	400	5	4,65 ± 0,10**	2,20 ± 0,27**	27,50 ± 1,29**	69,51
Ranitidine	50	5	5,02 ± 0,17**	2,06 ± 0,18**	19,20 ± 1,68**	78,71

N : nombre de rats ; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.3.5 - ÉTUDE DE LA VOIE D'ACTION ANTI-SÉCRÉTOIRE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *Eremomastax speciosa*

III.3.5.1 - Effets de l'administration intra-duodénale de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastrique induits par l'histamine

Les lésions gastriques induites par l'histamine se localisent au niveau de la partie glandulaire de l'estomac et se présentent sous forme de bandes rouges (Figure 28). Le plus grand nombre de bandes a été observé chez les animaux du lot témoin négatif (Figure 28 A). Ce nombre a baissé significativement chez les animaux traités à l'extrait à la dose 200 mg/kg (Figure 28 B) pour s'annuler complètement chez les animaux traités à l'extrait à la dose 400 mg/kg (Figure 28 C).

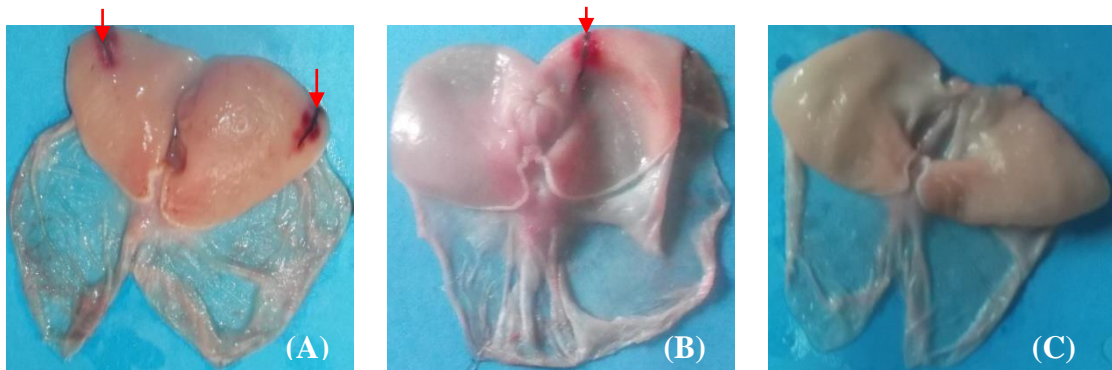


Figure 28 : Effets de l'administration intra-duodénale de *E. speciosa* sur les lésions gastrique induites par l'histamine.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg d'extrait aqueux ; → : indications des lésions gastriques.

L'administration par voie duodénale de l'extrait aqueux de *E. speciosa* a prévenu la formation des lésions gastriques induites par l'histamine de façon significative par rapport au témoin négatif (Tableau XXVI). Cette prévention a été totale à la dose 400 mg/kg d'extrait. Cependant à la dose 200 mg/kg d'extrait aqueux, cette voie d'administration a présenté des effets cytoprotecteurs moins importants que ceux observés lors de l'administration par voie orale. Quant à la sécrétion du mucus, elle a varié dans le même sens que celle de l'administration de l'extrait par voie orale.

Tableau XXVI : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* administré par voie duodénale sur les ulcères gastriques induits par l'histamine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	20,40 ± 0,93	4,07 ± 0,22	3,02	-	59,06 ± 2,30
Extrait aqueux	200	5	9,70 ± 1,02**	2,40 ± 0,19**	1,44	41,03	84,82 ± 2,69**
Extrait aqueux	400	5	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	101,69 ± 3,89**

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistiquement significative par rapport au témoin négatif.

L'hypersécrétion gastrique induite par l'histamine a varié dans le même sens pour les deux voies d'administration (orale et duodénale) de l'extrait aqueux de *E. speciosa* (Tableau XXVII). Le volume du suc gastrique est passé de 3,50 à 4,54 mL, respectivement chez les animaux traités par voie orale et par voie duodénale à 200 mg/kg. L'acidité gastrique a baissé de 59,00 à 54,60 mEq/L, respectivement chez les animaux traités par voie orale et par voie duodénale à la même dose (Tableaux XXI et XXVII).

Tableau XXVII : Effets de l'administration intra-duodénale de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur la sécrétion gastrique induite par l'histamine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	2,50 ± 0,04	6,64 ± 0,24	88,30 ± 3,56	-
Extrait aqueux	200	5	4,01 ± 0,16**	4,54 ± 0,21**	54,60 ± 2,70**	38,17
Extrait aqueux	400	5	4,83 ± 0,11**	2,54 ± 0,13**	28,50 ± 1,30**	67,72

N = nombre de rats ; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.3.5.2 - Effets de l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa* administré par voie duodénale sur les ulcères gastriques induits par le carbachol

Les lésions gastriques induites par le carbachol se présentent sous forme de bandes (Figure 29). La plus grande surface ulcérée est observée chez le lot témoin négatif (Figure 29 A); celle-ci baisse chez les animaux traités à l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg (Figure 29 B), pour s'annuler complètement à la dose 400 mg/kg (Figure 29 C).

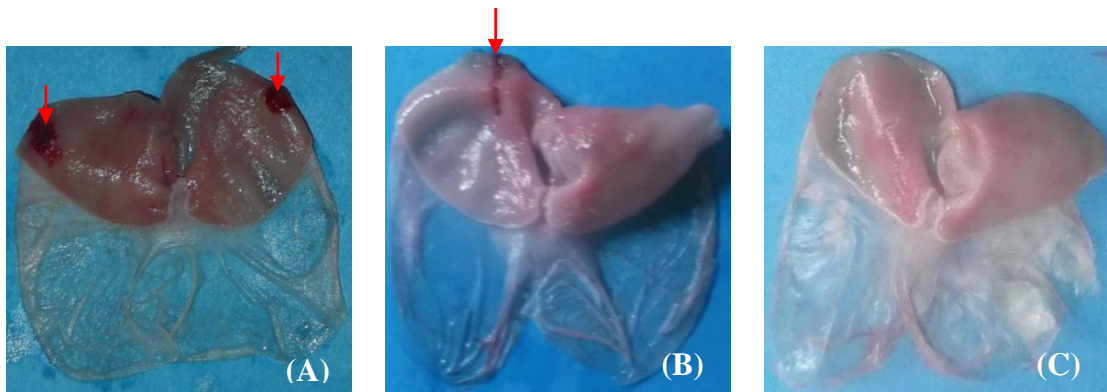


Figure 29 : Effets de l'administration intra-duodénale de *E. speciosa* sur les lésions gastrique induites par le carbachol.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg d'extrait aqueux ; → : indications des lésions gastriques.

L'administration intra-duodénale de l'extrait aqueux de *E. speciosa* a produit des effets cytoprotecteurs sur les lésions gastriques induites par le carbachol (tableau XXVIII). Ces effets varient dans le même sens que ceux observés lors de l'administration par voie orale (Tableaux XXII et XXVIII). Il est cependant à noter que le pourcentage d'inhibition est plus faible pour l'administration intra-duodénale (% I = 48,21) que celui de l'administration *per os* (% I = 70,22) à la dose 200 mg/kg d'extrait aqueux.

Tableau XXVIII : Effets cytoprotecteurs de l'administration de l'extrait aqueux de *E. speciosa* par voie duodénale sur les ulcères gastriques induits par le carbachol.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	18,10 ± 1,10	3,90 ± 0,19	2,68	-	56,36 ± 3,35
Extrait aqueux	200	5	6,20 ± 0,86**	2,02 ± 0,20**	0,92	48,21	77,60 ± 2,78**
Extrait aqueux	400	5	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,00**	0,00	100,00	103,20 ± 3,19**

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

Le traitement intra-duodéal à l'extrait de *E. speciosa*, lors de l'induction de l'hypersécrétion par le carbachol, a provoqué une diminution significative du volume et de l'acidité du suc gastrique par rapport au témoin négatif (Tableau XXIX).

Tableau XXIX : Effets de l'administration intra-duodénale de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur la sécrétion gastrique induite par le carbachol.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	2,72 ± 0,07	6,71 ± 0,11	85,50 ± 2,31	-
Extrait aqueux	200	5	4,15 ± 0,12**	3,97 ± 0,25**	51,40 ± 3,97**	39,88
Extrait aqueux	400	5	5,26 ± 0,12**	2,37 ± 0,15**	28,80 ± 1,30**	66,32

N = nombre de rats ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

III.3.6 - EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *Eremomastax speciosa* SUR LES ULCÈRES INDUITS PAR UNE COMBINAISON CARBACHOL/INDOMÉTACINE

III.3.6.1 - Effets de l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa* administré par voie orale

Les lésions gastriques induites par le carbachol/indométacine varient en fonction du traitement (Figure 30). Les animaux traités avec l'eau distillée ont montré le niveau d'ulcération le plus important (Figure 30 A) ; celui-ci a baissé progressivement chez les animaux traités à l'extrait aux doses 200 et 400 mg/kg (Figures 30 B et C), et à la ranitidine (Figure 30 D).

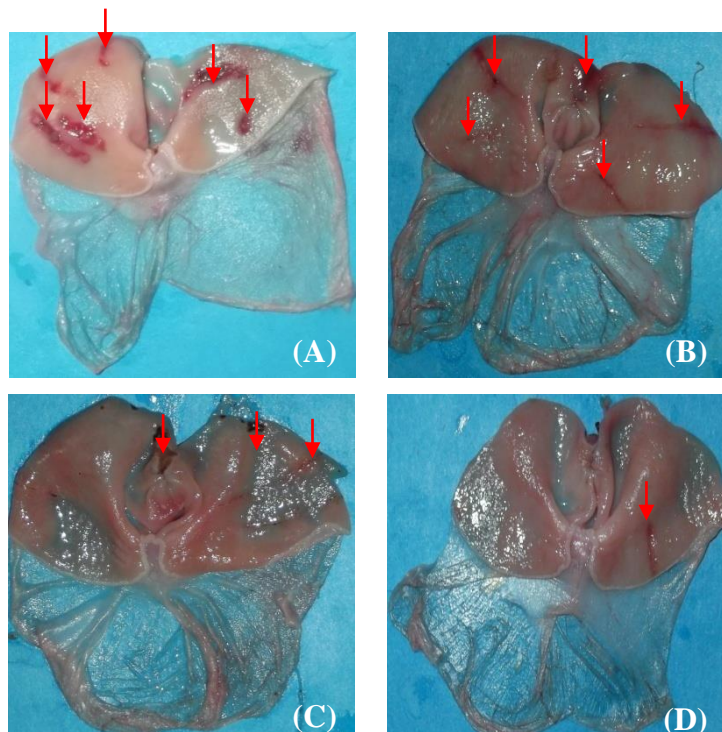


Figure 30 : Effets de l'administration par voie orale de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par le carbachol/indométacine.

(A) : témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg d'extrait aqueux ; (D) : 100 mg/kg de ranitidine ; → : indications des lésions gastriques.

Tableau XXX : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* administré *per os* sur les ulcères induits par le carbachol/indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	25,10 ± 3,10	4,13 ± 0,21	3,72	-	38,87 ± 4,59
Extrait aqueux	200	5	17,80 ± 3,07	3,10 ± 0,25 **	2,64	24,94	60,63 ± 5,67*
Extrait aqueux	400	5	10,40 ± 2,79**	2,31 ± 0,13**	1,54	44,07	74,01 ± 6,90**
Ranitidine	100	5	9,60 ± 2,16**	2,03 ± 0,20**	1,42	50,85	49,02 ± 5,31

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

Le traitement *per os* à l'extrait de *E. speciosa* a réduit de façon significative l'hypersécrétion induite par le carbachol/indométacine en comparaison à celle du témoin négatif (Tableau XXXI).

Tableau XXXI : Effets de l'administration *per os* de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur la sécrétion gastrique après induction des ulcères par le carbachol/indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	2,64 ± 0,15	7,32 ± 0,26	92,10 ± 4,39	-
Extrait aqueux	200	5	3,96 ± 0,08**	5,14 ± 0,29**	59,50 ± 4,36**	35,39
Extrait aqueux	400	5	4,77 ± 0,07**	4,16 ± 0,31**	44,00 ± 4,08**	52,22
Ranitidine	100	5	5,09 ± 0,25**	3,64 ± 0,30**	35,05 ± 3,03**	61,45

N = nombre de rats ; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,05 : différence statistique extrêmement significative par rapport au témoin négatif.

III.3.6.2 - Effets de l'extrait aqueux de *E. speciosa* administré par voie duodénale

Le niveau d'ulcération induit par le carbachol/indométacine varie en fonction du traitement (Figure 31). Le plus grand niveau d'ulcération est observé chez le témoin négatif (Figure 31 A), le plus petit niveau chez les animaux traités à la plus grande dose d'extrait (Figure 31 C) et le niveau intermédiaire chez les animaux traités à la plus petite dose (Figure 31 B).

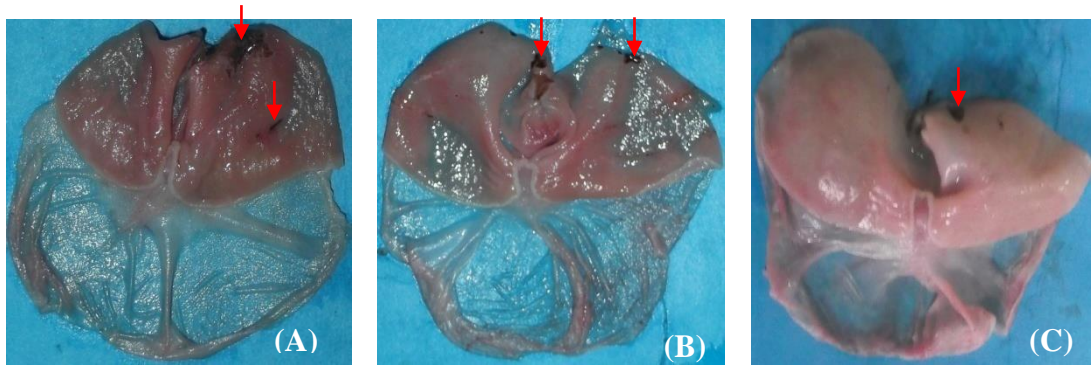


Figure 31 : Effets de l'administration par voie duodénale de *E. speciosa* sur les lésions gastriques induites par le carbachol/indométacine.

(A) : Témoin négatif ; (B) : 200 mg/kg d'extrait aqueux ; (C) : 400 mg/kg d'extrait aqueux ; → : indications des lésions gastriques.

L'extrait aqueux de *E. speciosa* administré par voie duodénale a prévenu de façon significative la formation des lésions gastriques induites par le carbachol/indométacine (Tableau XXXII). Ces effets préventifs vont dans le même sens que ceux obtenus à la suite de l'administration de l'extrait par voie orale (Tableau XXX).

Tableau XXXII : Effets cytoprotecteurs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* administré par voie duodénale sur les ulcères induits par le carbachol/indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Surface ulcérée (mm ²)	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% I	Masse du mucus (mg)
Témoin négatif	-	5	20,30 ± 1,59	3,80 ± 0,13	3,01	-	44,39 ± 4,82
Extrait aqueux	200	5	15,10 ± 2,28	2,68 ± 0,23**	2,24	29,47	59,43 ± 4,45
Extrait aqueux	400	5	8,50 ± 1,14**	2,40 ± 0,10**	1,24	36,84	66,73 ± 5,44*

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % I = pourcentage d'inhibition; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif.

La sécrétion du suc gastrique et son contenu en acide ont varié dans le même sens suite à l'administration de l'extrait aqueux de *E. speciosa* par voie orale et par voie duodénale (Tableaux XXXI et XXXIII). Cependant à la dose 400 mg/kg de cet extrait, la réduction de l'acidité gastrique a été plus importante chez les animaux traités par voie duodénale (61,02 %), que celui des animaux traités par voie orale (52,22 %).

Tableau XXXIII : Effets de l'administration de l'extrait aqueux de *E. speciosa* par voie duodénale sur la sécrétion gastrique induite par le carbachol/indométacine.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	pH gastrique	Volume du suc gastrique (mL)	Acidité gastrique (mEq/L)	% Réduction de l'acidité gastrique
Témoin négatif	-	5	2,72 ± 0,11	6,91 ± 0,15	88,50 ± 5,10	-
Extrait aqueux	200	5	4,02 ± 0,12**	5,02 ± 0,42**	60,50 ± 4,36**	31,64
Extrait aqueux	400	5	4,60 ± 0,15**	4,48 ± 0,25**	34,50 ± 3,57**	61,02

N = nombre de rats ; les valeurs représentent les moyennes ± ESM ; **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin négatif..

III.4. - EFFETS CURATIFS DE *Eremomastax speciosa*

III.4.1 - EFFETS CURATIFS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *Eremomastax speciosa* SUR LES ULCÈRES GASTRIQUES CHRONIQUES

Le traitement avec l'eau distillée, pendant 10 jours, des ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique, a entraîné le passage de l'indice d'ulcère de 53,80 chez le témoin transversal (rats sacrifiés 4 jours après l'induction) à 29,60 chez le témoin longitudinal (rats traités pendant 10 jours avec l'eau distillée); soit une auto-guérison de 44,98 %. Le traitement avec l'extrait aux doses 200 et 400 mg/kg, pendant 10 jours, a entraîné une baisse significative de l'indice d'ulcère à 13,20 et à 6,60 par rapport témoin longitudinal (29,60) ; ce qui correspond à une guérison de 55,40 et 77,70 %, respectivement. Cette guérison s'est accompagnée d'une augmentation significative de la sécrétion du mucus qui est passé de 52,83 mg chez le témoin longitudinal, à 78,45 et à 91,13 mg chez les animaux traités avec l'extrait aux doses 200 et 400 mg/kg, respectivement. Quant aux rats traités avec la ranitidine, la baisse significative de l'indice d'ulcère (IU = 4,60) s'est accompagnée d'une augmentation non significative de la production de mucus (68,09 mg) par rapport au témoin longitudinal (52,83 mg). La ranitidine a entraîné un pourcentage de guérison de 84,46, qui est plus important que celui obtenu avec la plus grande dose d'extrait (Tableau XXXIV).

