

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE



ANNEE 2004

**MEMOIRE
DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES
EN SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES
(Option Physiologie)**

Présenté par
Monsieur Modou Oumy KANE
Docteur en Pharmacie
Maître en Sciences Biologiques et Médicales
Ancien interne des hôpitaux de Dakar

Sujet

**MECANISME D'ACTION DE L'EFFET CHOLERETIQUE
D'UN DECOCTE DE FEUILLES DE *COMBRETUM
MICRANTHUM* SUR DES RATS DE SOUCHE *WISTAR***

Soutenu publiquement le 15 juin 2004 à 15 h devant la commission d'examen :

Président : Monsieur Doudou BA, Professeur

Membres :

Monsieur Babacar FAYE, Professeur

Monsieur Niama Diop SALL, Professeur

Madame Aminata SALL DIALLO, Maître de Conférences Agrégé (Directeur de recherches)

Monsieur Abdoulaye SAMB, Maître de Conférences Agrégé

Remerciements

Au Pr. Aminata Sall Diallo

Au Pr. Babacar Faye

Au Dr Amadou Moctar Dièye

A M. Birame Faye

A M. Alioune Faye

Au Dr Anthony Katanga Békéty

A tout le personnel du laboratoire de Physiologie/ Pharmacologie de la faculté de Médecine et Pharmacie de l' UCAD

A tout le personnel du laboratoire de Pharmacognosie

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A Allah Le Tout Puissant, Le Miséricordieux !

A Son Prophète Mohamed (PSL)

A Son Fidèle serviteur Cheikh Ahmadou Bamba

A mon oncle et guide Serigne Abdoul Khadim Mbacké (in
mémorium)

A mes grands-parents (in memoria)

A mon père et à ma mère

A ma femme Yacine

A ma fille Maty

A Baye Serigne Samb

A Ibra Ndiaye et Modou Kama (in memoria)

A Bouso Guèye Dramé et Oumar Mbaye (in memoria)

A tous mes oncles et tantes

A mes frères et sœurs

A tous mes amis d'enfance et de promotion

A nos maîtres et juges

A notre maître et président de jury Pr. Doudou BA

Vous nous faites un grand honneur en présidant ce jury malgré vos nombreuses préoccupations.

Par vos qualités scientifiques, professionnelles et humaines, vous avez su être un maître très respecté de tous vos étudiants.

Veillez croire cher maître à nos très sincères sentiments d'admiration et de respect.

A notre maître et juge Pr. Babacar FAYE

Nous garderons toujours de vous l'image du maître respectueux des étudiants et du chef de service sensible aux préoccupations de son personnel.

Aucours de nos études, nous avons profité de vos larges connaissances scientifiques et apprécié votre esprit d'ouverture.

Soyez assuré de notre admiration et de notre reconnaissance.

A notre maître et juge Pr. Niama Diop SALL

Nous avons été très touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de figurer parmi les membres de notre jury.

Plus qu'un honneur, c'est une joie pour nous de vous compter parmi nos juges et de profiter de vos compétences.

Nous vous prions cher maître, d'accepter nos vifs remerciements et notre profonde gratitude.

A notre maître et directeur de recherche Pr. Aminata Sall DIALLO

Nous vous remercions de nous avoir guidés de la manière la plus dévouée au cours de la réalisation de ce travail.

Durant toutes ces années passées ensemble, nous avons su apprécier votre disponibilité sans faille, votre abnégation et votre rigueur scientifique indéfectible, le tout sur un fond d'affectivité et de compréhension qui ont fini de faire de vous non plus un simple maître pour nous, mais une véritable mère.

Tout en espérant n'avoir pas déçu votre attente, nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A notre maître et juge Pr. Abdoulaye SAMB

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger à notre jury.

Nous apprécions votre sens élevé de la disponibilité et vos grandes qualités humaines qui font de vous un maître respecté de vos étudiants.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Sommaire

SOMMAIRE

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION	1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
A-RAPPEL SUR LE FOIE ET LA SECRETION BILIAIRE	2
I-ANATOMIE DU FOIE ET DES VOIES BILIAIRES	2
II- COMPOSITION, FORMATION ET SECRETION DE LA BILE	3
II-1-COMPOSITION DE LA BILE	3
II-1-1-CONSTITUANTS ORGANIQUES	3
a) LES ACIDES BILIAIRES	3
b) AUTRES CONSTITUANTS ORGANIQUES	4
II-1-2-CONSTITUANTS INORGANIQUES	5
II-2-FORMATION ET SECRETION DE LA BILE	5
II-2-1-TRANSPORT DES ACIDES BILIAIRES	5
a) CAPTATION	5
b) TRANSPORT INTRACELLULAIRE	6
c) TRANSPORT CANALICULAIRE	6
II-2-2-TRANSPORT DES AUTRES CONSTITUANTS DE LA BILE	6
II-2-3-PHENOMENE D'ABSORPTION	6
II-2-4-PHENOMENE DE SECRETION	7
II-3-VARIATION DE LA SECRETION BILIAIRE	7
II-3-1-HYPERCHOLERESSES	7
II-3-2-CHOLESTASES	8
a) Définition	8
b) PHYSIOPATHOLOGIE DES CHOLESTASES	8
c) MODELES ANIMAUX DE CHOLESTASE	9
B- RAPPELS SUR LE COMBRETUM MICRANTHUM (KINKELIBA)	10
I-BOTANIQUE	10
I-1- PLACE SYSTEMATIQUE DES COMBRETACEES	10
I-2- REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET HABITAT	10
I-3- DESCRIPTION DE LA PLANTE	10
I-4- DESCRIPTION DE LA DROGUE	11
II- ETUDE CHIMIQUE	12
III- MODES DE PREPARATION DU KINKELIBA	13
VI- PHARMACOLOGIE	13