Tableau XXXIV : Effets curatifs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique.

Traitement	Dose (mg/kg)	N	Indice d'ulcère (IU)	% S.U	% G	Masse du mucus (mg)
Rats normaux	-	5	-	-	-	80,73 ± 3,91*
Témoin transversal	-	5	53,80 ± 9,09**	7,97	-	66,92 ± 5,22
Témoin longitudinal	-	5	29,60 ± 4,16	4,39	44,98 (% AG)	52,83 ± 4,79
Extrait aqueux	200	5	13,20 ± 2,15*	1,96	55,40	78,45 ± 6,47*
Extrait aqueux	400	5	6,60 ± 1,03**	0,98	77,70	91,13 ± 8,40**
Ranitidine	50	5	4,60 ± 1,08**	0,68	84,46	68,09 ± 4,88

N = nombre de rats ; % S.U = pourcentage de la surface ulcérée ; % G = pourcentage de guérison ; % AG.= pourcentage d'auto-guérison ; les valeurs du tableau représentent les moyennes ± ESM ; *p < 0,05 et **p < 0,01 : différence statistique significative par rapport au témoin longitudinal.

Les ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique sont localisés au niveau de la partie glandulaire de la muqueuse gastrique. Ils se présentent sous forme de cratères dont la profondeur et la surface varie d'un lot à un autre (Figure 32). La figure 32 A montre l'estomac d'un rat normal (sans ulcère). La figure 32 B montre l'estomac d'un animal du lot témoin transversal ; on observe un ulcère chronique profond et large d'environ 53,80 ± 9,09 mm² de surface ; avec des bords surélevés et l'intérieur scléreux; et quelques hémorragies sur les côtés. La figure 32 C montre l'estomac d'un rat du groupe témoin longitudinal: on observe une réduction de la profondeur et de la largeur du cratère (29,60 ± 4,16 mm²) ; avec des bords surélèves et aucuns signes de l'hémorragie; et un dépôt du mucus à la surface de l'ulcère (auto-guérison). La figure 32 D montre l'estomac d'un rat ulcéré et traité avec 200 mg/kg d'extrait de *E. speciosa* pendant 10 jours après la formation des ulcères: on note une réduction considérable du cratère (13,20 ± 2,15 mm²) ; avec un important dépôt du mucus dans le cratère de l'ulcère et une disparition complète de l'hémorragie. Les figures 32 E et F, montrent les estomacs des rats traités respectivement, aux doses de 400 mg/kg d'extrait de *E. speciosa* et de 50 mg/kg de ranitidine : le cratère des ulcères a presque disparu et la surface ulcérée a baissée considérablement (6,60 ± 1,03 et 4,60 ± 1,08 mm², pour l'extrait et la ranitidine, respectivement) ; cet effet est plus prononcé chez les rats traités avec la ranitidine.

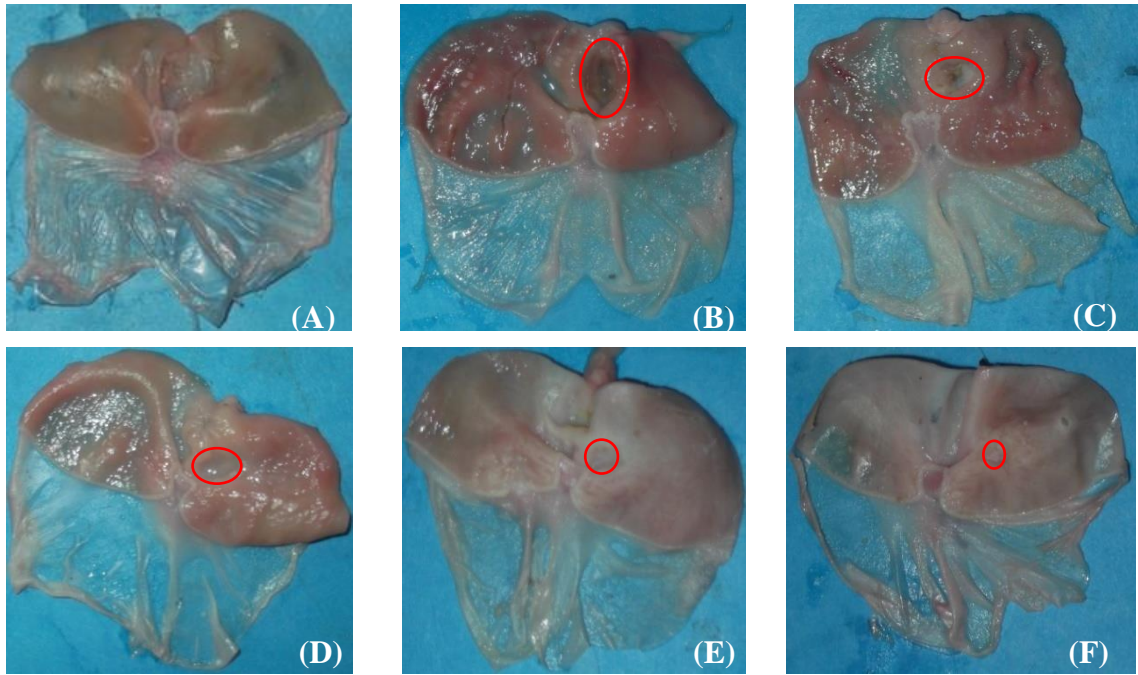


Figure 32 : Effets curatifs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique.

(A) : rat normal ; (B) : témoin transversal ; (C) : témoin longitudinal ; (D) : 200 mg/kg de *E. speciosa* ; (E) : 400 mg/kg de *E. speciosa* ; (F) : 50 mg/kg de ranitidine ; ○ indications des ulcères gastriques.

III.4.2 - EFFETS DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *Eremomastax speciosa* SUR LE TISSU GASTRIQUE

Les microphotographies des coupes histologiques de l'estomac, après induction des ulcères gastriques chroniques par l'acide acétique à 30 %, montrent des modifications importantes du tissu gastrique en fonction du traitement (Figure 33). La figure 33 A montre une coupe histologique de l'estomac d'un rat normal, présentant clairement la muqueuse gastrique (MG), les muscles annulaires intacts (MA), et des muscles longitudinaux (ML) de la couche musculaire. Les figures 33 B, C et D, représentent une coupe histologique de l'estomac du témoin transversal, montrant une perte superficielle de substances caractérisée par: une destruction glandulaire (D), une infiltration leucocytaire (IL) et une sclérose (Sc) ; on y remarque également la présence des œdèmes (O) et d'une fibrose (F) dans la musculature. Dans ces mêmes photos, les vaisseaux sanguins présentent une infiltration leucocytaire intrapariétale, avec une nécrose et une congestion veineuse. Les figures 33 E et F, sont celles d'une coupe histologique de l'estomac d'un rat du lot témoin longitudinale: elle présente des signes d'auto-guérison, un début de régénération des glandes gastriques (G), et un épaissement de la séreuse (Se) au niveau du site d'injection de l'acide acétique. Les figures

33 G et H sont celles d'une coupe histologique stomacale d'un rat traité avec l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg, montrant des œdèmes (O), et une disparition de la fibrose et de l'infiltration leucocytaire. Les figures 33 (I et J) (K et L) montrent respectivement les coupes histologiques des rats traités avec l'extrait à 400 mg/kg et la ranitidine à 50 mg/kg, pendant 10 jours. Les figures 33 I et J présentent de nombreuses glandes gastriques sans destruction glandulaire, et on y note une disparition de la fibrose, de la sclérose et de l'infiltration leucocytaire. Quant aux figures 33 K et L, on y observe une cicatrisation avancée, une muqueuse saine avec cependant une musculature œdémateuse.

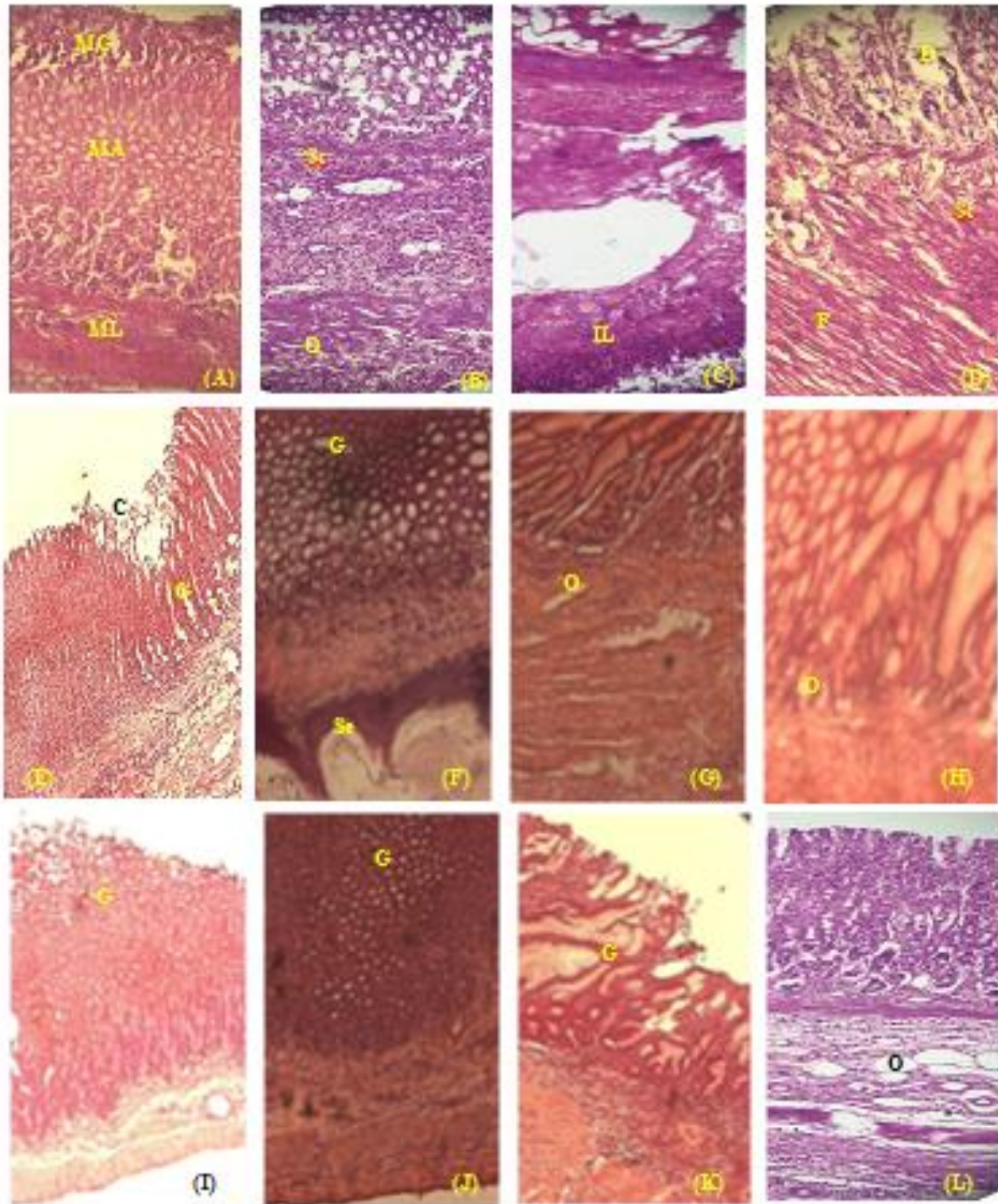


Figure 34 : Microphotographie de la présentation histologique des ulcères gastriques chroniques induits par l'acide acétique (Hematoxyline-Eosine ; x 100 et x 400).

(A) : rat normal ; (B) : témoin transversal ; (C) : témoin longitudinal ; (D) : 200 mg/kg de *E. speciosa* ; (E) : 400 mg/kg de *E. speciosa* ; (F) : 50 mg/kg de ranitidine ; MG : muqueuse gastrique ; MA muscles annulaires ; ML : muscles longitudinaux ; D: destruction glandulaire ; IL : infiltration leucocytaire ; Sc : sclérose ; O : œdèmes ; F : fibrose dans la musculature ; Se : séreuse ; G : glandes gastriques.

CHAPITRE IV : DISCUSSION

IV.1 - COMPOSITION PHYTOCHIMIQUE DE *Eremomastax speciosa*

La valeur thérapeutique d'une plante médicinale est attribuée à sa composition en classes de métabolites secondaires. Le screening phytochimique des extraits et fractions de *Eremomastax speciosa* a révélé la présence de nombreuses classes de composés bioactifs (flavonoïdes, alcaloïdes, triterpénoïdes, phénols, tannins, anthocyanines, quinones, glycosides, résines et protéines). Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par Mboso *et al.* en 2013 qui avaient noté la présence en quantité variable de certaines de ces classes de phytoconstituants (flavonoïdes, alcaloïdes, triterpénoïdes, phénols et tannins) dans l'extrait à l'éthanol de *E. speciosa*.

De nombreux travaux ont montré que chacun de ces métabolites pouvait avoir une activité cytoprotectrice, anti-sécrétoire, curative et/ou anti-*Helicobacter pylori*.

La classe de composés bioactifs présente dans tous les extraits et fractions, était celle des flavonoïdes. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires qu'on retrouve dans la plupart des plantes du règne végétal. Les flavonoïdes (95) possèdent des activités anti-ulcéreuses telles que démontré par Mota *et al.* en 2009 ; ces flavonoïdes jouent un rôle important dans la prévention et la guérison des ulcères gastriques par leurs activités cytoprotectrices (Alcarcon de la Izzo *et al.*, 1994 ; Di Carlo *et al.*, 1994 ; Martin *et al.*, 1994), anti-sécrétoires (Martin *et al.*, 1993 ; Brzozowski *et al.*, 1998), curatives (Kimura *et al.*, 1984 ; Motilva *et al.*, 1992), anti-*Helicobacter pylori* (Sunairi *et al.*, 1994 ; Beil *et al.*, 1995), antioxydantes (Baumann *et al.*, 1980 ; Salvayre *et al.*, 1982). En plus, la combinaison des flavonoïdes et des stérols ont des effets cytoprotecteurs *via* la stimulation de la synthèse des prostaglandines (Kishore *et al.*, 2011). Les flavonoïdes possèdent aussi des propriétés anti-thrombotiques et anti-inflammatoires (Gerritsen *et al.*, 1995). Plusieurs travaux ont montré les effets gastroprotecteurs des flavonoïdes (Alcaraz et Hoult, 1985). L'extrait aqueux est l'unique extrait à avoir présenté les anthocyanines ; les anthocyanines représentent un type de flavonoïdes exerçant des activités anti-ulcérogéniques préventives et curatives significatives (Magistretti *et al.*, 1988).

La seconde classe de composés la plus présente dans les différents extraits et fractions était celle des alcaloïdes. 61 d'entre eux étudiés par Falcão *et al.* en 2008, 55 ont montré des activités anti-ulcéreuses telles que des activités cytoprotectrices (Park *et al.*, 2000 ; Tan et Nyasse, 2000 ; Tan *et al.*, 2000 a ; Toma *et al.*, 2004 ; Noldin *et al.*, 2005), des activités anti-sécrétoires (Bai et Xu, 2000 ; Park *et al.*, 2000 ; Tan *et al.*, 2000 a), des activités curatives (Park *et al.*, 2000 ; Toma *et al.*, 2004) et des activités anti-*Helicobacter pylori* (Boda *et al.*,

2006). En outre, les alcaloïdes ont des effets antioxydants via l'élimination des radicaux libres (Konturek *et al.*, 1997). Les alcaloïdes sont aussi connus pour leurs propriétés émétique, anticholinergique, antitumorale, diurétique, sympathomimétique, antivirale, antihypertensive, hypnoalgésique, antidépressive, myorelaxante, antimicrobienne et anti-inflammatoire (Henriques *et al.*, 2004).

L'extrait aqueux est le seul qui contenait des tannins. Jesus en 2012 a montré que certaines activités antiulcéreuses d'un grand nombre de plantes médicinales étaient attribuées à leur présence dans celles-ci. Ces activités pouvaient être cytoprotectrices (Takahashi *et al.*, 1999), anti-sécrétoires (Murakami *et al.*, 1991 ; Khennouf *et al.*, 2003), curatives (Spencer *et al.*, 2001 ; Walters *et al.*, 2001) et anti-*Helicobacter pylori* (Funatogawa *et al.*, 2004). En effet, les tannins renforcent la couche externe de la muqueuse gastrique pour la rendre plus résistante aux irritants chimiques et mécaniques, et piègent aussi les radicaux libres (Asuzu et Onu 1990). En outre, les tannins possèdent une activité anti-inflammatoire, anticancéreuse et anti-diarrhéique, antioxydante (Borrelli et Izzo, 2000 ; Oben *et al.*, 2006 ; Jesus *et al.*, 2012)..

Dans l'ensemble, les composés phénoliques ont de nombreuses propriétés comprenant les propriétés antimicrobienne, anti-thrombotique, anticancéreuse, antioxydante et anti-inflammatoire (Chung *et al.*, 1998 ; Halliwell, 1999).

Plusieurs triterpènes ont également présenté des activités cytoprotectrices (Morikawa *et al.*, 2006 ; Sun *et al.*, 2006), anti-sécrétoires et antioxydantes (Gill et Bali, 2011). Les stéroïdes ont des effets cytoprotecteurs (Tovey *et al.*, 2011), curatifs (Esteves *et al.*, 2005) et anti-*Helicobacter pylori* (Theoduloz *et al.*, 2012).

La résine possède des propriétés cytoprotectrices, anti-sécrétoires, curatives et anti-inflammatoires. Les isolats de protéines de lactosérum ont des effets cytoprotecteurs (Castro *et al.*, 2010) et anti-oxydants (Rosaneli *et al.*, 2004). Ikeda *et al.* en 1997 ont démontré que des acides aminés avaient des effets anti-sécrétoires. Cependant, d'autres études ont montré certains acides aminés stimulent la sécrétion gastrique d'acide (Ignatenko, 1984 ; Feig et Nahrwold, 1988).

La présence de ces différentes classes de composés bioactifs dans la plante pourrait apporter une explication sur les éventuels effets antiulcérogéniques de cette plante. De plus, ces différentes classes de composés pourraient avoir des actions synergiques qui augmenteraient leurs effets thérapeutiques ; d'où la nécessité de vérifier le potentiel antiulcérogénique de cette plante *in vivo*.

IV.2 - EFFETS CYTOPROTECTEURS ET ANTIOXYDANTS DE *Eremomastax speciosa*

La cytoprotection représente la propriété que possèdent certaines molécules d'exercer un effet antiulcéreux gastrique indépendamment d'un effet anti-sécrétoire. Il s'agit d'une propriété pharmacologique qui vise à renforcer les défenses de la muqueuse gastrique sans s'opposer à la fonction sécrétoire de l'estomac (Bommelaer et Tournut, 1989). Dans cette étude les effets cytoprotecteurs des extraits aqueux et méthanolique des parties aériennes de *Eremomastax speciosa* ont été évalués sur plusieurs modèles d'induction des ulcères gastriques chez les rats.

Les extraits de *E. speciosa* ont inhibé de façon significative la formation des lésions gastriques induites par la solution HCl/EtOH. Cette inhibition a été totale à la dose de 200 mg/kg. La solution HCl/EtOH irrite directement la muqueuse gastrique, réduit la résistance de la muqueuse et érode la barrière muqueuse. Les substances qui offrent une protection à la muqueuse gastrique contre les agents irritants tels que la solution HCl/EtOH ont un potentiel cytoprotecteur (Miller, 1982). Cependant, le prétraitement des animaux avec l'indométacine a entraîné une réduction significative de l'inhibition de la formation des ulcères. L'inhibition des ulcères chez les animaux traités avec l'extrait aqueux à la dose 200 mg/kg est passée de 100,00 % à 39,63 % pour les méthodes HCl/EtOH sans prétraitement et HCl/EtOH avec prétraitement à l'indométacine chez les rats, respectivement. En plus, l'administration de l'indométacine seule a réduit d'avantage l'activité cytoprotectrice de cet extrait aqueux. Une inhibition de 12,13 % a été obtenue à la dose de 200 mg/kg. Cette réduction de l'activité cytoprotectrice est attribuée à l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines par l'indométacine. Cette inhibition entraîne la réduction de la sécrétion gastroduodénale de bicarbonate, la destruction de la barrière muqueuse et la réduction du flux sanguin de la muqueuse gastrique des animaux (Whittle, 1977 ; Flemstrom *et al.*, 1982 ; Miller, 1982 ; Selling *et al.*, 1987). Ces événements sont à l'origine de la formation et du développement des ulcères gastrique. Or, les prostaglandines synthétisées en grande quantité par la muqueuse gastro-intestinale sont connues pour leurs effets préventifs contre les ulcères provoqués par les substances irritantes. En plus, le rôle des prostaglandines dans la cytoprotection a été démontré par Robert *et al.* (1979), Robert (1981) et Konturek *et al.* (1981, 1982). Alors, lorsque les effets cytoprotecteurs d'un agent antiulcéreux sont significativement réduits par le prétraitement avec l'indométacine, on suggère que cet agent agit par la médiation des

prostaglandines endogènes (Yamamoto *et al.*, 1992) ; ce qui pourrait être le cas de nos extraits de *E. speciosa*.

Contrairement aux ulcères gastriques induits par le mélange HCl/EtOH qui ont été complètement inhibés par les extraits aqueux et méthanoliques (200 mg/kg) et le sucralfate (50 mg/kg), les ulcères induits avec l'éthanol absolu ont été moins sensibles à l'action cytoprotectrice de ces extraits (27,84 % et 45,80 % d'inhibition), et du sucralfate (26,60 % d'inhibition). La nature très corrosive de l'éthanol absolu sur la muqueuse gastrique est bien connue. En effet, l'éthanol absolu provoque des lésions sur la muqueuse gastrique par la nécrose des cellules superficielles, ainsi que par la libération des dérivés des médiateurs tissulaires tels que l'histamine et le leucotriène C₄. Ces médiateurs agissent sur la micro-vascularisation gastrique en provoquant une vasoconstriction, qui est à l'origine d'une succession des événements aboutissant à la destruction de la muqueuse et la sous muqueuse gastrique (Oate et Hakkinen, 1985). En outre, l'éthanol absolu provoque une rétrodiffusion de l'acide à travers la muqueuse gastrique (Gharzouli *et al.*, 1999). Les extraits de *E. speciosa* ont présenté une faible cytoprotection contre l'éthanol absolu, suggérant un très faible effet inhibiteur, aussi bien sur la génération que sur l'action de ces médiateurs qui agissent sur la micro-vascularisation gastrique.

Les extraits aqueux et méthanolique de *E. speciosa* ont aussi prévenu de façon significative la formation des ulcères gastriques induits par le stress à l'eau. Le mécanisme d'induction des ulcères par le stress à l'eau froide implique une augmentation de la sécrétion d'acide gastrique par la stimulation du nerf vague. Cette stimulation induit la sécrétion gastrique d'acide par l'intermédiaire de son médiateur chimique (acétylcholine) qui se fixe sur les récepteurs muscariniques situés sur les membranes des cellules pariétales et des cellules sécrétrices d'histamine. L'augmentation de la sécrétion de l'acide chlorhydrique qui en résulte est une conséquence de l'action synergique de l'acétylcholine sur les cellules sécrétrices d'histamine et de son activité directe sur les cellules pariétales. En plus, le stress provoque les dommages de la muqueuse par la réduction de l'adhérence du mucus gastrique et l'altération de la microcirculation gastrique (Meserau et Hinchey, 1973 ; Lambert et Kinsley, 1993). Or la microcirculation gastrique joue un rôle central dans le maintien de l'intégrité gastrique. En effet, tous les mécanismes de défense sont dépendants de l'état de la microcirculation gastrique pour l'apport d'oxygène, de substances énergétiques, l'entretien d'un environnement acido-basique approprié et l'élimination d'agents délétères pour la muqueuse. Les substances qui réduisent la sécrétion gastrique d'acide, qui améliorent la sécrétion du mucus gastrique et qui restaurent la microcirculation gastrique, sont utilisées dans la

prévention des ulcères provoqués par le stress (Laine *et al.*, 2008 ; Tulassay et Herszényi, 2010).

Pour tous les modèles d'induction des ulcères gastriques étudiés, il a été noté une augmentation de la production du mucus chez les animaux traités aux extraits par rapport aux témoins négatifs. L'augmentation remarquable de la production du mucus par l'extrait face à la puissante action nécrotique de l'éthanol absolu donne plus de valeur à une possible implication des prostaglandines endogènes dans l'action cytoprotectrice des extraits aqueux et au méthanol de *E. speciosa*.

L'extrait au méthanol de *E. speciosa* a augmenté significativement la concentration sanguine et tissulaire des enzymes antioxydantes (Catalase, SOD et GSH), et a baissé le taux d'un produit majeur de la peroxydation lipidique (MDA) par rapport au témoin négatif. Le modèle d'ulcère induit par le stress stimule la production des radicaux libres oxygénés par les cellules endothéliales et les neutrophiles polynucléaires. Le rôle direct de ces radicaux dans l'éthiopathologie des ulcères induits par le stress aigu est bien établi. En effets, ces radicaux provoquent la destruction des tissus de la muqueuse gastrique, en induisant l'ischémie au niveau de la micro-vascularisation gastrique, qui aboutit aux ulcères aigus (Mancinelli *et al.*, 1990 ; Ohara *et al.*, 1990 et Coskun *et al.*, 1995). En plus, il est bien connu que l'exposition de la muqueuse gastrique aux facteurs agressifs tels que le stress à l'eau froide et les AINS produisent des ulcères aigus. Ces ulcères sont majoritairement provoqués par les espèces oxygénées actives (Carnevale *et al.*, 2011). La protection gastrique contre les dommages provoqués par ces facteurs agressifs chez les rats est aussi liée à l'activité antioxydante (De-Faria *et al.*, 2012). La formation des ulcères induits par le stress à l'eau froide implique aussi l'action corrosive de l'acide gastrique sur les cellules de la muqueuse gastrique, ainsi que la peroxydation lipidique de la paroi cellulaire qui entraîne la formation du MDA (Tandon *et al.*, 2004). Quant à l'indométacine, il inactive la peroxydase gastrique, ce qui entraîne une augmentation du peroxyde d'hydrogène et de ses produits dérivés. Cette augmentation est à l'origine de la peroxydation des lipides membranaires qui conduit à la nécrose tissulaire (Chattopadhyay *et al.*, 2006). En plus, l'indométacine réduit aussi l'activité des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), et le glutathion réduit (GSH) (Halici *et al.*, 2005). Or le rôle de ces enzymes dans la défense de l'organisme contre le stress oxydant est bien connu. La SOD par exemple assure la première ligne de défense, via la conversion des radicaux libres superoxydes en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier est ensuite dégradé par la catalase (deuxième ligne de défense) en eau (H₂O) (Favier, 2003 ; Pincemail, 2005). Quant au GSH, il interagit directement avec les espèces

oxygénées actives et assure l'élimination des lipides peroxydés (Jones *et al.*, 2002). Ainsi, l'augmentation dose-dépendante du taux de ces enzymes antioxydantes suite au traitement par l'extrait au méthanol de *E. speciosa* est une évidence du renforcement du statut antioxydant des animaux. Ce renforcement du statut antioxydant pourrait être attribué à la présence dans l'extrait au méthanol des flavonoïdes, alcaloïdes, polyphénols et triterpénoïdes; qui sont des classes de composés bioactifs dont l'activité antioxydante est bien connue (Favier, 2003 ; Vera-Arzave *et al.*, 2012).

IV.3 - ACTIVITÉ ANTI-SÉCRÉTOIRE DE *Eremomastax speciosa*

Les études antérieures menées par Tan *et al.* (1996) avaient montré que l'extrait aqueux de *Eremomastax speciosa* avait des éventuels effets anti-sécrétoires mais, aucune étude n'avait été effectuée pour déterminer son mécanisme d'action. Dans la présente étude, le screening anti-sécrétoire de plusieurs extraits et fractions a été effectué. Les extraits au méthanol/chlorure de méthylène et aqueux, et la fraction au chlorure de méthylène ont montré une activité anti-sécrétoire significative à la dose 100 mg/kg. Cette activité a augmenté significativement à la dose 200 mg/kg; pour cette raison, ces échantillons (extraits et fractions) ont été donc sélectionnés pour l'étude de leurs effets sur l'hypersécrétion gastrique d'acide induite par différents sécrétagogues (histamine et carbachol), ces trois extraits et fractions ont montré une réduction significative de la sécrétion d'acide induite avec l'histamine (de 31 à 54 %) et le carbachol (de 29 à 41 %). Cependant, l'extrait au méthanol/chlorure de méthylène a présenté une activité anti-sécrétoire plus importante contre la sécrétion induite par l'histamine, tandis que l'extrait aqueux a montré un effet anti-sécrétoire le plus élevé contre la sécrétion d'acide gastrique induite par le carbachol.

Contrairement à la technique de la ligature du pylore simple, la combinaison de la ligature du pylore au prétraitement à l'indométacine a provoqué une réduction des effets anti-sécrétoires de l'extrait au méthanol de *E. speciosa*. En effet, l'indométacine inhibe la sécrétion du bicarbonate de sodium *via* l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines. Pourtant, ce bicarbonate est responsable de la neutralisation d'acide produite par les cellules pariétales (Whittle, 1977 ; Flemstrom *et al.*, 1982 ; Miller 1982 ; Selling *et al.*, 1987) ; ce qui suggère que l'extrait stimulerait la production de bicarbonate par l'intermédiaire des prostaglandines endogènes.

La pathogenèse des ulcères gastriques induits par la ligature du pylore chez les rats est complexe car la laparotomie et la ligature du pylore constituent des sources de stress, qui sont responsables de l'accumulation des sécrétions gastriques (acide et pepsine). L'acide accumulé,

en plus de son action corrosive sur l'épithélium glandulaire de l'estomac, fournit un pH optimal (de 1,6 à 3,2), nécessaire à la conversion du pepsinogène en pepsine. Ce dernier est responsable de l'autodigestion de la muqueuse gastrique. Le HCl et la pepsine sont donc les deux facteurs responsables de la formation des ulcères par la ligature du pylore (Shay *et al.*, 1945), ceci explique le niveau élevé des ulcères observés chez le témoin négatif (IU = 3,88). Il est connu que, les substances qui réduisent la sécrétion d'acide et/ou augmentent la sécrétion de mucus sont efficaces pour l'inhibition de la formation des ulcères induits par cette méthode. Ainsi, l'administration par voie orale des extraits au méthanol/chlorure de méthylène et aqueux, et la fraction au chlorure de méthylène à la dose de 200 mg/kg a inhibé significativement la formation des ulcères gastriques par la ligature du pylore de 100, 74,23 et 66,49 %, respectivement. Cette inhibition s'est accompagnée d'une augmentation significative de la sécrétion du mucus chez les animaux traités par ces extraits et fraction de *E. speciosa* (de 98,47 ; 92,19 et 84,74 mg, respectivement), par rapport au témoin négatif (45,04 mg). Ces résultats soulignent le rôle protecteur du mucus sur la muqueuse gastrique. En plus, il a été noté une baisse significative du volume et de l'acidité du suc gastrique par rapport au témoin négatif: cet acidité gastrique est passée de 79,4 mEq/L chez le témoin négatif à 40,2 ; 38,6 et 43,20 mEq/L chez les lots traités par les extraits aqueux et au méthanol/chlorure de méthylène, et la fraction au chlorure de méthylène, respectivement. Cette baisse de la sécrétion d'acide après ligature du pylore suggérerait que le mécanisme anti-sécrétoire de ces extraits et de cette fraction impliquerait une inhibition directe de la sécrétion gastrique ou une simple neutralisation de l'acide sécrété par les cellules pariétales.

D'après Valtier et Vallot en 1998, l'inactivation de la pepsine se produit à un pH d'environ 6. Cependant aux pH compris entre 4 et 6, la pepsine est toujours stable mais inactive (pepsinogène). Les valeurs du pH gastrique des animaux traités avec les extraits aqueux et au méthanol/chlorure de méthylène, et la fraction au chlorure de méthylène de *E. speciosa* dans toutes les expériences ont varié entre 3,06 et 5,26, ce qui suggérerait que les extraits et fraction pourraient désactiver la pepsine gastrique et interférer avec la digestion des protéines. En effet, la plupart des médicaments (anti-sécrétoires et antiacides) utilisés dans le traitement des ulcères gastriques provoquent généralement, comme effet indésirable, la constipation par inactivation de la pepsine.

Le contrôle physiologique de la sécrétion gastrique est assuré par les systèmes nerveux et hormonal. L'acétylcholine et l'histamine activent directement la sécrétion acide, mais par des voies différentes. En ce qui concerne l'acétylcholine libérée par le nerf vague, elle se lie aux récepteurs muscariniques M₃ et provoque l'augmentation du calcium intracellulaire dans

la cellule pariétale. Quant à l'histamine sécrétée par les *Enterochromaffin-like cells* (ECL), elle se lie aux récepteurs histaminiques H₂ et provoque à la fois une élévation du calcium intracellulaire et de l'AMPc. Le calcium et l'AMPc activent leur protéine kinase et stimule l'activité sécrétrice de la pompe H⁺/K⁺/ATPase. La cimétidine, qui est un antagoniste des récepteurs H₂ bien connue, inhibe l'activation de l'adénylate cyclase, bloquant ainsi la formation de l'AMPc qui est nécessaire pour la production du HCl. Le carbachol est un cholinomimétique qui, comme l'acétylcholine, augmente la concentration en calcium libre intracellulaire. L'activation de la protéine kinase par phosphorylation conduit à une production accrue du HCl. Ceci explique l'augmentation importante de l'acidité observée chez les témoins négatifs dont l'hypersécrétion d'acide a été induite par l'histamine (86,50 ± 2,98 mEq/L) et le carbachol (84,80 ± 3,57 mEq/L).

L'histamine libérée par les mastocytes péritonéaux dépend essentiellement de la concentration en calcium extracellulaire. Les produits tels que le vérapamil et la ranitidine, bloquent l'ouverture des canaux calciques de type T sensibles au faible voltage et inhibent l'influx calcique. Ce blocage a lieu du côté de la lumière gastrique par interférence avec l'activité de la pompe H⁺/K⁺/ATPase. Il en résulte une réduction du volume et de l'acidité des sécrétions gastriques (Perez-Zoghbi *et al.*, 2008 ; Kadamani *et al.*, 2011 ; Mandade *et al.*, 2011). Les bloqueurs des canaux calciques exercent leurs effets inhibiteurs sur la stimulation de la sécrétion gastrique d'acide induite par l'histamine, la gastrine, le carbachol et AMPc (Sewing et Hannemann, 1983).