TRAVAUX PERSONNELS

I-MATERIEL ET METHODES	14
I-1- CADRE DE L'ETUDE	14
I-2- MATERIEL	14
I-2- 1) LE MATERIEL VEGETAL : PREPARATION DU DECOCTE DE FEUILLES DE KINKELIBA	14
I-2-1-1- ORIGINE	14
I-2-1-2- BROYAGE	14
I-2-1-3- DECOCTION	14
I-2-2- LES ANIMAUX	14
I-2-3- LE MATERIEL DE LABORATOIRE	15
I-2-3-1- MATERIEL CHIRURGICAL	15
I-2-3-2- AUTRES MATERIELS	15
I-2- METHODES D'ETUDE	16
I-2-1- ETUDE DE L'EFFET DE <i>COMBRETUM MICRANTHUM</i> SUR LA SECRETION BILIAIRE	16
I-2-1-1- PRINCIPE	16
I-2-1-2- MISE AU POINT D'UN MODELE DE CHOLESTASE	16
I-2-1-3- MISE EN EVIDENCE DE L'EFFET DE <i>COMBRETUM MICRANTHUM</i> SUR LES RATS	18
a) EFFET DE DIFFERENTES DOSES DE KINKELIBA SUR LE DEBIT BILIAIRE	18
b) ADMINISTRATION AUX RATS SAINS	18
c) ADMINISTRATION AUX RATS CHOLESTATIQUES	19
I-2-1-4- ANALYSE QUANTITATIVE DE LA BILE	19
I-2-2- ETUDE DU MECANISME D'ACTION DU DECOCTE DE <i>COMBRETUM MICRANTHUM</i>	19
I-2-2-1- DOSAGE DES SELS BILIAIRES	19
I-2-2-2- DOSAGE DU GLUTATHION TOTAL	22
I-2-2-3- DOSAGE DU GLUCOSE	23
I-2-3- ANALYSE DES RESULTATS	24
II- RESULTATS	25
II-1- LE MODELE DE CHOLESTASE	25
II-2- LES ANIMAUX	25
II-3- ETUDE DE L'EFFET DE <i>COMBRETUM MICRANTHUM</i> SUR LA SECRETION BILIAIRE	27
II-4- RESULTATS COMPARES DES DIFFERENTS LOTS	29
II-5- RESULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE DE LA BILE	31
II-5-1- PROFILS DES DIFFERENTS LOTS	31
II-5-2- RESULTATS COMPARES DES LOTS TRAITES PAR RAPPORT AUX LOTS TEMOINS	33
DISCUSSION ET CONCLUSION	35
BIBLIOGRAPHIE	38

Introduction

INTRODUCTION

Le foie, organe noble et vital de par son rôle important dans le métabolisme et dans le maintien de l'homéostasie d'une manière générale peut faire l'objet de nombreuses pathologies.

La plupart de ces maladies hépatiques de même que celles des voies biliaires sont souvent accompagnées de cholestase. Ce syndrome de cholestase peut être le résultat d'une atteinte hépatocytaire non spécifique, virale ou bactérienne.

Les problèmes posés par ces cholestases sont d'ordre thérapeutique, l'efficacité des médicaments disponibles à l'heure actuelle étant loin d'être satisfaisante.

Pourtant dans la pharmacopée sénégalaise, existent des plantes qui semblent donner des résultats encourageants. C'est le cas du kinkéliba dont l'étude que nous nous proposons de faire a pour but d'une part de mettre en évidence les effets sur la sécrétion biliaire de rats sains et de rats rendus cholestatiques ; et d'autre part de déterminer le mécanisme d'action qui soutend cet effet.

Notre travail consistera à :

1 - exposer dans la première partie les données bibliographiques sur la sécrétion biliaire et la physiopathogénie des cholestases et sur la pharmacognosie du kinkéliba.

2 - étudier dans une seconde partie, les variations quantitatives et qualitatives induites par le décocté de feuilles de *Combretum micranthum* chez les rats sains et les rats rendus cholestatiques.

3 - discuter les résultats obtenus avant de livrer nos conclusions.

*Rappels
bibliographiques*

A / - RAPPELS SUR LE FOIE ET LA SECRETION BILIAIRE

Le foie exerce une fonction exocrine qui est la sécrétion biliaire. Une fois élaborée par les hépatocytes, la bile est conduite vers la vésicule biliaire ou le duodénum par les voies biliaires. Dans le duodénum, la bile joue un rôle de premier plan dans la digestion des lipides et des vitamines liposolubles.

I - ANATOMIE DU FOIE ET DES VOIES BILIAIRES [28, 57]

Le foie est une glande volumineuse et très vascularisée. Il reçoit deux gros vaisseaux que sont la veine porte et l'artère hépatique.

La veine porte apporte au foie le sang veineux recueilli dans la portion sous diaphragmatique du tube digestif, le pancréas et la rate.

L'artère hépatique se divise en plusieurs branches au niveau du hile donnant ainsi des rameaux interlobulaires.

La veine porte et l'artère hépatique conduisent le sang au lobe hépatique. Ce même sang se jette dans la veine cave supérieure.

Le foie comprend plusieurs lobules juxtaposés, à facettes polyédriques séparées par un tissu conjonctif. Les lobules sont traversés par une veine centolobulaire autour de laquelle s'organisent les cellules hépatiques en lamelles du centre vers la périphérie. Entre les lames circulent les capillaires sanguins qui convergent vers la veine centolobulaire et les canalicules biliaires qui transportent la bile sécrétée par les cellules hépatiques vers l'espace porte, à la périphérie des lobules.

Les canalicules biliaires convergent pour former les canaux biliaires interlobulaires qui à leur tour s'unissent pour donner un canal unique : le canal hépatique. Le canal hépatique se réunit avec le canal cystique qui provient de la vésicule biliaire pour former le canal cholédoque. Ce dernier atteint le duodénum et s'ouvre dans l'ampoule de Vater.

La sécrétion biliaire fait appel aux caractères bipolaires de l'hépatocyte qui reçoit des constituants plasmatiques au pôle sinusoïdal et rejette de la bile au pôle biliaire, l'ensemble réalisant un système ternaire sinusoïde-hépatocyte-calicule.

II - COMPOSITION, FORMATION ET SECRETION DE LA BILE [2, 25, 27, 57]

La bile est une solution isotonique constituée de composés organiques et inorganiques.

Elle est sécrétée par les hépatocytes dans les canalicules biliaires et est modifiée dans les voies biliaires et la vésicule biliaire.

Les mécanismes cellulaires de sa sécrétion font appel aussi bien aux hépatocytes qu'aux cellules biliaires.

II.1. Composition de la bile

La bile est une solution dans laquelle l'eau représente 90-95%. On y retrouve des composés organiques et des composés inorganiques.

II.1.1. - Constituants organiques

a) Les acides biliaires [28, 57]

Ce sont des composés stéroïdes synthétisés par les hépatocytes à partir du cholestérol.

Les acides biliaires principaux des mammifères sont tous des dérivés hydroxyles d'un noyau commun, l'acide 5 β -cholanoïque.

Les deux principaux acides biliaires dits primaires sont :

- l'acide cholique
- l'acide lithocholique

Ces acides biliaires sont sécrétés dans la bile après avoir été conjugués sous l'action d'une acétyltransférase, principalement à la glycine chez l'homme, ou à la taurine chez le rat par exemple.