Dans notre étude, les extraits au méthanol/chlorure de méthylène et aqueux, la fraction chlorure de méthylène à la dose 200 mg/kg, et la cimétidine administrés *per os* ont augmenté significativement le pH gastrique et ont réduit le volume et l'acidité des sécrétions gastriques induites par l'histamine et le carbachol. L'extrait aqueux aux doses 200 et 400 mg/kg administré par voie intra-duodénale a réduit significativement le volume et l'acidité du suc gastrique. Ces résultats suggèrent que les réductions de l'acidité gastrique observées pourraient être dues à un mécanisme de blocage de l'activité des récepteurs H₂ de l'histamine similaire à celui de la cimétidine, ainsi que le blocage des récepteurs muscariniques M₃ similaire à l'activité du vérapamil. Or, le carbachol et l'histamine activent la sécrétion d'acide par deux mécanismes distincts. Ainsi, les extraits de *E. speciosa* pourraient contenir deux ou plusieurs molécules anti-sécrétoires qui agiraient séparément et de manière synergique. Ceci pourrait donc expliquer la réduction très significative de la sécrétion d'acide par ces extraits chez les rats dont l'hypersécrétion a été induite par ces sécrétagogues. Il est important de noter que, même chez les rats traités à l'histamine, la douleur induite par la laparotomie et la

ligature du pylore constitue une source de stress qui contribue à augmenter la sécrétion d'acide par la voie cholinergique. Les travaux menés par Vela *et al.* en 1997 avaient montré que l'extrait aqueux de *Stachytarpheta cayennensis* réduisait la sécrétion d'acide gastrique induite par les stimulations histaminique et cholinergique. Ils avaient suggéré que l'extrait pourrait agir par l'inhibition des étapes communes aux deux voies, au niveau de la libération d'histamine/interaction récepteurs H₂ ou au niveau de la pompe à protons. En plus, les effets de l'extrait aqueux de *E. speciosa* ne peuvent pas qu'être attribués à une activité se déroulant uniquement au niveau de la lumière gastrique, puisque l'extrait était également actif par voie intra-duodénale. Lorsque l'hypersécrétion avait été induite par l'histamine et le carbachol, cet extrait à la dose 200 mg/kg administré par voie orale ou duodénale a donné des résultats de l'acidité gastrique presque similaires (histamine : 59,00 ± 4,08_{orale} et 54,62 ± 2,70_{duodénale} mEq/L; carbachol : 59,00 ± 4,08_{orale} et 54,62 ± 2,70_{duodénale} mEq/L). Ces résultats nous suggèrent l'implication d'un métabolite secondaire actif.

Les effets cytoprotecteurs et anti-sécrétoires de l'extrait aqueux de *E. speciosa* ont été réduits à la suite de l'administration combinée du carbachol et de l'indométacine. L'indométacine inhibe la synthèse des prostaglandines, la sécrétion de bicarbonate et le flux sanguin de la muqueuse chez les animaux (Whittle, 1977 ; Flemstrom *et al.*, 1982 ; Miller, 1982 ; Selling *et al.*, 1987), et le carbachol provoque une augmentation de la sécrétion d'acide gastrique et de pepsine par l'estomac. L'action synergique de l'indométacine et du carbachol augmente les dommages de la muqueuse gastrique (Rainsford, 1978 ; Toma *et al.*, 2002). Le rôle important des prostaglandines dans la protection de la muqueuse gastrique est très bien connu (Miller, 1982 ; Robert *et al.*, 1983). Lorsque les effets cytoprotecteurs d'un agent antiulcéreux sont significativement réduits par le prétraitement avec l'indométacine, cela suggère que la cytoprotection passe par l'intermédiaire des prostaglandines endogènes.

Dans la présente étude, chez les lots témoins négatifs, l'hypersécrétion d'acide induite par le carbachol était moins élevée (84,80_{orale} à 85,5_{duodénale} mEq/L) que celle induite par l'histamine (86,5_{orale} à 88,3_{duodénale} mEq/L), qui, elle-même était moins élevée que celle induite par l'"*augmented histamine test*" (90,2 mEq/L). Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par Perez-Zoghbi *et al.* en 2001, qui avaient montré que la sécrétion d'acide gastrique induite par le carbachol est rapide, faible et transitoire alors que la sécrétion d'acide provoquée par l'histamine est lente, importante et soutenue. La sécrétion importante et continue induite par l'administration répétée d'histamine (90,20 ± 2,71 mEq/L) a été réduite de manière très significative à la dose 400 mg/kg d'extrait aqueux de *E. speciosa* (27,50 ± 1,29 mEq/L) et à 100 mg/kg de cimétidine (19,2 ± 1,68 mEq/L). Or, Tan *et al.* en 1996

avaient observé que des niveaux similaires d'acidité gastrique (25 mEq/L) ne provoquaient pas des lésions gastriques chez les rats ayant subi la ligature du pylore. Ainsi, nos résultats se rapprochent de ceux de la cimétidine dont les études ont montré qu'elle réduit de manière significative le volume et l'acidité du suc gastrique. La puissante activité anti-sécrétoire et antiulcéreuse de l'extrait aqueux de *E. speciosa* à 400 mg/kg se rapproche de celle des extraits aqueux de *Myristica fragrans* et de *Hibiscus rosasinensis* à 500 mg/kg, sur l'hyperacidité induite par les sécrétagogues obtenus respectivement par Jan *et al.* en 2004 et Mandade *et al.* en 2011.

IV.4 - EFFETS CURATIFS DE *Eremomastax speciosa*

La présente étude a permis d'évaluer les effets curatifs de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les ulcères gastriques chroniques induits par injection de l'acide acétique à 30 % dans la paroi gastrique. Ce modèle expérimental produit facilement et de manière fiable les ulcères circulaires et profonds dans l'estomac. Ces ulcères sont très semblables aux ulcères gastriques humains sur les plans pathologique et thérapeutique (Okabe et Amagase, 2005). Deux semaines après l'induction des ulcères chroniques par l'acide acétique, il a été noté chez les animaux non traités (témoin longitudinal) un pourcentage d'auto-guérison de 44,98. Cette auto-guérison est due aux dommages de la muqueuse qui stimulent la sécrétion des facteurs de croissance par la muqueuse adjacente au site de l'ulcère. Ces facteurs entraînent la reconstruction de la muqueuse (Schmassmann, 1998). Cependant, chez les patients humains atteints des ulcères gastriques chroniques, on ne peut pas se fier à l'auto-guérison et le traitement doit par conséquent être associé à l'élimination des facteurs étiologiques.

Dans cette étude, l'extrait aqueux de *E. speciosa* a favorisé la guérison des ulcères par un rétrécissement de la surface ulcérée et une augmentation du mucus recouvrant la muqueuse gastrique. Le processus de guérison de la plaie s'effectue en plusieurs étapes et comporte une hémostase, suivi d'une inflammation résultant de la vasodilatation et de la phagocytose. L'inflammation est caractérisée par une infiltration intense des neutrophiles associée à une dilatation vasculaire. Ceci est suivi par le stade de prolifération qui se manifeste par une angiogenèse, un dépôt de collagène, une contraction de la plaie et une épithélialisation. La phase de remodelage qui suit consiste à la formation des nouveaux collagènes et à une augmentation de la force de cohésion des tissus nouvellement formés (Shetty *et al.*, 2008 ; Wilgus, 2008 ; Badri et Renu, 2011). La cicatrisation entraîne une perte de la fonction tissulaire de la zone cicatrisée. Cependant, la guérison de la plaie peut se faire sans

cicatrisation. Dans ce cas, les agrégats de tissus se rassemblent dans la zone entourant la plaie pour réparer la surface ulcérée: cette action a été attribuée à l'activité des myofibroblastes (Garg et Paliwal, 2011).

Il est donc évident que, l'extrait de *E. speciosa* favorise la guérison des ulcères chroniques en agissant sur un ou plusieurs processus cellulaires et moléculaires impliqués dans la cicatrisation. Sur le plan macromorphologique, les estomacs des rats traités avec l'extrait à la dose 200 mg/kg ont présentés une réduction significative du cratère de l'ulcère et une augmentation importante du revêtement du mucus. Chez les rats ayant reçu 400 mg/kg d'extrait, le degré de guérison a été d'avantage élevé: on a noté un pourcentage de guérison de 77,70. Ces observations suggèrent que l'extrait aurait induit la cicatrisation des ulcères par une augmentation de la concentration et du mouvement des fibroblastes autour de la région ulcérée ou par une facilitation de la prolifération des cellules épithéliales de la zone non couverte. Ces résultats confirment ceux obtenus par Shanbhag *et al.* en 2006.

Plusieurs études phytochimiques ont attribué les propriétés antiulcérogéniques à la présence des composés bioactifs dans les extraits des plantes médicinales (Sen *et al.*, 2009). La guérison des ulcères par les extraits de divers plantes médicinales ont été démontrés : c'est le cas de *Musa sapientum* (banane plantain), qui favorise la guérison des ulcères et retarde la récurrence (Goel et Siram, 2002). La présence dans les plantes des agents polaires, telles que les flavonoïdes et les glycosides auraient favorisé le processus de guérison (Kaith *et al.*, 1996). Il a été démontré que les flavonoïdes et les tannins peuvent piéger les radicaux libres, et qu'ils possèdent une activité anti-inflammatoire; ces composés bioactifs améliorent la régénération et l'organisation des nouveaux tissus pendant la guérison des ulcères (Leite *et al.*, 2000 ; Karodi *et al.*, 2009). Les tannins, les flavonoïdes, les saponines, les alcaloïdes et les terpènes ont une capacité à piéger les radicaux libres (Khalaf *et al.*, 2008), et ils ont été associés à la protection de la muqueuse gastrique par une augmentation des mécanisme endogènes de défense (Mahmood *et al.*, 2005 b ; Yoshikawa *et al.*, 2005 ; De Sousa *et al.*, 2008 ; Souza *et al.*, 2011). La capacité de *Sida corymbosa* à réduire la gravité des ulcères gastriques hémorragiques, à favoriser une cicatrisation et à réduire une inflammation a été attribuée à l'un des composés bioactifs ou aux effets synergiques de ces phytoconstituants (John-Africa *et al.*, 2014).

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux de *E. speciosa* a révélé la présence de plusieurs classes de composés bioactifs parmi lesquels : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les triterpénoïdes, les phénols et les tannins. Les effets antioxydants de ces phytoconstituants de *E. speciosa* pourraient être impliqués dans la guérison des ulcères. Les radicaux oxygénés

libres jouant un rôle important dans la genèse des ulcères gastroduodénaux et la production excessive des espèces oxygénées réactives, ceux-ci entraînent un stress oxydatif avec des effets cytotoxiques qui retardent la cicatrisation des plaies (Dissemond *et al.*, 2002). Des faibles taux des antioxydants enzymatiques (SOD, CAT, GPx, TPS) et non enzymatiques (acide ascorbique, vitamine E, glutathion) ont été observés lors de l'auto-guérison des ulcères, ce qui indique que l'ulcération provoquerait une perte de la capacité antioxydante confirmé par les travaux de Shukla *et al.* (1997). De plus, Senel *et al.* en 1997, ont montré que le traitement des rats par la SOD et l'allopurinol accélèrent la guérison des ulcères induits par une ischémie. Dans le même ordre d'idée, Kobayashi *et al.*, en 2001 ont démontré que l'élimination des espèces oxygénées réactives par les antioxydants entraîne une augmentation et une réorganisation du taux de collagène, qui pourraient être responsable en partie de la guérison des ulcères gastrique chroniques.

L'extrait aqueux de *E. speciosa* a réduit de manière significative la formation des ulcères induits par le stress à l'eau froide, le HCl/éthanol et l'indométacine/ligature du pylore. Cette inhibition des ulcérations s'est accompagnée par une augmentations des taux des antioxydants endogènes (catalase, SOD et GSH) sanguin et tissulaire d'une part, et une diminution du taux MDA sanguin et tissulaire d'autre part. Ainsi, la capacité de l'extrait à améliorer le statut antioxydant pourrait aussi être impliquée dans la guérison des ulcères.

Chez les humains et les modèles expérimentaux, la guérison des ulcères gastroduodénaux est retardée par les AINS, mais elle est accélérée par les substances qui inhibent la sécrétion d'acide gastrique : ce qui améliore l'angiogenèse, la prolifération cellulaire, la migration cellulaire et la maturation du tissu de granulation (Schmassmann, 1998). Les analogues des prostaglandines, les agents de défense de la muqueuse et divers facteurs de croissance améliorent aussi de manière considérable la guérison des ulcères induits par l'acide acétique (Okabe et Amagase, 2005). Dans nos expériences, l'extrait aqueux de *E. speciosa* a montré des effets anti-sécrétoires qui impliqueraient un mécanisme commun aux voies cholinergique et histaminique. Ces résultats suggèrent que la cytoprotection et l'inhibition de la sécrétion d'acide par l'extrait de *E. speciosa* pourrait induire la guérison des ulcères par angiogenèse, prolifération cellulaire, migration cellulaire et maturation du tissu granuleux.

La présence dans les extraits et les fractions de *E. speciosa* de certaines classes de ces phytoconstituants tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les triterpénoïdes et les tannins ; dont plusieurs travaux ont montré leurs efficacités dans l'éradication de *Helicobacter pylori*,

suggèrerait un probable effet anti-*Helicobacter pylori* de cette plante (Beil *et al.*, 1995 ; Funatogawa *et al.*, 2004 ; Boda *et al.*, 2006).

Les études de toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait aqueux des parties aériennes de *E. speciosa* réalisées chez les rats de souche Wistar conformément aux lignes directrices N° 423 et 407 de l'OCDE, ont révélé que : la DL50 est supérieure à 2000 mg/kg et cet extrait a été par conséquent classé en catégorie 5 du SGH qui correspond aux substances faiblement ou non toxiques d'une part; d'autre part, l'administration répétée de cet extrait ne provoque pas de variation significative du poids corporel, du poids relatif des organes, des prises alimentaire et hydrique. Cependant, il a été noté quelques légères perturbations des paramètres hématologiques et biochimiques aux fortes doses (800 et 1600 mg/kg), qui se sont corrigés après 14 jours d'observations. La consommation de cet extrait est donc sans risque à la plus grande dose (400 mg/kg) utilisée dans notre travail (Siwe, 2015).



**CONCLUSION, PERSPECTIVES
ET RECOMMANDATION**

CONCLUSION

L'objectif de nos travaux était d'évaluer les effets cytoprotecteurs, anti-sécrétoires et curatifs des extraits de *Eremomastax speciosa* sur les ulcères gastriques induits chez les rats. Il ressort de ce travail que :

- les extraits aqueux et méthanolique de *E. speciosa* possèdent les effets cytoprotecteurs, qui seraient attribués à la capacité de ceux-ci à restaurer les défenses de la muqueuse gastrique via l'augmentation de la sécrétion du mucus d'une part et le statut antioxydant *in vivo* par l'augmentation des antioxydants (SOD, catalase et GSH), et la baisse du principal produit de l'oxydation cellulaire (MDA) d'autre part ;

- les extraits au méthanol/chlorure de méthylène et aqueux, et la fraction au chlorure de méthylène de *E. speciosa* ont présenté les meilleures effets anti-sécrétoires. Ces effets ont été attribués à leur capacité d'inhiber la sécrétion d'acide gastrique par un mécanisme commun aux voies cholinergique et histaminique ;

- l'extrait aqueux de *E. speciosa* a accéléré le processus de guérison des ulcères gastriques chroniques, par un mécanisme impliquant probablement entre autre, une augmentation significative de la sécrétion de mucus dans la zone ulcérée, une réduction significative de la sécrétion gastrique d'acide et une augmentation de la production des antioxydants endogènes ;

- les extraits et les fractions de *E. speciosa* contiennent de nombreux classes de composés bioactifs en l'occurrence les flavonoïdes, les alcaloïdes, les anthocyanines, les phénols, les triterpénoïdes et les tannins. Ces classes de composés justifieraient en partie les différentes activités obtenues par cette plante et expliqueraient son usage en ethnomédecine pour le traitement des ulcères gastroduodénaux.

PERSPECTIVES

Les résultats obtenus lors de ces travaux suscitent d'autres études complémentaires, afin de permettre l'utilisation optimale de *Eremomastax speciosa* dans la prise en charge des patients souffrant des ulcères gastroduodénaux. Ainsi dans nos prochaines investigations, nous envisageons :

- d'étudier l'activité microbicide de l'extrait aqueux de *E. speciosa* sur les ulcères gastroduodénaux causés par *Helicobacter pylori* ;

- d'évaluer la toxicité chronique et reproductive de l'extrait aqueux de *E. speciosa* ;

- de mettre sur pied un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) à partir de l'extrait aqueux de *E. speciosa* pour le traitement des ulcères gastroduodénaux ;
- d'effectuer une étude clinique de ce MTA chez les patients humains souffrant des ulcères gastroduodénaux.

RECOMMANDATION

L'extrait aqueux de *E. speciosa* a rempli les principaux objectifs du traitement des ulcères peptidiques et par conséquent, son utilisation à faible dose (40 mg/kg) peut être recommandée aux patients souffrants des ulcères gastriques aigues et chroniques.