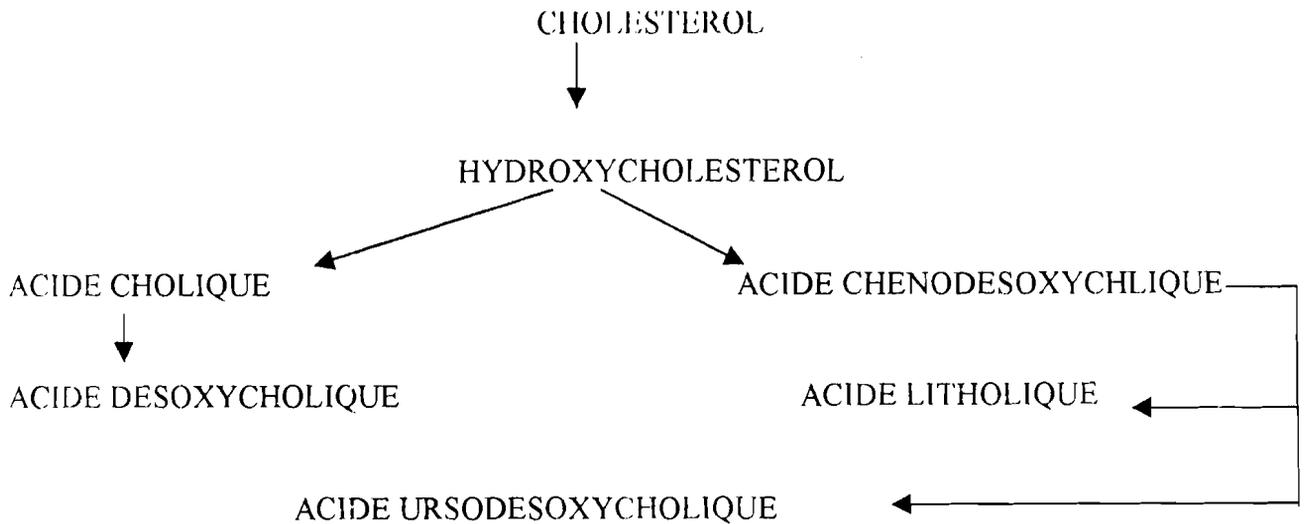


Figure 1 : Synthèse des acides biliaires [57]

Dans l'intestin ils sont métabolisés par l'action de bactéries en acides biliaires secondaires. Après une 7 α -déshydroxylation, l'acide cholique est transformé en acide désoxycholique ; et l'acide chénodésoxycholique en acide litholique qui est très impliqué dans le débit biliaire dépendant des acides biliaires.

Les acides biliaires décrivent une circulation entérohépatique. Une fois présents dans l'intestin, ils sont réabsorbés en partie par un mécanisme de transport actif situé dans l'iléon. Cependant, d'autres parties du tube digestif (jéjunum et le colon) interviennent dans la réabsorption de façon passive.

La synthèse des acides biliaires est régulée par un mécanisme de rétro-contrôle (feed-back).

b) Autres constituants organiques [57]

Ces composés sont :

- les pigments biliaires ;
- le cholestérol
- les phospholipides
- les protéines (albumines, glycoprotéines et immunoglobulines A)

II.1.2. - Constituants inorganiques [48]

Les composés inorganiques sont principalement des ions dérivés du plasma (Cl^- , HCO_3^- , K^+ , Na^+).

La concentration en HCO_3^- , K^+ , Na^+ dans la bile est supérieure à celle du plasma, contrairement à la concentration en Cl^- .

Cependant, la composition de la bile est variable. La bile initiale sécrétée dans le canalicule parcourt les ductiles biliaires, les canaux interlobulaires et les voies biliaires intrahépatiques avant d'atteindre la vésicule biliaire où elle est concentrée. A ce niveau, les 90 % de l'eau sont résorbés, ce qui permet de mettre en évidence des différences essentielles entre la bile canaliculaire et la bile vésiculaire.

II.2. - Formation et sécrétion de la bile [25, 27]

Les principaux mécanismes responsables de la formation et de la sécrétion biliaire sont :

- le transport des acides biliaires ;
- le transport des autres composés ;
- les phénomènes d'absorption ;
- les phénomènes de sécrétion.

Ces mécanismes sont assurés par les hépatocytes pour le transport des acides et les cellules biliaires par l'absorption des acides biliaires et la sécrétion des bicarbonates.

II.2.1. - Transport des acides biliaires [27]

Ce transport comprend 3 étapes :

- le transport basolatéral ;
- le transport intracellulaire ;
- le transport canaliculaire ou sécrétion

a) Captation [46]

Les hépatocytes captent les acides biliaires du compartiment sanguin sinusoidal (transport basolatéral) et cheminent vers le canalicule biliaire dans lequel ceux-ci sont transportés (transport membranaire). Ce transport vectoriel des acides biliaires

s'effectue contre des concentrations défavorables et nécessite des systèmes de transports actifs au niveau des membranes du domaine basolatéral apical de l'hépatocyte.

Les acides biliaires sont jusqu'à cent fois plus concentrés dans le canalicule que dans le cytosol hépatocytaire et leur transport entraîne un flux osmotique d'eau contribuant à une partie importante de la sécrétion biliaire basale dans la plupart des espèces.

b) Transport intracellulaire [26, 54]

Après la captation par la membrane sinusoïdale, les acides biliaires sont liés à des protéines cytosoliques, puis diffusent vers le canalicule biliaire. Plusieurs protéines de liaison ont été identifiées chez le rat et chez l'homme :

- la protéine Y
- la protéine Y'
- la protéine FABP (Fatty Acid Binding Protein)

c) Transport canaliculaire [52]

Le système de transport canaliculaire des acides biliaires a été identifié sous la forme d'une protéine de 100 Kd qui après reconstitution dans des liposomes est capable d'induire le transport électrogénique des acides biliaires.

II.2.2. - Transport des autres constituants de la bile [56]

En dehors des acides biliaires, d'autres constituants de la bile sont soumis à un système de transport qui leur permet de se retrouver dans la bile finale.

Parmi ces constituants, il y a le glutathion et les électrolytes (Cl^- , K^+ , Na^+ , HCO_3^-) qui seraient responsables de la sécrétion biliaire indépendante des acides biliaires.

Ce transport est actif pour le glutathion et passif pour les ions.

II.2.3. - Phénomènes d'absorption [45, 56]

L'épithélium biliaire intrahépatique absorbe de l'eau et des électrolytes, des acides biliaires et du glucose.

1.2.4. - Phénomènes de sécrétion [14, 27]

Trois mécanismes de sécrétion ont été proposés :

- une sécrétion vésiculaire qui se fait par exocytose de vésicules cytoplasmiques existant en grand nombre dans les cellules biliaires à l'état basal ;
- un échange H^+ / HCO_3^- au niveau de la membrane apicale des cellules biliaires où un échangeur H^+ / HCO_3^- a été mis en évidence ;
- le rôle d'un canal chlore qui pourrait jouer un rôle déterminant dans la régulation du transport translatéral d'eau et du volume cellulaire en permettant l'afflux des ions HCO_3^- .