RÉFÉRENCES

- Abdel-Salam OM, Czimmer J, Debreceni A, Szolcsányi J, Mózsik G.** (2001). Gastric mucosal integrity: Gastric mucosal blood flow and microcirculation. *J physiol.* **95(1)**: 105-127.
- Ackerman SH, Hofer MA, Weiner H.** (1975). Age at maternal separation and gastric erosion susceptibility in rat. *Psychosoma Med.* **37(2)**: 180-184.
- Adjanohoun JF, Aboubakar N, Dramane K, Ebot MOE, Ekpere JA, Enow-Orock EG, Focho D, Gbile ZO, Kamanyi A, Kamsu Kom J, Keita A, Mbenkum T, Mbi CN, Nkongmeneck B, Satabie B, Sofowora A, Tamze V, Wirmum CK.** (1996). Traditional Medicine and Pharmacopoeia: Contribution to Ethnobotanica and Floristic Studies in Cameroon. Organization of African Unity Scientific, Technical and Research Commission. Centre Nationale de Production des Manuels Scolaires, Porto-Novo, Benin, pp 207-209.
- Akerele O.** (1987). The best of both worlds: bringing traditional medicine up to date. *Soc Sci Med.* **24**: 177-181.
- Alarcon de la Lastra C, Martin MJ, Motilva V.** (1994). Antiulcer and gastroprotective effects of quercetin: a gross and histologic study. *Pharmacol.* **48**: 56-62.
- Alarcon de la Lastra C, Martin MJ, Marhuenda E.** (1992). Gastric anti-ulcer activity of silymarin, a lipoxygenase inhibitor, in rats". *J Pharm Pharmacol.* **44**: 929-931.
- Alcaraz MJ, Hoult JR.** (1985). Actions of favonoids and the novel anti-inflammatory flavones, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochem Pharmacol.* **34**: 2477-2482.
- Al-Hashem FH.** (2010). Gastroprotective effects of aqueous extract of *Chamomilla recutita* against ethanol-induced gastric ulcers. *Saudi Med J.* **31(11)**: 1211-1216.
- Ali T, Harty RF.** (2009). Stress-induced ulcer blending critically III patients. *Gastroenterol Clin Nor Am.* **38(2)**: 245-265.
- Allen A, Flemström G.** (2005). Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against Acid and pepsin. *Am J Physiol Cell physiol.* **288(1)**: 1-19.
- Allen A, Garner A.** (1980). Mucus and bicarbonate secretion in the stomach and their possible role in mucosal protection. *Gut.* **21**: 249-262.
- Alleva R, Tomasetti M, Bompadre S, Littaru P.** (1997). Oxidation of LDL and their subfractions: kinetic aspects and COQ10 contenent. *Molec Asp Med.* **18**: 105-112.
- Al-Shabanah OA, Islam MW, Al-Gharably NM, Al-Harbi MM.** (1993). Effect of khatamines and their enantiomers on aspirin, indomethacin, phenylbutazone and reserpine induced gastric ulcers in rats. *Res Com Subst Abuse.* **14**: 81-94.

- Arafa HM, Sayed-Amed MM.** (2003). Protective role of carnitine esters against alcohol-induced gastric lesions in rats. *Pharmacol Res.* **48(3)**: 285-290.
- Asuzu IU, Onu OU.** (1990). Anti-ulcer activity of the ethanolic extract of *Combretum dolichopetalum* root. *Int J Cru Drug Res.* **28**: 27-32.
- Ausprunk DH, Folkman J.** (1977). Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res.* **14**: 53-65.
- Badri PN, Renu S.** (2011). Role of Medicinal Plants in Wound Healing. *Res J Med Plt.* **5**: 392-405.
- Bai YF, Xu H.** (2000). Protective action of piperine against experimental gastric ulcer. *Acta Pharmacol Sin.* **21**: 357-359.
- Balas D.** (2003). Histologie morphofonctionnelle des épithéliums digestifs. Collection PCEM-2, Faculté de Médecine de Nice, pp 30-55.
- Barnes MI, Morton LF, Bennet RC, Bailey AJ.** (1975). Studies in collagen synthesis in the mature dermal scar in the guinea pig. *Biochem Soc.* **3**: 917-920.
- Baros MP, Lemos M, Maiaestro EL, Leite MF, Sousa JPB, Bastos JK.** (2008). Evaluation of antiulcer activity of main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *J Ethnopharmacol.* **120**: 372-377.
- Baumann J, Wurm G, Bruchhausen F.** (1980). Prostaglandin synthetase inhibition by favonoids and phenolic compounds in relation to their oxygen-scavenging properties. *Arch Pharm Wein.* 313-330.
- Beil W, Birkholz C, Sewing KF.** (1995). Effects of favonoids on parietal cell acid-secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneim Forsch.* **45**: 697-700.
- Bernades P.** (1990). Rôle du tabac, de l'alcool et des médicaments gastro-toxiques dans la maladie ulcéreuse. Dive C., Edition Dion, Paris, p 83.
- Bernier JJ, Florent C.** (1986). Les défenses de l'estomac. *Rech.* **117(17)**: 614-621.
- Bias P, Buchner A, Klessner B, Laufer S.** (2004). The gastrointestinal tolerability of the LOX/COX inhibitor, licefelone, is similar to placebo and superior to naproxen therapy in healthy volunteer: results from a randomized, controlled trial. *Am J gastroenterol.* **99(4)**: 4-16.
- Bighetti AE, Antônio MA, Kohn LK, Rehder VLG, Foglio MA, Possenti A.** (2005). Articulerogetic activity of a crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania laevigata* Schultz Bip. *Phytomed.* **12**: 72-77.

- Blandizzi C, Fornai M, Colucci R, Natale G, Lubrano V, Vassalle C, Antonioli L, Lazzeri G, Tacca M.** (2005). Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage. *Wld J Gastroenterol.* **14(26)**: 4052-4060.
- Boda M, Tan PV, Nyasse B.** (2006). Rapid *in vivo* screening method for the evaluation of new anti-*Helicobacter* medicinal preparation. *AJTCAM.* **3(4)**: 102-114.
- Bode C, Bode JC.** (1997). Alcohol's role in gastrointestinal tract disorder. *Alc Hlth Res Wld.* **21(1)**: 76-83.
- Bode C, Maute G, Bode JC.** (1996). Prostaglandin E₂ and prostaglandin F₂ alpha biosynthesis in human gastric mucosa: effect of chronic alcohol misuse. *Gut.* **39(3)**: 348-352.
- Bommelaer G, Bruley DVS, Fléjou JF, Matysiak T, Poynard T, Richard A.** (2001). Statut cag A et virulences des souches de *Helicobacter pylori*. Résultats d'une étude multicentrique prospective française. *Gastroenterol Clin Biol.* **25**: 1084- 1090.
- Bommelaer G, Tournut R.** (1989). Protecteur de la muqueuse gastrique. Dans: Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Schorderet, M. Edition Frison-Roche, Paris et édition Slatkine, Genève, pp 577-580.
- Borrelli F, Izzo AA.** (2000). The Plant Kingdom as a Source of Anti-ulcer Remedies. *Phytother Res.* **14**: 581-591.
- Boubaker J, Jouini M, Ben HBS, Karoui S, filali A, Haouet S.** (2002). Le cancer gastrique à stroma lymphoïde. *Gastrenterol Clin Biol.* **26**: 118-121.
- Bronner C, Landry Y.** (1985). Kinetics of the inhibitory effect of favonoids on histamine secretion from mast cells. *Ag Act.* **16**: 147-151.
- Brown LF, Wilson DE.** (1999). Gastroduodenal ulcers: causes, diagnostic, prevention and treatment. *Compreh Ther.* **25(1)**: 418-422.
- Bruneton T.** (1993). Phytochemistry and pharmacology of medicinal plants: Technics. 2nd edition, Lavoisier, Paris, pp 309-320.
- Brzozowski I, konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ, kwiecien S, Pajdo R, Drozdowicz D, Pawlik M, Ptak A, Hahn EG.** (2002). Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrinin acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor, L-tryptophan. *J Pin Res.* **32**: 149-162.
- Brzozowski T, Konturek SJ, Kwiecin S.** (1998). SU-840, a novel synthetic flavonoid derivative of sophoradin, with potent gastroprotective and ulcer healing activity. *J Physiol Pharmacol.* **49**: 83-98.

- Bucham AMJ, Squires PE, Ring M.** (2001). Mechanism of action the calcium-sensing receptor in human antral gastrin cell. *Gastroenterol.* **120**: 1128-1139.
- Bülbüller N, Akkuş MA, İlhan YS, Baysa İF, Özercan I, Aygen E, Kirkil C.** (2003). The effects of L-tryptophan and pentoxiphylline on stress ulcer. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* **9**: 90-95.
- Burger PC, Chandler DB, Klintworth OK.** (1983). Corneal neovascularization as studied by scanning electron microscopy of vascular casts. *Lab Invest.* **48**: 169-180.
- Burkill HM.** (1985). The useful plant of west Tropical Africa. Royal Botanic Gardens Kew, London, Volume 1, pp 610-611.
- Cadiot G, Galmiche JP, Matuchansky C, Mignon M.** (2005). Gastroentérologie. Edition Ellipse, Paris, pp 224-243.
- Carnevale G, Zanolli P, Zavatti M, Baraldi M.** (2011). Further evidence of the antiulcer activity of IAC, a novel free radical scavenger. *Pharmacol.* **88(3-4)**: 133-136.
- Castro GA, Carvalho JE, Tinti SV, Possenti A, Sgarbieri VC.** (2010). Antiulcerogenic effect of a whey protein isolate and collagen hydrolysates against ethanol ulcerative lesions on oral administration to rats. *J Med Fd.* **13(1)**: 83-90.
- Cenac A, Simonoff M, Djibo A.** (1996). Nutritional status and plasma trace elements in peripartum cardiomyopathy. A comparative study in Niger. *J Cardiovas Risk.* **3**: 483-487.
- Chang L.** (2008). The role of stress on physiological responses and clinical symptoms in irritable bowel syndrome. *Cur Mol Med.* **8(4)**: 299-312.
- Chari S, Teysen S, Singer MV.** (1993). Alcohol and secretion acid gastric secretion in humans. *Gut.* **34(6)**: 843-847.
- Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P, Banerjee RK.** (2006). Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *J Free Rad Biol Med.* **40(8)**: 1397-1408.
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y.** (1998). Tannins and human health: a review. *Crit Rev Fd Sci Nutr.* **38**: 421-464.
- Clarke RA.** (1988). Overview and general considerations of wound repair. In: The molecular and cellular biology of wound repair. Clarke RAF, Henson PM (eds). Plenum, New York, pp 3-23.
- Coskun T, Alican I, Yegen I, San T, Cetinal S, Hurtel H.** (1995). Cyclosporin A reduces the severity of cold restraint induced gastric lesions: role of leucocytes. *Dig.* **56**: 211-219.

- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL.** (1999). Gastric ulceration. Edition Saunders, Philadelphia, pp 298-299.
- Cover TL, Blaser MJ.** (2009). *Helicobacter pylori* in health and Disease. *Gastroenterol.* **136(6)**: 1863-1873.
- Cristoni A, Magistretti MJ.** (1987). Antiulcer and healing activity of *Vaccinium myrtillus* anthocyanosides. *Il Farmaco.* **2**: 29-43.
- Cryer B.** (2001). Mucosal defense and repair: Role of prostaglandins in the stomach and duodenum. *Gastroenterol Clin Nor Am.* **30**: 877-894.
- Darling RL, Romero JJ, Dial EJ, Akounda JK, Langenbach R, Lichtenberger.** (2004). The effect of aspirin on gastric mucosa integrity, surface hydrophobic, and prostaglandin metabolism in cyclooxygenase knockout mice. *Gastroenterol.* **127(1)**: 94-104.
- De-Faria FM, Almeid AC, Luiz-Ferreira A, Takayama C, Dunder RJ, Da Silva, MA, Salvador MJ, Abdelnur PV, Eberlin MN, Vilegas W, Toma W, Souza-Brito AR.** (2012). Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. *Sci Wld J.* doi: 10.1100/2012/327071.
- Delaney JA, Opatrny L, Brophy JM, Suissa S.** (2007). Drug interactions between antithrombotic medications and the risk of gastrointestinal bleeding. *Can Med Ass J.* **14(4)**: 347-351.
- Del Corso L, Pastine F, Protti MA, Romanelli AM, Moruzzo D, Ruocco L, Pentimone F.** (2000). Blood zinc, copper and magnesium in aging. A study in healthy home-living elderly. *Panminerva Med.* **42**: 273-277.
- Dembe JC.** (2006). Anatomie du système digestif. Faculté de Médecine, Université de Genève, pp 25-30.
- De Sousa FH, Leite JA, Barbosa-Filho JM, De Athayde-Filho PF, De Oliveira Chaves MC, Moura MD, Ferreira AL, De Almeida AB, Souza-Brito AR, De Fatima FM, Diniz BLM.** (2008). Gastric and duodenal antiulcer activity of alkaloids: a review. *Mol.* **13(12)**: 3198-3223.
- Dévenport HW.** (1966). Physiology of the digestive tract. Year Book Medical publisher INC. 2nd edition, Chicago, pp 104-106.
- Dibong SD, Mpondo ME, Ngoye A, Priso RJ.** (2011). Modalities of exploitation of medicinal plants in Douala's region. *Am J Fd Nutr.* **1(2)**: 67-73.
- Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F.** (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Lif Sci.* **64**: 337-353.

- Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F, Autore G.** (1994). Effect of quercetin on the gastrointestinal tract in rats and mice. *Phytother Res.* **8**: 42-45.
- Diegelmann RF, Rothkopf LC, Cohen IK.** (1975). Measurement of collagen biosynthesis during wound healing. *J Surg Res.* **19**: 239.
- Dimaline R, Varo A.** (2007). Attack and defense in the gastric epithelium- a delicate balance. *Experiment Physiol.* **92(4)**: 591-601.
- Dissemond J, Goos M, Wagner SN.** (2002). The role of oxidative stress in the pathogenesis and therapy of chronic wounds. *Hautarzt.* **53**: 718-723.
- Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P.** (1996). Classification and grading of gastritis. The Sydney system. *Am J Surg Pathol.* **20(10)**: 1161-1181.
- Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I.** (2004). Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lip Res.* **44(3)**: 200-227.
- Edward CRW, Bouchier IAD, Haslett C.** (1995). Diseases of the stomach. In: Davison's principles and practice of medicine. London, Churchill Livingstone, pp 425-434.
- Ellman GL.** (1959). Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys.* **82**: 70-77.
- El-Sohemy A, Baylin A, Spiegelman D, Ascherio A, Campos H.** (2002). Dietary and adipose tissue gamma-tocopherol and risk of myocardial infarction. *Epidemiology* **13**: 216-223.
- Erhabor JO, Idu M, Udo FO.** (2013). Ethnomedicinal survey of medicinal plants used in the treatment of male infertility among the IFA Nkari people of Ini Local Government Area of Akwa Ibom State, Nigeria. *Res J Rec Sci.* **2**: 5-11.
- Esteves I, Souza IR, Rodrigues M, Cardoso LGV, Santos LS, Sertie JAA, Perazzo FF, Lima LM, Schneedorf JM, Bastos JK, Carvalho JCT.** (2005). Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *J Ethnopharmacol.* **101(1-3)**: 191-196.
- Falcão HDS, Leite JA, Barbosa-Filho JM, Athayde-Filho PF, Chaves MC, Moura MD, Ferreira AL, Almeida ABA, Souza-Brito ARM, Diniz MFF, Batista LM.** (2008). Gastric and Duodenal Antiulcer Activity of Alkaloids: A Review. *Molec.* **13**: 3198-3223.
- Fallone CA, Morris GP.** (1995). Topical nicotine protects rat gastric mucosa against ASA-induced damage. A role for mucosal fluid secretion in cytoprotection. *Dig Dis Sci.* **40**: 936-942.
- Farhadi A, Banan A, Keshavararzian A.** (2003). Role of cytoskeletal structure in modulation of intestinal permeability. *Arch Iran Med.* **6(21)**: 49-53.

- Fauchere JL.** (1999). Bacteriological characteristics and diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Laborama*. **6**: 10-14.
- Favier A.** (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Dans: mécanismes biochimiques. *Actu chim*. 108-115.
- Feig BW, Nahrwold DL.** (1988). Leucine and the intestinal phase of gastric acid secretion. *Surg*. **104**: 412-418.
- Flemstrom G, Garner A, Nylander O, Hurst BC, Heylings JR.** (1982). Surface epithelial HCO₃⁻ transport by mammalian duodenum *in vivo*. *Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol)*. **234**: 348-358.
- Focho DA, Ndam WT, Fonge BA.** (2009). Medicinal plants of Aguambu - Bamumbu in the Lebiale highlands, southwest province of Cameroon. *Afr J Pharm Pharmacol*. **3(1)**: 001-013.
- Fouet P.** (1983). Physiologie de l'estomac. Gastroentérologie (Abbrégés), 2^{ème} édition Masson, Paris XII-Creteuil, pp 19-81.
- Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H, Hirai Y.** (2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol Immunol*. **48**: 251-261.
- Ganong W.** (2003). Review of medical physiology. 21st edition, Masson, San Francisco, pp 450- 482.
- Garg VK, Paliwal SK.** (2011). Wound-healing activity of ethanol and aqueous extracts of *Ficus benghalensis*. *J Adv Pharm Tech Res*. **2(2)**: 110-114.
- Gastard J, Bretagne JF, Raoul JL, Cottureau J.** (1990). Epidémiologie, histoire naturelle de l'ulcère gastroduodéal. Dans: La maladie ulcéreuse. Edition Doin, Paris, pp: 5-10.
- Gerritsen ME, Carley WW, Ranges GE, Shen CP, Phan SA.** (1995). Flavonoids inhibit Cytokine induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *Am J Pathol*. **147**: 278-292.
- Gey KF, Brubacher GB, Stahelin HB.** (1987). Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr*. **45**: 1368-1377.
- Gharzouli K, Gharzouli A, Amira S, Khennouf S.** (1999). Prevention of ethanol-induced gastric lesions in rats by natural honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture. *Pharmacol Res*. **39(2)**:151-156.
- Gill NS, Bali M.** (2011). Isolation of antiulcer Cucurbitane type triterpenoid from the seeds of *Cucurbita pepo*. *Res J phytochem*. **5(2)**: 70-79.

- Goel RK, Siram K.** (2002). Antiulcer drugs from indigenous sources with emphasis on *Musa sapientum*, *Tamrabhasma*, *Asparagus rasemosus* and *Zingiber officinalis*. *Ind J pharmacol.* **34**: 98-102.
- Gorman RR.** (1978). Prostaglandins, thromboxanes and prostacyclins. *Int Rev Biochem.* **48**: 81.
- Graumlich JF.** (2001). Preventing gastroenterology complication of NSAIDs. *Postgrad Med.* **109(5)**: 117-120.
- Halici M, Odabasoglu F, Souleyman H, Cakir A, Aslan A, Bayir Y.** (2005). Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomed.* **12(9)**: 656-662.
- Halliwell B.** (1999). Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutr Rev.* **57**: 104-113.
- Halliwell B.** (1994). Antioxidants sense or speculation. *Nutr Tod.* **29**: 15-19.
- Halliwell B.** (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Com.* **9**: 1-32.
- Hara N, Okabe S.** (1985). Effect of generate on acute lesion in rats. *Fol Pharmacol Jap.* **85**: 443-448.
- Harlan JA.** (1987). Consequences of leucocytes vessel wall interactions in inflammatory and immune reactions. *Semin Thromb Hemost.* **13**: 434-444.
- Heine H.** (1966). Flore du Gabon. Acanthaceae. Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, volume 3, pp 29-32.
- Henriques AT, Limberger RP, Kerber VA, Moreno PR.** (2004). In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. Simões CM et al., Eds. Editoras of the Universidades Federais de Santa Catarina and Rio Grande do Sul: Porto Alegre/Florianópolis, Brazil, pp 765-792.
- Henry RJ, Canon DC, Winkelman JW.** (1974). Clinical chemistry, principles and Techniques. Harper & Row, 2^{eme} edition, pp 412-525.
- Hirano H, Osawa E, Yamaoka Y, Yokoi T.** (2001). Gastric-mucous membrane protection activity of coptisine derivatives. *Biol Pharm Bull.* **24**: 1277-1281.
- Hirano H, Tokuhira T, Yoshioka Y, Yokoi T, Shingu T.** (2000). Analysis of gastric mucous membrane-protective compounds in *Coptidis rhizoma*. *Nat Med.* **54**: 209-212.
- Hitner H, Ngale B.** (1999). Basic Pharmacology. 4th edition, Glencoel Mc Graw-Hill, Columbus, pp 413-433.
- Holgrem A.** (2003). Redox regulation of genes and cell function. In: Critical review oxidative stress and aging. Volume II Cutle RG and Rodriguez H. Eds. *Wld Sci.* **2**: 102-111.

- Holzer P.** (2006). Neural regulation of gastrointestinal blood flow. In: Physiology of the gastrointestinal tract. Johnson LR, 4th edition, Academic Press, New York, EUA, pp: 817-839.
- Hung C.** (2005). Effect of lysozyme chloride on betel quid chewing aggravated gastric oxidative stress and hemorrhagic ulcer in diabetic rats. *Wld J Gastroenterol.* **11(37)**: 5853-5858.
- Husain SS, Szabo IL, Pai R, Soreghan B, Jones MK, Tarnawski AS.** (2001). MAP(ERK-2) kinase- a key target for NSAIDs-induced inhibition of gastric cancer cell proliferation and growth. *Lif Sci.* **9(25)**: 3045-3054.
- Ignatenko LG.** (1984). Effect of carbon branched-chain amino acids on gastric secretion. *Vop Pitan.* **3**: 51-53.
- Ikeda M, Shiratori K, Shimizu K, Watanabe S, Hayashi N.** (1997). The mechanisms of the inhibition of gastric acid secretion induced by intraduodenal amino acids in rats. *Nih Shok Gak Zas.* **94**: 12-20.
- Imre G.** (1964). Role of lactic acid. *Br J Ophthalmol.* **48**: 75-82.
- Iwu MM.** (1993). Handbook of African Medicinal Plants. CRC Press, Inc, Florida, p: 1349.
- Izzo AA, Di Carlo G, Mascolo N, Autore G, Capasso F.** (1994). Antiulcer effect of favonoids. Role of endogenous PAF. *Phytother Res.* **6**: 179-181.
- Jalalpure SS, Agrawal N, Patil MB, Chimkode R, Tripathi A.** (2008). Antimicrobial and wound healing activities of leaves of *Alternanthera sessilis* Linn. *Inter J Green Pharm.* **2(3)**:141-144.
- Jan M, Hussain A, Naeem SM, Malik SA, Masood UR, Rehaman, Hassan M.** (2004). Comparison between the effects of the extract of *Myristica fragrans* and cimetidine on the volume and acidity of carbachol-induced gastric secretion in fasting rabbits. *Pak J Med Res.* **43(4)**:191-194.
- Jensen RT.** (2000). Gastrointestinal abnormalities and involvement in systemic mastocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am.* **14**: 579-623.
- Jesus NZT, Falcão HDS, Gomes IF, Leite TJA, Lima GRM, Barbosa-Filho JM, Tavares JF, Silva MS, Athayde-Filho PF, Batista LM.** (2012). Tannins, peptic ulcers and related mechanisms. *Int J Mol Sci.* **13**: 3203-3228.
- Johansson M, Synnerstad I, Holm L.** (2001). Acid transport through channels in the mucous layer of rat stomach. *Gastroenterol.* **119(5)**: 1297-1304.
- Johnson FR, McMinn RMH.** (1991). The cytology of wound healing of the body surface in mammals. *Biol Rev.* **35**: 364-368.

- John-Africa LB, Yahaya TA, Isimi CY.** (2014). Anti-ulcer and wound healing activities of *Sida corymbosa* in rats. *AJTCAM*. **11(1)**: 87-92.
- Jones DP, Mody VC, Carlson JL.** (2002). Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. *Free Radic Biol Med*. **33**: 1290-1300.
- Jones R.** (2001). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prescribing: past, present, and future. *Am J Med*. **110(1)**: 4-7.
- Kadamani B, Kumar MS, Revathi P, Shyam KP.** (2011). Gastric ulcer protective property of calcium channel blockers in male albino rats. *Int J Pharma Bio Sci*. **2(1)**: 629-636.
- Kahle W, Leonhard H, Platzer W.** (1995). Anatomie 2, Viscères. Edition française dirigée par Cabrol C, Flammarion Médecine Sciences, 2^{ème} édition, pp: 204-212.
- Kaith BS, Kaith NS, Chauhan NS.** (1996). Anti-inflammatory effects of *Arnebia euchroma* root extract. *J Ethnopharmacol*. **55**: 77-80.
- Karodi R, Jadhav M, Rub R, Bafna A.** (2009). Evaluation of the wound healing activity of crude extract of *Rubia cordifolia* L. (Indianmadder) in mice. *Int J Apl Res Nat Prod*. **2**: 12-18.
- Kato S, Aihara E, Yoshii K, Takeuchi K.** (2005). Dual action of prostaglandin E₂ on gastric acid secretion through different EP receptor subtypes in the rat. *Am J Physiol*. **81(1)**: 64-69.
- Kato M, Yamaoka Y, Jae JK, Reddy R, Asaka M, Kashima K, Osato MS, El-Zaarai KAF, Graham YD, Kwon HD.** (2000 a). Regional differences in metronidazole resistance and increasing clarithromycin resistance among *Helicobacter* isolates from Japan. *Antimicrob Ag Chemother*. **44(8)**: 2214-2216.
- Kato S, Tanaka K, Kunikata T, Mizoguchi H, Takeuchi K.** (2000). The roles of nitric oxide and prostaglandins in alterations of ulcerogenic and healing response in adjuvant-induced arthritic rat stomachs. *Ali pharmacol ther*. **14(1)**: 18-25.
- Kayode OA.** (1991). Gastric acid secretion and parietal cells mass: Effects of sex hormones. *Gastroenterol*. **101**: 66-69.
- Khalaf NA, Shakya AK, Al-Othman A, El-Agbar Z, Farah H.** (2008). Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk J Biol*. **32**: 51-55.
- Khennouf S, Benabdallah H, Gharzouli K, Amira S, Ito H, Kim T, Yoshida T, Gharzouli A.** (2003). Effect of tannins from *Quercus suber* and *Quercus coccifera* leaves on ethanol-induced gastric lesions in mice. *J Agric Food Chem*. **51**: 1469-1473.

- Kimura M, Saziki R, Arai I, Tarumoto Y, Nakane S.** (1984). Effect of z-carboxymethoxy-4,4'-bis (3-methyl-2-butenyloxy) chalcone (sofalcone) on chronic gastric ulcers in rats. *Jap J Pharmacol.* **35**: 389-396.
- Kirscher CW, Shetler MR.** (1974). Collagen and mucopolysaccharides in the hypertrophic scar. *Connect Tis Res.* **3**: 205-213.
- Kishore DV, Pinto J, Mini KV.** (2011). Anti ulcer activity of methanolic and aqueous extracts of leaves of *Sapindus trifoliatus* linn. *Int J Pharm Sci Rev Res.* **6(1)**: 25-27.
- Kobayashi T, Ohta Y, Yoshino J, Nakazawa S.** (2001). Teprenone promotes the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcers in rats by inhibiting neutrophil infiltration and lipid peroxidation in ulcerated gastric tissues. *Pharmacol Res.* **43(1)**: 23-30.
- Kondratenko RM, Baltina LA, Gromakova LS, Khalilov LM, Nasyrov KM, Tolstikov GA.** (2007). Synthesis and anti-inflammatory activity of 8-substituted 7-[thietanyl-3] theophyllines. *Pharm Chem J.* **41**: 357-361.
- Konturek SJ, Konturek PC, Brozowski T.** (2005). Prostaglandins and ulcer healing. *J physiol Pharmacol.* **56(5)**: 5-31.
- Konturek PC, Konturek SJ, Majka J, Zembala M, Hahn EG.** (1997). Melatonin affords protection against gastric lesions induced by ischemia-reperfusion possibly due to its antioxidant and mucosal microcirculatory effects. *Euro J Pharmacol.* **322**: 73-77.
- Konturek SJ, Radecki T, Brzowski T.** (1986). Antiulcer and gastroprotective effects of Solon, a synthetic flavonoid derivative of sophoradin. Role of endogenous prostaglandins. *Euro J Pharmacol.* **125**: 185-192.
- Konturek SJ, Brozowski T, Piastucki I, Radecki T, Dembiska-kiec A.** (1982). Role of locally generated prostaglandins in adaptive cytoprotection. *Dig Dis Sci.* (**27**): 967-971.
- Konturek SJ, Piastucki I, Brozowski T, Dembiska-kiec TRA, Muda A, Gryglewski R.** (1981). Role of prostaglandins in the formation of aspirin-induced ulcers. *J Gastroenterol.* **80**: 4-9.
- Kregel KC.** (2002). Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress response and acquired thermotolerance. *J Applied Physiol.* **92**: 2177-2186.
- Kubo J, Lee JR, Kubo I.** (1999). Anti-*Helicobacter pylori* agents from the cashew apple. *J Agric Food Chem.* **47**: 533-537.
- Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenmam S.** (1980). Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest.* **43**: 47-51.

- Kyogoku K, Hatayama K, Yokomori S, Saziki R, Nakane S, Sasajima M, Sawada J, Ohzeki M, Tanaka I.** (1979). Anti-ulcer effect of isoprenyl flavonoids. II. Synthesis and anti-ulcer activity of new chalcones related to sophoradin. *Chem Pharm Bull.* **27**: 2943-2953.
- La Casa C, Villegas I, Alarcon de La Lastra C, Motilva V, Calero MMJ.** (2000). Evidence of protective and antioxidant properties of rutin, a flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol.* **71(1)**: 45-53.
- Legendijk J, Ubbink JB, Vermaak JH.** (1996). Measurement of the ratio between the reduced and oxidized forms of coenzyme Q10 in human plasma as a possible marker of oxidative stress. *J Lip Res.* **37**: 67-75.
- Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A.** (2008). Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterol.* **135(1)**: 41-60.
- Lakshimi V, Singh N, Shrivastva S, Misha SK, Dharmani P, Palit G.** (2009). Gedunian and photogedunin of *Xilocarpus granatum* show significant antisecretory effects and protect the gastric mucosa of peptic ulcer in rats. *Phytomed.* **10**: 101-116.
- Lambert KG, Kinsley CH.** (1993). Sex differences and gonadal hormones influence susceptibility to activity-stress paradigm. *Physiol Behav.* **53**: 1085-1090.
- Lanas A, Scheiman J.** (2007). Low-dose aspirin and upper gastrointestinal damage: epidemiology, prevention and treatment. *Cur Med Res Opi.* **23(1)**: 163-173.
- Leite SN, Palhano G, Almeida, Biavatti MW.** (2002). Wound healing activity and systemic effects of *Vernonia scorpioides* gel in guinea pig. *Fitoterapia.* **73**: 496-500.
- Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, Oates JF, Bernard CW, Rosen H.** (1965). The healing of rat skin wounds. *Ann Surg.* **161**: 293-308.
- Levenstein S, Ackerman S, Kiecolt-Glaser JK, Dubois A.** (1999). Stress and peptic ulcer disease. *J Am Med Ass.* **6(1)**: 10-11.
- Lichtenberger LM.** (1999). Gastroduodenal mucosal defense. *Current Opinion Gastroenterol.* **15(6)**: 462-472.
- Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN.** (1989). Growth factors in wound healing. Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest.* **84**: 640-646.
- Ma L, Wallace JL.** (2000). Endothelial nitric oxide synthetase modulates gastric ulcer healing in rats. *Am J Physiol.* **279(2)**: 341-346.
- Magistretti MJ, Conti M, Cristoni A.** (1988). Antiulcer activity of an anthocyanidin from *Vaccinium myrtillus*. *Arzneim Forsch.* **38**: 686-690.

- Mahmood AA, Sidik K, Salmoh I, Suzainur KAR, Philip K.** (2005 a). Anti-ulcerogenic activity of *Ageratum conyzoides* leaf extract against ethanol induced ulcer in the rats as animal model. *Inter J Mol Adv Sci.* **1(4)**: 402-405.
- Mahmood AA, Sidki K, Salmah I.** (2005 b). Antiulcer and gastroprotective effects of Honey in combination with *Trigonella foenum graecum* seeds extracts on experimental ulcer in rats. *Int J Mol Adv Sci.* **1(3)**: 22-229.
- Mancinelli S, De la Fuente G, Manriquez V, Aracena M, Munoz R, Mancinelli S, Munoz R.** (1990). The etiopathogenesis of acute stress ulcer: The role of oxygen free radicals. *Rev Med Chile.* **118(9)**: 965-970.
- Mandade RJ, Sreenivas SA, Sakarkar DM, Choudhury A.** (2011). Pharmacological effects of aqueous-ethanolic extract of *Hibiscus rosasinensis* on volume and acidity of stimulated gastric secretion. *Asian Pac J Trop Med.* (**11**): 883-888.
- Manicheva OA, Barnaulov OD.** (1984). Effect of plant drugs on the nucleic acid content of gastric tissues during ulcerogenesis. *Rastit Resu.* **20**: 256-264.
- Marhuenda E, Martin MJ, Alarcon de la Lastra C.** (1993). Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytother Res.* **7**: 13-16.
- Marieb EN, Hoehn K.** (2007). Anatomie et Physiologie Humaines. Adaptation de la 7^e Edition Américaine, Paris, Bruxelles, pp 906-932.
- Marshall BJ, Warren JR.** (1984) Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulcer. *Lancet.* **1**: 1311-1315.
- Martin MJ, Jimenez MD, Motilva V.** (2001). New issues about nitric oxide and its effects on the gastrointestinal tract. *Cur Pharm Des.* **7**: 881-908.
- Martin MJ, La Casa C, Alarcon de la Lastra C, Cabeza J, Villegas I, Motilva V.** (1998). Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z Naturforsch.* **53**: 82-88.
- Martin P.** (1997). Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Sci.* **276(5309)**: 75-81.
- Martin MJ, Motilva V, Alarcon de la Lastra C.** (1993). Quercetin and naringenin: Effects on ulcer formation and gastric secretion in rats. *Phytother Res.* **7**: 150-153.
- Matsuda H, Li Y, Murakami T, Yamahara J, Yoshikawa M.** (1998). Protective effects of oleanolic acid oligoglycosides on ethanol- or indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats. *Lif Sci.* **63**: 245-250.
- Mboso OE, Eyong EU, Odey MO, Osakwe E.** (2013). Comparative phytochemical screening of *Ereromastax speciosa* and *Ereromastax polysperma*. *J Nat Prod Plant Res.* (**2**): 37-41.

- McCull K, El-Omar E, Gillen D.** (1998). Interactions between *Helicobacter pylori* infection, gastric acid secretion and anti-secretory therapy. *Br Med Bull.* **54**: 121-138.
- McDonald JA, Quade BJ, Broekelmann TJ.** (1987). Fibronectin's cell-adhesive domain and an amino terminal matrix assembly domain participate in its assembly into fibroblast pericellular matrix. *J Biol Chem.* **262**: 2957-2967.
- Megraud F.** (2003). Quand et comment s'infecte-t-on par *Helicobacter pylori*? *Gastroenterol Clin Biol.* **27**: 374- 379.
- Meserau WA, Hinchey EJ.** (1973). Effect of gastric acidity in gastric ulceration induced by hemorrhage in the rats utilizing a gastric chamber technique. *Gastroenterol.* **64**: 1130-1135.
- Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F.** (1998). Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Bio Med.* **25**: 676-681.
- Miller TA.** (1982). Protective effect of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms. *Am J Physiol (Gastrointest Liv Physiol).* **(8)245**: 601-603.
- Misra HP, Fridovich I.** (1972). The role of super oxide anion in the auto oxidation epinephrine to adrenochrome and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* **247**: 3170-3175.
- Morikawa T, Li N, Nagatomo A, Matsuda H, Li X, Yoshikawa M.** (2006). Triterpene saponins with gastroprotective effects from tea seed (the seeds of *Camellia sinensis*). *J Nat Prod.* **69(2)**:185-190.
- Moroney MA, Alcaraz MJ, Folder RA, Carey F, Hoult SRS.** (1988). Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition by anti-inflammatory favonoid glycoside and related aglycone favonoids. *J Pharm Pharmacol.* **40**: 787-792.
- Mota KSL, Dias GEN, Pinto MEF, Luiz-Ferreira A, Souza-Brito ARM, Hiruma-Lima CA, Barbosa-Filho JM, Batista LM.** (2009). Flavonoids with gastroprotective activity. *Molec.* **14**: 979-1012.
- Motilva V, Alarcon de la Lastra C, Martin MJ.** (1993). Ulcer protecting effects of naringenin on gastric lesions induced by ethanol in rat: Role of endogenous prostaglandins. *J Pharm Pharmacol.* **46**: 91-94.
- Mpondo ME, Dibong SD.** (2012). Traditional Knowledge on Medicinal Plants Use by Ethnic Communities in Douala, Cameroon. *Euro J Med Plants.* **2(2)**: 159-176.