Dans les conditions physiologiques, ces différents processus assurent chez l'homme une production journalière de bile de l'ordre de 650 ml, avec une sécrétion dépendante des acides biliaires d'environ 0,17 ml/min et une sécrétion ductulaire et canalaire de 0,11 ml/min. Cependant, nous pouvons observer des modifications du débit biliaire dans certaines circonstances.

II.3. - Variations de la sécrétion biliaire

II.3.1. - Hypercholérèse [2, 16, 25, 55]

Elles sont définies comme une augmentation de débit biliaire.

La sécrétion biliaire peut être augmentée par :

- l'activité osmotique des acides biliaires tels que l'acide ursodésoxychlique qui ont un pouvoir cholérétique nettement plus élevé que leurs analogues physiologiques lorsqu'ils sont perfusés à fortes doses ;
- la prolifération des néoductules biliaires : une telle prolifération peut être observée dans certaines formes de cirrhoses biliaires secondaires chez l'homme ou dans certaines cirrhoses toxiques induites chez l'animal ;
- l'augmentation de la perméabilité des jonctions intercellulaires : cette augmentation de perméabilité entraîne le passage de substances osmotiquement actives vers le canalicule biliaire avec une augmentation du débit biliaire.

11.3.2. - Cholestases

a) Définition

Par le terme cholestase, on désigne une diminution ou un arrêt du débit biliaire hépatocytaire ou canaliculaire.

b) Physiopathologie des cholestases [15,23,24,36]

La physiopathologie fait intervenir des mécanismes multiples et encore mal connus. On peut distinguer :

- la cholestase extrahépatique qui est due à une obstruction des voies biliaires extrahépatiques en particulier le canal cholédoque ;

- la cholestase intrahépatique qui est due soit à une obstruction des voies biliaires intrahépatiques (cirrhose), soit à une altération des mécanismes de la sécrétion hépatocytaire ;

- les mécanismes par altération hépatocytaire qui sont dus soit à :

- . une inhibition de la Na^+, K^+ -ATPase, par exemple par les oestrogènes, la chlorpromazine ou les stéroïdes alkylés en C17 ;

- . une altération du cytosquelette : une interférence avec les microfilaments (par la phalloïdine ou la cytochalasine B) ou avec les microtubules (par la colchicine ou la vinblastine) ;

- . une augmentation de la perméabilité paracellulaire : l'administration d'oestrogènes augmente la perméabilité de la voie paracellulaire, de ce fait, il a été proposé que des substances normalement sécrétées par l'hépatocyte dans les canalicules (les acides biliaires ou la bilirubine) pourraient régurgiter, entraînant de l'eau ;

- . une altération du calcium intracellulaire : les acides biliaires monohydroxylés comme l'acide lithocholique et ses conjugués induisent une augmentation du calcium intracellulaire en perméabilisant de façon spécifique le pool de calcium du réticulum endoplasmique ;

- . une précipitation de certains acides biliaires peu solubles comme le tauroolitholate et le taurocholénate dans la canalicule entraînant une obstruction canaliculaire.

c) Modèles animaux de cholestase(34)

Les modèles animaux de cholestase sont nombreux. Dans le tableau qui suit se trouvent différents modèles avec leurs mécanismes respectifs.

Tableau I : Mécanisme cellulaire des cholestases

Mécanisme	Modèle animal
Altération de la composition lipidique de la membrane cytoplasmique ↓	Œstrogènes Chlorpromazine Tétrachlorure de carbone Acides biliaires monohydroxylés Hypothyroïdie
Diminution de la fluidité membranaire ↓	
Diminution de la Na ⁺ /k ⁺ /ATPase ; des échanges Na ⁺ /H ⁺ ; de la captation des acides biliaires ; de l'excrétion des acides biliaires ↓	Endotoxines Protoporphyrine Insuffisance surrénale
Dysfonctionnement des microtubules ↓	Colchicine
Diminution du transport transcellulaire (vésicules) ↓	Chlorpromazine Phorbol esters
Dysfonctionnement des microfilaments ↓	Phalloïdine Cytocalasine B Chlorpromazine Noréthandrolone
Augmentation de la perméabilité biliaire(jonction serrée ou membrane canaliculaire) ↑	Œstrogènes Tétrachlorure de carbone Acide biliaire monohydroxylés Ligature des voies biliaires
Obstruction biliaire ↑	Ligature des voies biliaires
Précipitation dans les ductules	Acides biliaires monohydroxylés Protoporphyrine Chlorpromazine

B / - RAPPELS SUR LE *COMBRETUM MICRANTHUM*

(KINKELIBA)

1 - BOTANIQUE [20,31]

I.1. - Place systématique des Combrétacées

Les Combrétacées appartiennent :

- au règne végétal
- à l'embranchement des Spermaphytes
- au sous-embranchement des Angiospermes
- à la classe des Dicotylédones
- à la sous-classe des Dialypétales
- à la série des Caliciflores
- à l'ordre des Myrtales

I.2. - Répartition géographique et habitat [40, 39, 11]

Arbuste qui existe un peu partout au Sénégal. Il est très répandu de la Casamance maritime au fleuve Sénégal. Il forme des peuplements sur les plateaux de Thiès. Il existe autour des mares du Sahel, dans les ravins, les galeries soudaniennes, les rebords des carapaces ferrugineuses dans les forêts guinéennes.

Toutefois, dans certaines zones de ces régions, il est presque inexistant ou très sporadique.

I.3. - Description de la plante [40,3,47,30,12,29,33]

Port : il s'agit d'un arbuste buissonnant ou sarmenteux pouvant atteindre 15 à 20 m en élançant les branches des arbres.

Feuilles : elles sont simples, opposées, ovales, cunées à la base, acuminées au sommet avec 5 paires de nervures latérales. Elles ont une innervation pennée.

Fleurs : les fleurs sont blanches, petites et en épis.

Fruits : c'est un fruit à 4 ailes couvertes d'un puberulum écailleux, ferrugineux de 1,5 cm de large.

1.4. - Description de la drogue

Feuilles : elles sont d'aspect verdâtre parfois décoloré et l'aspect devient marron lorsqu'elles sont sèches (du à l'oxydation et à la polymérisation des tanins catéchiques et catéchols)

Ces feuilles sont souvent fixées sur leur branche et plusieurs branches munies de leurs feuilles sont rattachées par la paille.

Racines : les racines sont sous forme de fagots constitués de 3 ou 4 morceaux de racines de 15 à 20 cm de long, de couleur marron foncé.