- Murakami S, Isobe Y, Kijima H, Nagai H, Muramatu M, Otomu S.** (1991). Inhibition of gastric H⁺-K⁺-ATPase and acid secretion by ellagic acid. *Planta Medica*. **57**: 305-308.
- Ndabaneze E, Brazira L, Kandende P, Aubry P, Laroche R.** (1990). Epidémiologie de la maladie ulcéreuse gastroduodénale au Burundi. *Méd Afr Noire*. **37(10)**: 529-537.
- Ndenecho EN.** (2009). Herbalism and resources for the development of ethnopharmacology in Mount Cameroon region. *Afr J Pharm Pharmacol*. **3(3)**: 078-086.
- Ndjitoyap NEC, Tzeuton C, Mbakop A, Pouepene J, Guemme TA, Njoya O, Tagne SM, Ngu LJ.** (1990). Endoscopie digestive haute au Cameroun. *Méd Afr Noire*. **37(9)**: 453-456.
- Netter FH.** (2004). Atlas d'anatomie humaine. Traduction française de la 3^e édition anglaise, Masson, Paris, pp 267-269.
- Niiho Y, Mitsunaga K, Koike K, Ohmoto T.** (1994). Studies on the gastric antiulcer components from the woods of *Picrasma quassioides* (Simaroubaceae). *Nat Med*. **48**: 116-121.
- Noldin VF, Martins DTO, Marcello CM, Lima JCS, Monache FD, Cechinel-Filho V.** (2005). Phytochemical and antiulcerogenic properties of rhizomes from *Simaba ferruginea* St. Hill. (Simaroubaceae). *Z Nat*. **60**: 701-706.
- Oates PJ, Hakkinen JP.** (1985). Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterol*. **94**: 10-21.
- Oben JE, Sheila EA, Agbor GA, Musoro DF.** (2006). Effect of *Eremomastax speciosa* on experimental diarrhoea. *AJTCAM*. **3(1)**: 95-100.
- Oh TY, Ahn GJ, Choi SM, Ahn BO, Kim WB.** (2005). Increase susceptibility of ethanol-treated gastric mucosa to naproxen and its inhibition by DA-9601, an *Artemisia asiatica* extract. *Wld J Gastroenterol*. **11(47)**: 7450-7456.
- Ohara T, Asaki S, Toyota T.** (1990). Biological evaluation of superoxide dismutase observed in a state of acute gastric mucosal lesions. *Jap J Gastroenterol*. **87(1)**: 1-7.
- Ohta Y, Kobayashi T, Nishida K, Nagata M, Ishiguro I.** (1999). Therapeutic effect of Oren-gedoku-to extract on stress-induced acute gastric mucosal lesions in rats. *Phytother Res*. **13(7)**: 588-592.
- Okabe S, Amagase K.** (2005). An overview of acetic acid ulcer models: the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biol Pharm Bull*. **28(8)**: 1321-41.
- Okamoto T, Yoshiyama H, Nakazawa T, In-Dai P, Myung WC, Yanai H, Okita K, Shirai M.** (2002). A change in PBP1 is involved in amoxicillin resistance of clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Ag Chemother*. **50**: 849-856.

- Okokon JE, Antia BS, Udoh AE, Akpan MM.** (2007). Antianaemic and Antimicrobial Activity of *Eremomastax speciosa*. *J Pharmacol Toxicol.* **2**: 196-199.
- Olaleye SB, Adaramoye OA, Erigbali PP, Adeniyi OS.** (2007). Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats. *Wld J Gastroenterol.* **14(38)**: 5121-5126.
- Oliveira FA, Vieira-Júnior GM, Chaves MH, Almeida FR, Florêncio MG, Lima RC, Silva RM, Santos FA, Rao VS.** (2004). Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacol Res.* **49(2)**: 105-111.
- Olowookorun MO.** (1975). Influence of sex hormone and atropine sulphate on gastric acid secretion in rat. *J Nig Vet Med Assoc.* **4**: 72-74.
- Ozaki Y.** (1989). Pharmacological studies of indole alkaloids obtained from domestic plants *Uncaria rhynchophylla* Miq. and *Amsonia elliptica* Roem. and Schult. *Nip Yak Zas.* **94**: 17-26.
- Park JS, Choi MA, Kim BS, Han IS, Kurata T, Yu R.** (2000). Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats. *Lif Sci.* **67**: 3087-3093.
- Parsons ME.** (1996). Control of gastric secretion. *Proc Nutr Soc.* **55**: 251-258.
- Perez-Zoghbi JF, Mayora A, Ruiz MC, Michelangeli F.** (2008). Heterogeneity of acid secretion induced by carbachol and histamine along the gastric gland axis and its relationship to $[Ca^{++}]_i$. *Am J Gastrointest (Liv Physiol).* **295(4)**: 671-681.
- Perez-Zoghbi JF, Ruiz MC, Michelangeli F.** (2001). Simultaneous measurement and imaging of intracellular Ca^{++} and H^+ transport in isolated rabbit gastric glands. *J Physiol.* **537**: 735-747.
- Peskar BM, Maricic N, Gretzera B, Schuligoi R, Schmassmann A.** (2001). Role of cyclooxygenase-2 in gastric mucosal defense. *Lif Sc.* **9(69)**: 2993-3003.
- Pillai NR, Santhakumari G.** (1984). Effects of nimbidin on acute and chronic gastroduodenal ulcer models in experimental animals. *Planta Medica.* **50**: 143-147.
- Pincemail J.** (2005). Comment évaluer votre état de stress oxydant? Le Stress oxydant. <File:///D:/Documents%20and%20Setting/collegeu20je/Bureau/Leu20Stress%200xyd.> 20/09/2008, 15 h 30.
- Pospai D, Sobhani I, Migon M.** (2005). Maladie ulcéreuse duodénale et gastrique non compliquée. Flammarion-Médecine-Sciences, Paris, pp 331-334.

- Rainsford KD.** (1978). Gastric ulcerogenicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs in mice with mucosa sensitized by cholinomimetic treatment. *Biochem Pharmacol.* **27**: 1281-1289.
- Rambaud JC.** (2005). Physiologie de la maladie ulcéreuse duodénale et gastrique. Dans: *Traité de Gastroentérologie.* Edition Flammarion, Médecine-Sciences, Paris, pp 331-334.
- Reinaldo SG.** (2003). La santé par les plantes. Edition interaméricaine, Miami, p 384.
- Remensnyder JP, Majno G.** (1969). Oxygen gradients in healing wounds. *Am J Pathol.* **52**: 301-319.
- Repetto MG, Llesuy SF.** (2002). Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Braz J Med Biol Res.* **35**: 523-534.
- Rho TC, Bae E, Kim D, Oh WK, Kim BY.** (1999). Anti-*Helicobacter pylori* activity of Quinolone alkaloids from *Evodiae fructus*. *Biol Pharmacol Bull.* **20(10)**: 1141-1143.
- Robak J, Shridi F, Wolbis M, Kerolikowska M.** (1988). Screening of the influence of flavonoids on lipoxygenase and cyclooxygenase activity in lipid oxidation. *Pol J Pharmacol.* **40**: 451-458.
- Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Davis JP, Fred SD, Hanchar AJ.** (1983). Mild irritants prevent gastric necrosis through “adaptive cytoprotection” mediated by prostaglandins. *Am J Physiol (Gastrointest Liv Physiol).* **8(245)**: 113-121.
- Robert A.** (1981). Prostaglandins and the gastrointestinal tract. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract.* Johnson, S.R. (Ed). Raven Press, New York, pp 1407-1434.
- Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ.** (1979). Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaCl and thermal injury. *Gastroenterol.* **77**: 433-443.
- Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK.** (1986). Transforming growth factor type b: rapid induction of fibrosis and angiogenesis *in vivo* and stimulation of collagen formation *in vivo*. *Proc Nat Acad Sci USA.* **83**: 4167-4171.
- Rosaneli CF, Bighetti AE, Antônio MA, Carvalho JE, Sgarbieri VC.** (2004). Efficacy of a whey protein concentrate on the inhibition of stomach ulcerative lesions caused by ethanol ingestion. *J Med Fd.* **5(4)**: 221-228.
- Ross R, Benditt EP.** (1961). Wound healing and collagen formation. I. Sequential changes in components of guinea pig skin wounds observed in the electron microscope. *J Biophysiol Biochem Cytol.* **11**: 677-700.

- Ryan KA, Van-Doorn LJ, Moran AP, Maura G, Smith T, Maher M.** (2001). Evaluation of Clarythromycin resistance and CagA and VacA genotyping of *Helicobacter pylori* strains from the west of Ireland using Line probe assays. *J Clin Microbiol.* **39**: 1978-1980.
- Saitoh T, Kinoshita T, Shibata S.** (1977). Flavonols of licorice root. *Chem Pharm Bull.* **24**: 1242-1245.
- Salvayre R, Braquet P, Perruchot L, Douste-Blazy L.** (1982). Comparison of the scavenger effect of bilberry anthocyanosides with various Flavonoids. *Flavo Biofavo.* **11**: 437-442.
- Sandor V, Cuparencu B.** (1977). Analysis of the mechanism of the protective activity of some sympathomimetic amines in experimental ulcers. *Pharmacol.* **15**: 208-217.
- Schäffer SE.** (2008). Peptic ulcers. http://www.medicinet.com/peptic_ulcer/glossary.htm. 20/11/2008, 13 h 55.
- Schmassmann A.** (1998). Mechanisms of ulcer healing and effects of non steroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med.* **104(3)**: 43-51.
- Schorderet M.** (1989). Antihistamiques et anti-allergiques. Dans pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Edition Frison-Roche, Paris et édition Slatkine, Genève, pp 238-254.
- Schreiber AB, Winkler ME, Derynck R.** (1986). Transforming growth factor alpha: a more potent angiogenic mediator than epidermal growth factor. *Sci.* **232**: 1250-1253.
- Schubert ML, Peura DA.** (2008). Control of gastric acid secretion in health and disease. *J Gastroenterol.* **134(7)**: 1842-1860.
- Selling JA, Hogan DL, Aly A, Koss MA, Isenberg JI.** (1987). Indomethacin inhibits duodenal bicarbonate secretion and endogenous prostaglandin E₂ output in human subjects. *Anal Int Med.* **106**: 368-371.
- Sen S, Chakraborty R, De B, Mazumder J.** (2009). Plants and phytochemicals for peptic ulcer: An overview. *Phcog Rev.* **3(6)**: 270-279.
- Senel O, Cetinkale O, Ozbay G, Ahçioğlu F, Bulan R.** (1997). Oxygen free radicals impair wound healing in ischemic rat skin. *Ann Plast Surg.* **39(5)**: 516-23.
- Sewing KF, Hannemann H.** (1983). Calcium channel antagonists verapamil and gallopamil are powerful inhibitors of acid secretion in isolated and enriched guinea pig parietal cells". *Pharmacol.* **27**: 9-14.

- Shanbhag TV, Sharma C, Adiga S, Bairy L, Shenoy S, Shenoy G.** (2006). Wound Healing Activity of Alcoholic Extract of *Kaempferia Galangaii* in Wistar Rats. *Ind J Physiol Pharmacol.* **50(4)**: 384-390.
- Sharma P, Singh S, Siddiqui TI, Singh VS, Kundu B, Prathipati P, Saxena AK, Dikshit DK, Rastogi L, Dixit C, Gupta MB, Patnaik GK, Dikshit M.** (2007). alpha amino acid derivatives as proton pump inhibitors and potent anti-ulcer agents. *Euro J Med Chem.* **42**: 386-393.
- Shay JP, Komarov SS, Meranze D, Grunstein M, Simpler H.** (1945). A simple method for the uniform production of gastric ulceration in rat. *Gastroenterol.* **5**: 43-61.
- Shetty S, Udupa S, Udupa L.** (2008). Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extracts of *Ocimum sanctum* in rats. *Evid Based Compl Alt med.* **5**: 95-101.
- Sherwood.** (2006). Physiologie humaine. 2ème édition, De Boeck, Paris, pp 452-462.
- Shuid AN, Anwar MS, Yusof AA.** (2005). The effects of *Carica papaya* Linn. latex on the healing of burn wounds in rats. *Malaysian J Med Hlt Sci.* **3(2)**: 39-47.
- Shukla A, Rasik AM, Patnaik GK.** (1997). Depletion of reduced glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant defense enzymes in a healing cutaneous wound. *Free Radic Res.* **26(2)**: 93-101.
- Silbernagl S, Despopoulos A.** (2002). Atlas de Poche de Physiologie. 3^e édition, Médecine Sciences Flammarion, Paris, pp 232-267.
- Silva MI, Moura BA, Neto MR, Tomé AR, Rocha NF, De Carvalho AM, Macêdo DS, Vasconcelos SM, De Sousa DP, Viana GS, De Sousa FC.** (2009). Gastroprotective activity of isopulegol on experimentally induced gastric lesions in mice: investigation of possible mechanisms of action. *Naun-Schmied Arch Pharmacol.* **380(3)**: 233-245.
- Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus Whetlton A, Makuch R, Eisen G, Agrawal NM, Stenson WF.** (2000). Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the class study: a randomized controlled trial. Celecoxib long-term arthritis safety study. *J Am Med As.* **13(284)**: 1247-1255.
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA.** (2003). Farmacognosia da Planta ao Medicamento. 5th ed, Editora da UFRGS: Porto Alegre, Brasil, p: 424.
- Sinha AK.** (1972). Colorimetric assay of catalase. *Anal Clin Biochem.* **47**: 389-394.

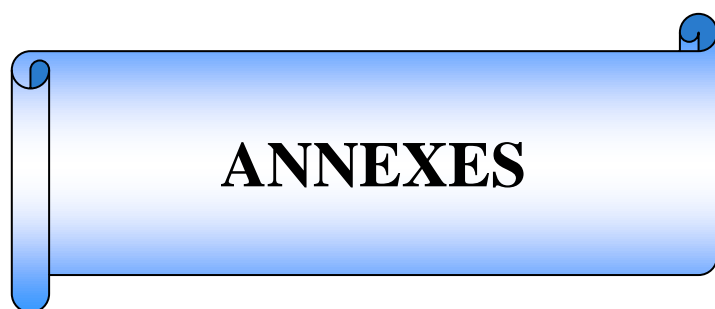
- Siwe TG, Enow-orock EG, Amang AP, Mezui C, Tan PV.** (2015). Acute and subacute toxicological assessment of the aqueous extract of the aerial parts of *Eremomastax speciosa* (Acanthaceae) in Wistar rats. *JAMPS. In press.*
- Skirrow MB.** (1992). *Campylobacter* and *Helicobacter*; Enteritis; Gastritis, In: Medical Microbiology. Greenwood et al., (eds), 14th edition, ELBS, Churchill Livingstone, pp 353-361.
- Sobhani I, Pospai D, Mignon M, Fléjou JF.** (2005). *Helicobacter pylori*: épidémiologie, mécanismes d'altération de la muqueuse et diagnostique bactériologique. Dans: traité de Gastroentérologie. Rambaud JC, Flammarion, Paris, pp 301-308.
- Soll A, Graham D.** (2009). Peptic ulcer disease. In Text Book of Gastroenterology. Yamada T, (Ed) 5th Edition Blackwell Publication Ltd, USA, pp 936-941.
- Souza RHL, Cardoso MSP, Menezes CT, Silva JP, De Sousa DP, Batista JS.** (2011). Gastroprotective activity of α -terpineol in two experimental models of gastric ulcer in rats. *DARU J Pharm Sci.* **19(4)**: 2772-2781.
- Spencer JPE, Schroeter H, Shenoy B, Srari SKS, Debnam ES, Evans CR.** (2001). Epicatechin is the primary bioavailable form of the procyanidin dimers B₂ and B₅ after transfer across the small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.* **285**: 588-593.
- Stenn KS, Depalma L.** (1988). Re-epithelialization. In: The molecular and cellular biology of wound repair. Clarke RAF, Hensen PM (eds). Plenum, New York, pp 321-335.
- Sternemer E.** (2002). Alcohol consumption and gastrointestinal Tract. *Isr Med Ass J.* **4(3)**: 200-202.
- Stevens A, Lowe J.** (1997). Réponses tissulaires aux agressions. Dans: Anatomie pathologique générale et spéciale. Edition de Boek, Washington, pp 57-75.
- Subudhi BB, Sahoo SP.** (2011). Synthesis and antiulcer activity evaluation of Conjugates of aminoacids with N-aryol- N,N'-dicyclohexylurea. *Chem Cen J.* **5**: 51-86.
- Suleyman H, Demireze LO, Kuruuzum-Uz A.** (2004). Effects of *Rumex patientia* root extract on indomethacin and ethanol induced gastric damage in rats. *Phamazie.* **59(2)**: 147-149.
- Sumbul S, Ahmad MA, Mohd A, Mohd A.** (2011). Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview. *J Pharm Bioal Sc.* **3**: 362-367.
- Sun H, Fang WS, Wang WZ, Hu C.** (2006). Structure-activity relationships of oleanane- and ursane-type triterpenoids. *Botanic Stud.* **47**: 339-368.