Poudre de racines : la poudre de racines est fine et de couleur marron foncé.

Poudre de feuilles : c'est une poudre fine de couleur verdâtre ou marron ou parfois vert et marron.

II - ETUDE CHIMIQUE

Nous allons présenter cette étude chimique sous forme de tableau comportant 3 parties : les parties utilisées; les constituants qui s'y trouvent; les références bibliographiques.

Tableau II : Composition chimique du *Combretum micranthum*

Parties utilisées	Constituants	Références
Feuilles	- Flavonoïdes : vitexine et saponarétine Vitexine(C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀) = 8-C-β-D glucopyranosyl apigénine-12	[37] [7]
	Apigénine=4,5,7 Trihydroxy flavone Saponarétine= 6-C-B-D- glucopyranosyl apigénine-15	
	-Bases amines quaternaires : combretine A et B (formule générale)=C ₇ H ₁₃ NO ₃	[41,40]
	-Acide gallique libre et combiné -Tanins catéchiques et catéchols -Acides organiques : acides malique, citrique, oxalique, tartrique, glycérique prédominance : acides palmitiques, oléiques, linoléiques	[37,8]
	Matières minérales : sels (chlorures, sulfates, phosphates, nitrates) calcium, magnésium, sodium, potassium, sorbitol, mannitol, et m- inositol	[7]
Ecorces	-Alcaloïdes	[49]
Racines	- Flavonoïdes - Tanins catéchiques et catéchols	[40,41]

III - MODES DE PREPARATION DU KINKELIBA [8, 9, 6]

Les feuilles sont les parties les plus utilisées, elles sont habituellement utilisées en décoction ou en infusion.

Cependant dans certaines régions d'Afrique, il n'est pas rare de voir utiliser la poudre de racine de kinkéliba mélangée à du miel ou à du beurre de karité.

IV- PHARMACOLOGIE [1, 4, 6, 9, 11, 17, 39, 38, 42, 21, 32, 33, 52, 18, 19, 40, 41]

Le kinkéliba est inscrit à la Pharmacopée Française depuis 1937.

Les feuilles du fait de leurs propriétés diurétiques, cholagogues et cholérétiques sont connues de tous les Africains

Elles sont fébrifuges, toniques, anti-diarrhéiques et aussi employées dans les troubles dyspeptiques.

Le kinkéliba est également utilisé contre la toux, les bronchites, le paludisme, la fièvre bilieuse hématurique et toutes les affections hépato--biliaires. Les feuilles additionnées d'écorces de racines de *Salvadora persica*, sont considérées comme anti-blennorragiques et anti- rhumatismales.

La tisane de feuilles fraîches se donne avec du miel ou du sucre contre le rhume.

La décoction des feuilles sèches sert à soigner la gale.

La poudre d'écorce dissoute dans de l'huile de palme, ou mélangée au beurre de karité est employée en massage dans les contusions et les entorses.

La décoction de racine est vermifuge. Elle sert aussi d'antiseptique pour laver et soigner les plaies.

On l'utilise parfois en association avec *Guiera senegalensis* dans le traitement du béri-béri ou avec d'autres plantes comme *Zizyphus micronata* dans le traitement de la lèpre.

La décoction des feuilles sèches de kinkéliba et *Jatropha curcas* est utilisée dans le traitement de l'asthme.

Travaux personnels

Matériel et méthodes

I - MATERIEL ET METHODES

I.1. - Cadre de l'étude

Notre étude a été réalisée au laboratoire de Physiologie / Pharmacologie / Pharmacodynamie de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

I.2. - Matériel

I.2.1. - Le Matériel végétal : Préparation du décocté de feuilles de kinkéliba

I.2.1.1 -Origine

Les feuilles de kinkéliba sont achetées au marché Tilène de Dakar. Elles sont originaires du village de Dondon dans la région de Fatick.

Les feuilles fraîches ont été séchées au soleil pendant deux à trois semaines.

I.2.1.2. -Broyage

Le broyage est la réduction d'un solide en plus petites particules.

Dans cette étude, nous avons utilisé un broyeur à dents ou à pointes. Le produit à broyer est déchiqueté par passage entre deux plaques métalliques hérissées de pointes ou dents disposées en cercles concentriques autour de l'axe de rotation. L'une des plaques est fixe et l'autre tourne à grande vitesse. Un tamis à la sortie permet la rétention des grosses particules.

I.2.1.3. -Décoction

Nous avons choisi la décoction dans l'eau car elle se rapproche de la méthode traditionnelle d'utilisation du kinkéliba.

La poudre est extraite dans l'eau bouillante (100°C) à raison de 300 g pour 4 l d'eau pendant 45 mn. On effectue une double filtration, sur entonnoir à crible puis sur coton hydrophile.

I.2.2. - Les Animaux

Nous avons utilisé des rats de souche WISTAR de poids moyen égal à 190 g et groupés par lot de 5 :

- un premier lot de rats sains: qui ne reçoivent que de l'eau distillée : ce sont les témoins normaux ;

- un deuxième lot de rats rendus cholestatiques : ce sont les témoins cholestatiques ;

- un troisième lot de rats sains traités au kinkéliba ;

- un quatrième lot constitué de rats cholestatiques traités selon le protocole 1 ;

- un cinquième lot constitué de rats cholestatiques traités selon le protocole 2.

Ces rats sont fournis par l'animalerie de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Ces rats ont été gardés dans des cages en matière plastique transparente fermées par un grillage en fer et mesurant 42 cm de long, 27 cm de large et 15 cm de haut.

Les rats ont libre accès à l'eau et à l'alimentation composée de maïs et de farine de poisson mélangés.

Ils sont soumis à un cycle régulier d'éveil-sommeil.

1.2.3. - Le Matériel de laboratoire

1.2.3.1. - Matériel chirurgical

- Pincés anatomiques courbes
- Paires de ciseaux courbes et droites
- Lames de rasoir
- Ecarteur

1.2.3.2. - Autre matériel

- Plaque chauffante à 37°C
- Sonde bucco-oesophagienne
- Balance à dosage automatique
- Chloral
- Tétrachlorure de carbone
- Seringues à insuline
- Aiguilles, Cathéter
- Fil tressé non résorbable
- Tubes Eppendorf
- Etuve JOUAN

- Chauffe-ballon
- Entonnoir, -Ballon
- Coton hydrophile
- Broyeur marque ZP, modèle B3m, maison AGREX
- Spectrophotomètre marque Alessandrini
- Cuves de lecture

1.2. - Méthodes d'étude

1.2.1. - Etude de l'effet de Combretum micranthum sur la sécrétion biliaire

1.2.1.1. - Le principe

Le principe consiste à étudier l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de *Combretum micranthum* sur la sécrétion biliaire de rats sains et de rats rendus cholestatiques.

1.2.1.2. - Mise au point d'un modèle de cholestase

Nous avons utilisé le CCl_4 pour créer un modèle de cholestase chez les rats (35, 38). Pour cela nous avons entrepris une série de plusieurs tests avec plusieurs doses et par différentes voies d'administration.

Pour confirmer la cholestase, nous avons procédé à la mesure du débit biliaire et des taux sériques de Gamma glutamyl transférase (GGT) et des Phosphatases alcalines (PAL); l'augmentation des PAL et des GGT et une diminution du débit biliaire signant une cholestase (13, 24).

• dosage des gamma GT

- Principe

La gamma-GT catalyse le transfert du groupement gamma-glutamyl de la gamma-3-carboxy-4-nitroanilide à la glycyglycine, en libérant la 3-carboxy-4-nitroaniline. La concentration catalytique est déterminée à partir de la vitesse de formation de la 3-carboxy-4-nitroaniline.

Gamma-glutamyl-3carboxy-4-nitroanilide + glycylglycine

Gamma-GT



Gamma-glutamyl-glycylglycine + 3-carboxy-4nitroaniline

- Mode opératoire

Réactifs : 1 - substrat

2 - tampon

Préparation du réactif de travail : dissoudre le contenu d'un flacon 1 dans 5 ml de

2.

Schéma de travail :

Dans une cuve de 1 cm de trajet optique, introduire :

Réactif de travail :..... 1 ml

Echantillon..... 0,1 ml

Mélanger soigneusement.

Après une minute environ, puis toutes les minutes, lire la D.O. à 405 nm.

Calcul :

Calculer la variation moyenne de DO/mn soit $\Delta DO / mn$

Gamma GT en UI / l = $\Delta DO / mn \times 1111$

1111 est un facteur de correction donné par le fabricant du coffret.

Valeurs normales chez le rat : 1 à 4 UI / L

• Dosage des PAL

- Principe

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse en milieu alcalin, le transfert du groupement phosphate du 4-nitrophénylphosphate à la diéthanolamine (DEA), en libérant le 4-nitrophénol. La concentration catalytique est déterminée à partir de la vitesse de formation du 4-nitrophénol, mesuré à 405 nm.

- Mode opératoire

Préchauffer le réactif de travail à 37°C pendant quelques minutes.

Pipeter dans une cuve :

Réactif de travail :..... 1 ml

Echantillon :..... 20 µl

Mélanger et insérer dans la porte-cuve thermostaté à 37°C.

Noter l'absorbance initiale et mettre simultanément le chronomètre en marche.

Effectuer de nouvelles lectures chaque minute pendant 3 minutes.

Vérifier que les différences entre les absorbances sont sensiblement égales.

Calcul :

Calculer l'accroissement moyen d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$)

PAL en UI/L : $A / \text{min} \times 2764$

2764 est un coefficient donné par le fabricant du coffret

Valeurs normales chez le rat : 155 à 201 UI/L

1.2.1.3. - Mise en évidence de l'effet du *Combretum micranthum* sur la sécrétion biliaire des rats

a) Effet de différentes concentrations de kinkéliba sur le débit biliaire

Différentes doses du décocté ont été testées : 1,25ml /100g de PC ; 2,5 ml / 100g de PC ; 5 ml/100g de PC et 10 ml/100 g de PC.

Quelle que soit la dose utilisée, l'administration du décocté se fait à l'aide d'une sonde bucco-oesophagienne quotidiennement pendant 3 jours.

b) Administration aux rats sains

Gardés dans les mêmes conditions que les rats témoins, ils reçoivent journalièrement 5 ml/100 g de PC de kinkéliba pendant 3 jours.

Le troisième jour, la bile est collectée 60 mn après le gavage. On fait en même temps un prélèvement de sang pour le dosage des PAL et des GGT.

c) Administration aux rats cholestatiques

Nous avons utilisé deux protocoles différents

> **Protocole 1 :** Les rats ont reçu simultanément une injection de CCl_4 et le décocté de kinkéliba le premier jour. Au deuxième et au troisième jour les rats sont gavés du décocté de kinkéliba.

Le troisième jour on recueille la bile et le sang des rats.

· **Protocole 2 :** Les rats reçoivent une injection de CCl_4 le premier jour. 3 jours plus tard on administre le kinkéliba pendant 3 jours successifs.

1.2.1.4. - Analyse quantitative de la bile

Les rats sont anesthésiés par injection intrapéritonéale de chloral à 3% à raison de 1ml / 100 g de PC. Ils sont maintenus sur une table chauffante de façon à conserver une température centrale de 37°C.

Après avoir effectué une laparotomie médiane sus-ombilicale, l'anse duodénale est extériorisée, le canal cholédoque repéré puis cathétérisé avec un cathéter en polyéthylène de 0,96 mm de diamètre externe et 0,58 mm de diamètre interne. Le cathéter est solidarisé au cholédoque par deux ligatures à l'aide de fil tressé non résorbable.

Après s'être rassuré que la bile s'écoule de façon régulière, l'extrémité distale du cathéter est introduite dans un tube eppendorf gradué qui recueille la bile.

Les volumes de bile recueillis au bout de deux heures ont été mesurés ; les débits calculés pour chaque rat.

1.2.2. - Etude du mécanisme d'action du décocté de *Combretum micranthum*

L'étude du mécanisme d'action peut être abordée par analyse qualitative des constituants biliaires notamment par le dosage des sels biliaires, du glutathion et du glucose.

1.2.2.1. - Dosage des sels biliaires

Principe

L'enzyme 3-hydroxystéroïde déshydrogénase (3-HSD) oxyde le groupe 3-hydroxy des acides biliaires en 3-cétone avec conversion simultanée proportionnelle de NAD^+ en NADH. En présence de diaphorase, le NADH formé réagit avec le sel de

tétrazolium NBT (nitro-bleu tétrazolium) pour donner le formazan de couleur bleue, dont l'absorption maximale est de 540 nm.

// Réactifs

- Réactif lyophilisé : contient tous les constituants nécessaires à la réaction enzymatique :

3& HSD.....	5 UI/L
Diaphorase.....	250 UI/L
NAD	0.80 mmol/l
Sel de Nitro-Blue-Tétrazolium (NBT).....	0.30 mmol/l
Tampon Sodium-Phosphate (pH 7.0).....	65 mmol/l

- Blanc lyophilisé : contient tous les constituants du réactif excepté l'enzyme 3&-HSD.