- Sun Z, Matsumoto T, Yamada H.** (1992). Anti-ulcer activity and mode of action of the polysaccharide fraction from the leaves of *Panax ginseng*. *Planta Medica*. **58**: 432-435.
- Sunairi M, Watanabe K, Suzuki T, Tanaka N, Kuwayama H, Nakajima M.** (1994). Effects of anti-ulcer agents on antibiotic activity against *Helicobacter pylori*. *Euro J Gastroenterol Hepatol*. **6(1)**: 121-124.
- Tagaki K, Okabe S.** (1968). The effects of drugs on the stress ulcer in rats. *Jap J Pharmacol*. **18**: 9-18.
- Takahashi T, Kamiya T, Hasegawa A, Yokoo Y.** (1999). Procyanidin oligomers selectively and intensively promote proliferation of mouse hair epithelial cells in vitro and activate hair follicle growth *in vivo*. *J Invest Dermatol*. **112**: 310-316.
- Takeuchi K.** (2012). Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: Importance of Cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *Wld J Gastroenterol*. **18**: 2147-2160.
- Tan PV, Enow-Orock GE, Dimo T, Nyasse B, Kimbu SF.** (2006 a). Evaluation of the anti-ulcer and toxicity profile of *Aloe buettneri* in laboratory animals. *AJT CAM*. **3(2)**: 8-20.
- Tan PV, Boda M, Sonke B, Etoa FX.** (2006 b). Susceptibility of *Helicobacter* and *Campilobacter* to crude extracts prepared from plants used in Cameroonian folk medicine. *Pharmacologyonl*. **3**: 877-891.
- Tan PV, Nyasse B, Dimo T, Mezui C.** (2002). Gastric cytoprotective anti-ulcer effects of leaf methanol extract of *Ocimum suave* (Lamiaceae) in rats. *J Ethnopharmacol*. **82**: 69-74.
- Tan PV, Nyasse B.** (2000). Anti-ulcer compound from *Voacanga Africana* with possible histamine H₂ receptor blocking activity. *Phytomed*. **7(6)**: 509-515.
- Tan PV, Nyasse B, Enow-Orock GE, Wafo P, Forcha EA.** (2000 a). Prophylactic and healing properties of a new anti-ulcer compound from *Enantia chlorantha* in rats. *Phytomed*. **7(4)**: 291-296.
- Tan PV, Dimo T, Dongo E.** (2000 b). Effect of methanol extract, cyclohexane and methylene choride extracts of *Bidens pilosa* on various gastric ulcer models in rats. *J Ethnopharmacol*. **73**: 415-421.
- Tan PV, Njimi CK, Ayafor JF.** (1997). Screening of some African medicinal plants for antiulcerogenic activity. *Phytother Res*. **11**: 45-47.
- Tan PV, Nditafon GN, Yewah MP, Ayafor JF, Dimo T.** (1996). *Eremomastax speciosa*: Effect on the leaf aqueous extract on ulcer formation and gastric secretion in rats. *J Ethnopharmacol*. **54**: 139-142.

- Tanaka A, Araki H, Komoike Y, Hase S, Takeuchi K.** (2001). Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Physiol.* **95(16)**: 21-27.
- Tandon R, Khanna HD, Goel RK.** (2004). Oxidative stress and antioxidant status in peptic ulcer and gastric carcinoma. *Ind J Phys Pharmacol.* **48(1)**: 15-118.
- Tariq M, Moutaery AR.** (1997). Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of L-Serine in rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* **97**: 171-184.
- Tarnawski A.** (2005). Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig Dis Sci.* **50(1)**: 24-33.
- Telefo PB, Lemfack MC, Bayala B, Lienou LL, Goka CS, Yemele MD, Mouokeu C, Tagne SR, Moundipa FP.** (2012). Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de l'infertilité féminine dans les localités de Fosson-Wentcheng et Foto, Cameroun. *Phytother.* **10**: 25-34.
- Terano A, Hiraishi H, Ota S, Shiga J, Sugimoto T.** (1989). Role of superoxide and hydroxyl radicals in rat gastric mucosal injury induced by ethanol. *Gastroenterol Jap.* **24(5)**: 488-493.
- Theoduloz C, Carrión IB, Pertino MW, Valenzuela D, Schmeda-Hirschmann G.** (2012). Potential gastroprotective effect of novel cyperenoic acid/quinone derivatives in human cell cultures. *Planta Medica.* **78(17)**: 1807-1812.
- Toma W, Trigo JR, Bensuaski de Paula AC, Souza Brito ARM.** (2004). Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. *J Ethnopharmacol.* **95**: 345-351.
- Toma W, Gracioso JDS, Andrade FDP, Hiruma-Lima CA, Vilegas W, Souza-Brito ARM.** (2002). Antiulcerogenic activity of four extracts obtained from the bark wood of *Quassia amara* L (Simaroubaceae). *Biol Pharm Bull.* **25(9)**: 1151-1155.
- Tovey FI, Capanoglu D, Langley GJ, Herniman MJ, Bor S, Ozutemiz O, Hobsley M, Bardhan KD, Linclau B.** (2011). Dietary phytosterols protective against peptic ulceration. *Gastroenterol Res.* **4(4)**: 149-156.
- Tovey FI.** (1977). Geographical aspects of peptic ulcer surgery. *Wld J Sur.* **1(1)**: 47-52.
- Tulassay Z, Herszényi L.** (2010). Gastric mucosa defense and cytoprotection. *Best Pract Res clin Gastroenterol.* **24(2)**: 499-502.
- Tuorkey MJ, Abdul-Aziz KK.** (2011). Gastric ulcers diseases pathogenesis, complications and strategies for prevention. *Webmedcentral.* **2(3)**: 2-24.

- Umadevi KJ, Vanitha V, Vijayalakshmi K.** (2012). Physicochemical evaluation, phytochemical screening and chromatographic fingerprint profile of *Aegle marmelos* (L.) leaf extracts. *Wld J Pharm Res.* **1(3)**: 813-837.
- Urquiaga I, Leighton F.** (2000). Plant phenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res.* **33**: 55-64.
- Valtier J, Vallot T.** (1998). Antacides. Dans: Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Frison-Roche, Paris, pp 555-565.
- Valle J, Kekki M, Sipponen P, Imanishi J, Kashima K, Sirula M.** (1996). Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis. *Scand J Gastroenterol.* **31**: 446-450.
- Vane JR, Botting RM.** (1995). A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoform of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2). *Ad Prost Throm Leu Res.* **23**: 41-48.
- Vela SM, Souccar C, Lima-Landman MT, Lapa AJ.** (1997). Inhibition of gastric acid secretion by the aqueous extract and purified extracts of *Stachytarpheta cayennensis*. *Planta Medica.* **63**: 36-39.
- Vera-Arzave C, Antonio LC, Arrieta J, Cruz-Hernández G, Velasquez-Mendez AM, Reyes-Ramírez A, Sánchez-Mendoza ME.** (2012). Gastroprotection of suaveolol isolated from *Hyptis suaveolens*, against ethanol-induced gastric lesions in Wistar rats: role of prostaglandins, nitric oxide and sulfhydryls. *Mol.* **17(8)**: 8917-27.
- Vitor JMB, Vale FF.** (2011). Alternative therapies for *Helicobacter pylori*: Probiotic and Phytomedicine. *Immunol Med Microbiol.* **63**: 153-164.
- Wan YJ.** (1993). Effect of anisodamine on gastric ulcer induced by restraint water-immersion in rats. *Clin Gastroenterol.* **3**: 154-158.
- Watanabe H, Watanabe K, Shimadzu M, Kikuchi T, Liu Z.** (1986). Anti-ulcer effect of steroidal alkaloids extracted from *Pachysandra terminalis*. *Planta Medica.* **52**: 56-58.
- Whittle BJR.** (1977). Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile salts, and the actions of prostaglandins. *Brit J Pharmacol.* **60**: 455-460.
- Wilbur KM, Bernheim F, Shapiro OW.** (1949). Determination of lipid peroxydation. *Arch Biochem Biophysic.* **24**: 305-310.
- Willoughby DA.** (1970). Some views on the pathogenesis of inflammation. In: The dermis. Advances in the biology of skin. Montagna W, Bently JP, Dobson R (eds). Appelton-Century-Crofts, Norwalk, pp 221-230.

- Wizla-Derambure N, Michaud L, Atego S, Viecent P, Ganga-Zandzou S, Turck D.** (2001). Familial and community risk factors for *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* **33**: 58-63.
- Woodley DT, Bachman PM, O'Keefe EJ.** (1991). The role of matrix components in human keratinocyte re-epithelialization. In: Clinical and experimental approaches to dermal and epidermal repair. Normal and chronic wounds. Barbul A, Caldwell MD, Eaglstein WH et al (eds). Wiley-Liss, New York, pp 129-140.
- Yamamoto k, Kakegawa H, Sudo T, Satoh T.** (1992). Cytoprotective Anti-ulcerogenic actions of hydroxychalcones in rats. *Planta Medica.* **58**: 389-393.
- Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, Graham DY.** (1999). Relation between clinical presentation, *Helicobacter pylori* density, interleukin 1 β and 8 production, and cagA status. *Gut.* **45**: 804-811.
- Yamazaki M.** (2000). The pharmacological studies on matrine and oxymatrine. *Yakugaku Zasshi.* **120**: 1025-1033.
- Yang EY, Nahrwold DL.** (1993). Tyrosine inhibits intestinal-phase gastric-acid secretion. *Surg.* **114**: 915-920.
- Yong DG, Geng BQ, Gu GG, Zhong FM, Yu WH.** (1991). Anti-ulcer effect of anisodamine in rats. *Acta Pharmacol Sin.* **12**: 522-525.
- Yoshikawa M, Morikawa T, Li N, Nagatomo A, Matsuda H.** (2005). Bioactive saponins and glycosides. XXIII. Triterpene saponins with gastroprotective effect from the seeds of *Camellia sinensis*: thea saponins E₃, E₄, E₅, E₆ and E₇. *Chem Pharm Bull.* **53**:1559-1564.
- Zauberman H, Michaelson IC, Bergmann F, Mauric DM.** (1969). Stimulation of neovascularization in the cornea by biogenic amines. *Exp Eye Res.* **8**: 77-83.
- Zhu ZP, Zhang MF, Shen YQ.** (1993). Antiulcer components of *Sophora viciifolia* alkaloids. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa.* **5**: 26-29.



ANNEXES

ANNEXES : PRÉPARATION DES DIFFÉRENTES SOLUTIONS

*a) dilution des extraits et des fractions de *E. speciosa**

Les solutions des extraits et des fractions administrées aux rats ont été préparées par solubilisation de 2 g des extraits et des fractions de *E. speciosa* dans 15 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 20 mL avec d'eau distillée, ce qui correspondait à une solution mère de concentration pondérale 100 mg/mL.

Connaissant la dose (D), le poids de l'animal (P) et la concentration de l'extrait; le volume (V) à administrer à un rat est déterminé à partir de la formule suivante:

$$V = \frac{D \times P}{C}$$

V : en mL

D : en mg/kg

P : en kg

b) solution de HCl/EtOH (150 mM/60%)

La solution ulcérogène (HCl/EtOH) a été préparée à partir de l'acide chlorhydrique 10,75N et de l'éthanol absolu 98,5°. Pour ce faire, 1,4 mL de HCl 10,75N sont prélevés et mélangés à 60,9 mL d'éthanol à 98,5%. Le volume du mélange a été complété à 100 mL avec l'eau distillée. La solution ulcérogène finale de HCl/EtOH (150 mM/60%) prête à être utilisée.

c) solution d'indométacine (indocid[®])

La solution ulcérogène d'indométhacine (10 mg/mL) a été préparée à partir de l'indométhacine (indocid[®]) provenant du laboratoire Merck Sharp et Dohme-Chibert 3, Avenue Hoche-75114, Paris Cedex 08. 20 gélules d'indométhacine de 25 mg chacune ont été dissoutes dans 45 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 50 mL avec d'eau distillée.

d) solution d'acide acétique 30 %

La solution ulcérogène d'acide acétique à 30 % a été préparée en mélangeant 5 mL d'acide acétique 99,5% à 11,6 mL d'eau distillée.

e) solution d'histamine

La solution ulcérogène d'histamine (1 mg/mL) a été préparée en solubilisant 100 mg d'histamine anhydre (2-(4- Imidazolyl) éthylamine diphosphate ($C_5H_9N_3, 2H_3PO_4$) Lot 108H2602, Sigma chemical & Sigma-Aldrich Chemie, USA and Germany) dans 95 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 mL avec d'eau distillée.

f) solution de carbachol

La solution ulcérogène de carbachol (1 mg/ml) a été préparée en solubilisant 100 mg de carbachol anhydre (carbamylcholine chloride ($C_6H_{15}ClN_2O_2$) Lot 79H0110, Sigma chemical & Sigma-Aldrich Chemie, USA and Germany) dans 95 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 mL avec d'eau distillée.

g) solution de sucralfate (ulcar[®])

La solution de sucralfate (100 mg/mL) a été préparée à partir du sucralfate (ulcar[®]) fabriqué par le laboratoire Adventis 46, Quai de la Rapée-75012 Paris, France. Un comprimé de 1 g de sucralfate a été dissout dans 9,5 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 10 mL avec d'eau distillée. Cette solution antiulcéreuse a été utilisée comme médicament de référence.

h) Solution de cimétidine (cimebios 400[®])

Cinq comprimés de cimétidine de 400 mg (NAFDAC REG. NO : 04-8994, lot 110192 North Zone, High-New Technology Industrial Zone, Pingxiang, Jiangxi, China) ont été dissouts dans 35 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 40 mL avec d'eau distillée, ce qui correspondait à une concentration de 50 mg/mL. Cette solution antiulcéreuse a été utilisée comme médicament de référence.

i) solution de ranitidine (azantac 300[®])

Cinq comprimés de ranitidine de 300 mg (Azantac 300 mg, lot. 621, laboratoire Glaxo Smith Kline, Cedex, France) ont été dissouts dans 25 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 30 mL avec d'eau distillée. La solution de ranitidine antiulcéreuse ayant une concentration pondérale de 50 mg/mL a été utilisée comme médicament de référence.

j) solutions de formaldéhyde (10 % et 2 %)

La solution de formaldéhyde 10 % a été préparée à partir d'une solution de formaldéhyde 40 %. Un volume V_1 de formaldéhyde 40 % a été introduit dans une éprouvette graduée et dilué 4 fois avec de l'eau distillée. Cette solution a été utilisée pour fixer les organes.

A partir de la solution de formaldéhyde 10 % obtenue, a été préparée la solution de formaldéhyde 2 %. Un volume V_2 de cette solution a été dilué 5 fois avec de l'eau distillée. Cette solution de formaldéhyde 2 % a été utilisée pour fixer les ulcères.

k) solution de soude (NaOH) 0,1 N

1 g de NaOH anhydre est dissout dans 950 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 1000 mL avec d'eau distillée. La solution de NaOH 0,1 N obtenue a été conservée au frais et utilisée pour le titrage de l'acidité gastrique.

l) solution d'albumine

2,5 g de sérum albumine bovin (Sigma; USA-SL 051444) ont été dissouts dans 45 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 50 mL avec d'eau distillée donnant une solution d'albumine 50 mg/mL. Cette solution a été utilisée pour la détermination de l'activité de la pepsine.

m) solution d'adrénaline

La solution d'adrénaline (0,3 mM) est préparée en dissolvant, 6 mg d'adrénaline dans 95 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 mL avec d'eau distillée.

n) solution de NaCl (9 ‰)

La solution de NaCl a été obtenue en dissolvant 0,9 g de NaCl anhydre (NaCl, lot. n° 6301, Riedel-de Haën; Germany) dans 95 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 mL avec d'eau distillée. Cette solution a été conservée à température ambiante. Elle avait permis de maintenir les cellules en état d'isotonocité physiologique pendant l'opération.

o) solution d'acide perchlorique

La solution d'acide perchlorique a été préparée en mélangeant 50 mL de dichromate de potassium (5 %) avec 150 mL d'acide acétique glacial.

p) réactif de biuret

Le réactif de Biuret a été préparé en dissolvant 0,75 g de sulfate de cuivre, 3 g de tartrate de sodium et de potassium dans 95 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 mL avec d'eau distillée. Cette solution a été nommée solution A. 15 g d'hydroxyde de sodium ont été ensuite dissouts dans 95 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 100 mL avec d'eau distillée: c'était la solution B. Les solutions A et B ont été mélangées, et le volume final a été complété à 500 mL avec l'eau distillée.

q) solution de dichromate de potassium (5 %)

La solution de dichromate de potassium (5 %) a été préparée par la dissolution de 2,5 g de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) dans 45 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 50 mL avec d'eau distillée.

r) réactif d'Ellman

Le réactif d'Ellman a été préparé en mélangeant 4,96 mg d'acide 5,5'-dithio bis-nitrobenzoïque (DTNB), dans une fiole de 250 mL avec le tampon phosphate 0,1 M; pH 6,5 jusqu'au trait de jauge.

s) solution de peroxyde d'hydrogène (50 mM)

La solution de peroxyde d'hydrogène 50 mM, a été préparée en dissolvant 243 μ L de peroxyde d'hydrogène 35% dans 45 mL l'eau distillée. La solution a été complétée à 50 mL avec d'eau distillée

t) tampon carbonate(0,05 M; pH 10,2)

Le tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) a été préparé en dissolvant 4,3 g de carbonate de sodium ($Na_2CO_3 \cdot 10 H_2O$) et 4,2 g d'hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$) dans 900 mL d'eau distillée. Le pH a été ensuite ajusté à 10,2 et le volume complété à 1 L avec l'eau distillée.

u) tampon phosphate (0,1 M pH 6,5)

Le tampon phosphate (0,1 M pH 6,5) a été préparé en dissolvant 3,48 g de phosphate de monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) et 1,07 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 245 mL d'eau distillée. La solution a été complétée à 250 mL avec d'eau distillée.

v) tampon phosphate (0,1 M pH 7,5)

Le tampon phosphate (0,1 M pH 7,5) a été préparé en dissolvant 4,08 g de phosphate monosodique hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) et 11,75 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 0,95 L d'eau distillée. La solution a été complétée à 1 L avec d'eau distillée.

w) tampon Tris-HCl (50 mM pH 7,4)

Le tampon Tris-HCl (50 mM pH 7,4 KCl 150 mM) a été préparé en dissolvant 1,21 g de tribase, 2,79 g de KCl dans 250 mL d'eau distillée. Le pH est ajusté par ajout de HCl 11,8 N et le volume complété à 500 mL avec de l'eau distillée.