- Tampon : il sert à la reconstitution du réactif et du blanc :

Tampon Sodium-Phosphate (pH 7.0).....	65 mmol/l
--	-----------

- Réactif de fin de réaction : il clarifie le mélange réactionnel et augmente la stabilité de la couleur développée :

Acide chlorhydrique.....	100 mmol/l
Tensio-actif.	

- Standards

Nous avons utilisé les standards ENZABILE comprenant 3x2 flacons de 3 ml d'acides biliaires lyophilisés aux concentrations suivantes : 5 ; 25 ; et 100 μ mol/l.

Il sont constitués d'un mélange équimolaire de glycocholate de sodium, de glycodésoxycholate de sodium et de Taurochéno-désoxycholate de sodium, dissous dans un sérum bovin dont les acides biliaires ont été préalablement éliminés.

Mode opératoire

- Echantillon : prélèvement de bile

- Reconstitution du réactif et du blanc :

* reconstituer un flacon réactif et un flacon blanc à l'aide de 10 ml exactement mesurés de tampon.

* laisser reposer 10 mn environ avant utilisation.

- Réglage du spectrophotomètre :
 - * longueur d'onde : 540 nm
 - * trajet optique : 1 cm
 - * régler le zéro avec de l'eau distillée.

Schéma de travail

	Tube réactif	Tube blanc
Echantillon.....	200 µl	200 µl
Réactif.....	500 µl	---
Blanc.....	---	500 µl

Mélanger doucement et incuber pendant 15 mn à 37°C

Ajouter quelques gouttes du réactif de fin de réaction.

Mélanger soigneusement et lire les DO du tube réactif (DO_R) et du tube blanc (DO_B) à 540nm.

$$DO = DO_R - DO_B$$

Calcul

Pour obtenir la concentration d'acides biliaires dans un échantillon de bile, il est préférable d'établir une courbe standard et de déterminer le facteur de corrélation F.

• Préparation de la courbe standard

Reconstituer chacun des standards ENZABILE à l'aide de 3 ml d'eau distillée.

Déterminer chaque ΔDO_{ST} ($DO_{STR} - DO_{STB}$) et établir la courbe standard en fonction des concentrations en acides biliaires des standards ENZABILE.

• Détermination du facteur de corrélation F.

Lire sur la courbe standard la DO correspondant à 100 µmol/l d'acides biliaires (ΔDO_{100}).

$$F = \frac{100 \mu\text{mol/l}}{\Delta DO_{100}}$$

• Calcul du taux d'acides biliaires dans les échantillons.

$\Delta DO \times F = \text{concentration en } \mu\text{mol/l d'acides biliaires}$

1.2.2.2. - Dosage du glutathion total

Réactifs

Dans un tampon phosphate à pH 8, ajouter de l'EDTA sodique pour obtenir une concentration finale de 6.3 mmol/l, soit 2.35 g dans un litre de tampon phosphate.

Ajuster à pH 7.5 (avec NaOH).

Préparer toutes les solutions suivantes dans ce tampon pH 7.5 :

<u>Solution I</u>	NADPH	0,3 mM
	2,5 mg dans 10 ml (tampon PO ₄)	
<u>Solution II</u>	D'TNB	6mM
	2,38 mg dans 1 ml (tampon PO ₄)	
<u>Solution III</u>	<u>Glutathion réductase</u>	50 U/ml
	200 µl /ml (solution mère 500 U / 2ml)	

NB : Les solutions I, II, III se conservent 2 semaines à +4° C à l'abri de la lumière.

Standard glutathion **G S H** **ou G S S G**
 (307,3 g/ mol)
 Solution à 5 mg / 100 ml dans 0,01 NHCl froid.

NB : Solution III et standard GSH à conserver dans la glace pendant les dosages.

Technique

=====> - **Préparation des échantillons** :

- Déprotéinisation de la bile avec acide 5'sulfosalicylique (SSA)
 6.% : **200 µl** de SSA + **1800 µl** de bile, dans tube eppendorf 2 ml (agiter très fortement)
- Plonger dans l'azote liquide et conserver à -80° C.
- Après décongélation, centrifuger **30 sec** dans centrifugeuse pour tube eppendorf.

▪ Récupérer **1 ml** de surnageant et ajouter 8 μl de triéthanolamine 50 % (afin d'ajuster le pH à 7).

▪ Utiliser **200 μl de bile (ainsi déprotéinisé) pour les dosages**, diluer si la bile est trop concentrée ou trop colorée (tenir compte de la dilution par l'acide pour les calculs).

====> - **Dosages** :

Dans 2 tubes, mettre :

<u>Essai</u>	<u>Blanc</u>
70 μl Sol. I	70 μl Sol. I
<u>Mélanger</u> 100 μl Sol. II	100 μl Sol. II
<u>Incuber à 30° C pendant 10 à 15 mn</u>	
200 μl échantillon ou standard	200 μl H ₂ O
10 μl Sol. III	10 μl Sol. III

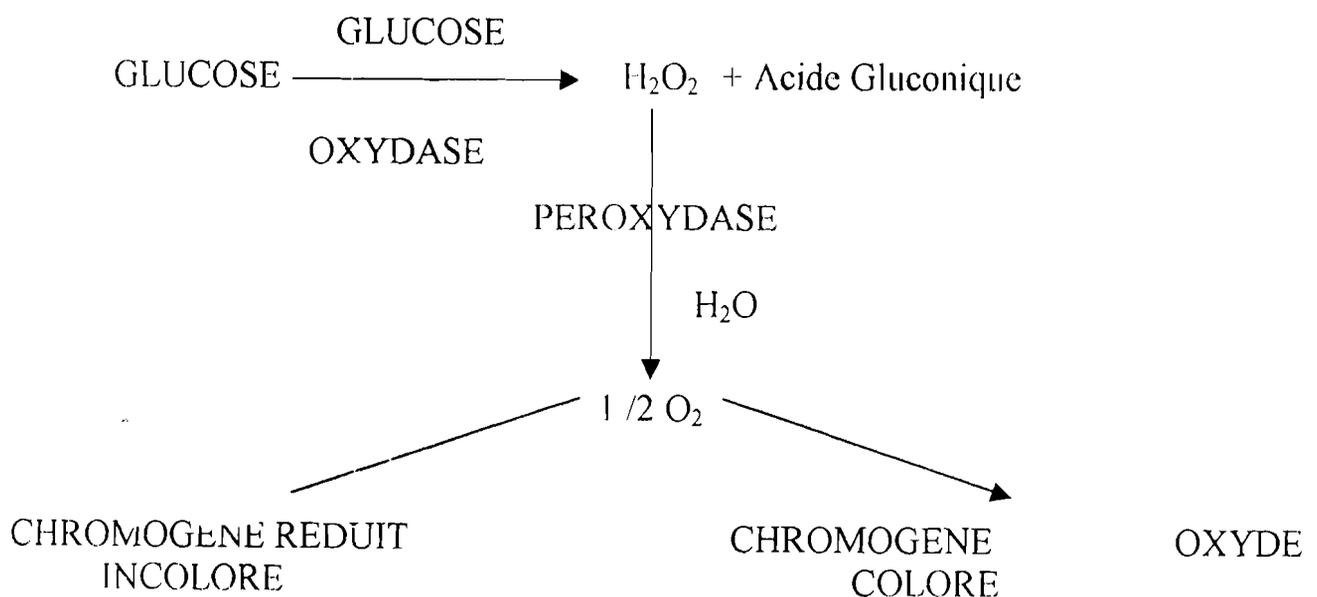
Lire en cinétique à **la longueur d'onde de 412 nm pendant 5 mn**

(jusqu'à une DO = 2.0) toutes les 30 secondes.

1.2.2.3. - Dosage du glucose

Ce dosage est effectué par la méthode enzymatique à la glucose oxydase.

====> - **Principe**



====> - Schéma de travail

	Dosage	Etalon	Témoin
Echantillon	10µl	-	-
Etalon	-	10 µl	-
Eau distillée	-	-	10 µl
Solution de Glucose Oxydase	1 ml	1 ml	1 ml

Incuber 5 mn au bain Marie pendant ou 10 à 15 mn à la température ambiante.

Lire au spectrophotomètre la longueur d'onde de 500 nm.

1.2.1.5. - Analyse des résultats

Nous avons :

- confirmé le modèle de cholestase
- analysé l'effet de *Combretum micranthum* sur les différents lots de rats en fonction des modes d'administration

Les résultats obtenus sur les différents lots sont présentés sous forme de moyenne \pm un écart-type. Les moyennes inter et intra-groupes ont été comparés par analyse de variance.(test de Student)

Les valeurs de $P < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

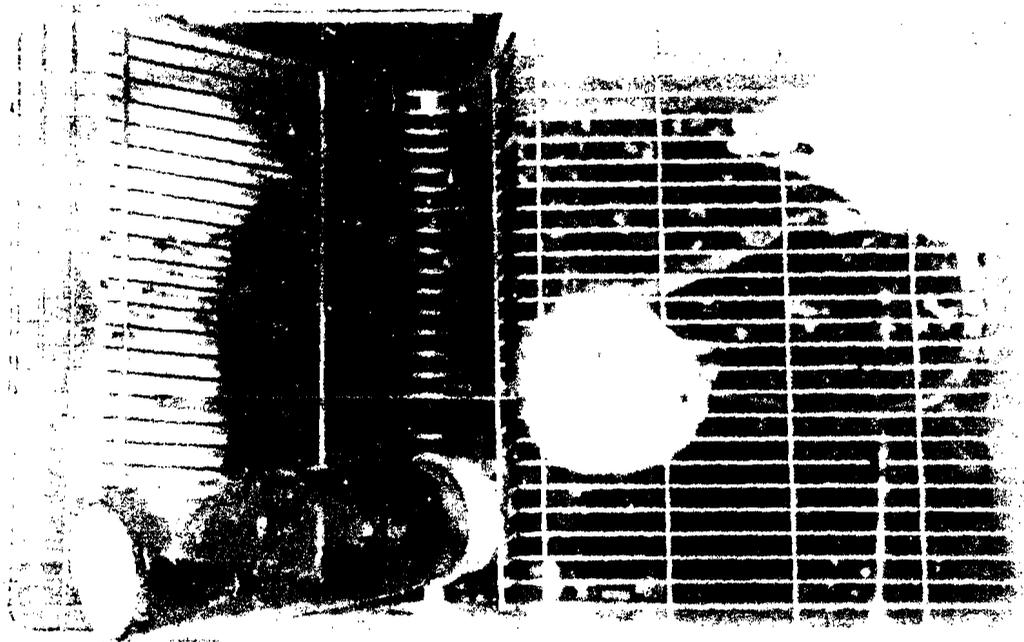


Photo 1

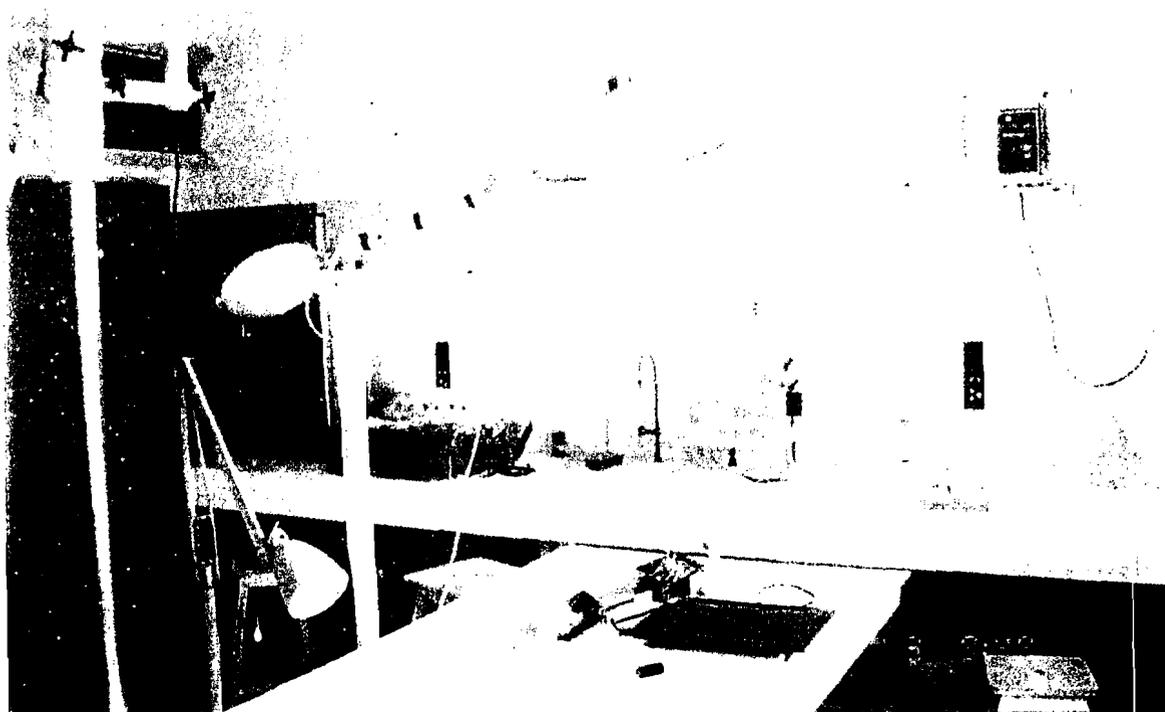


Photo 2

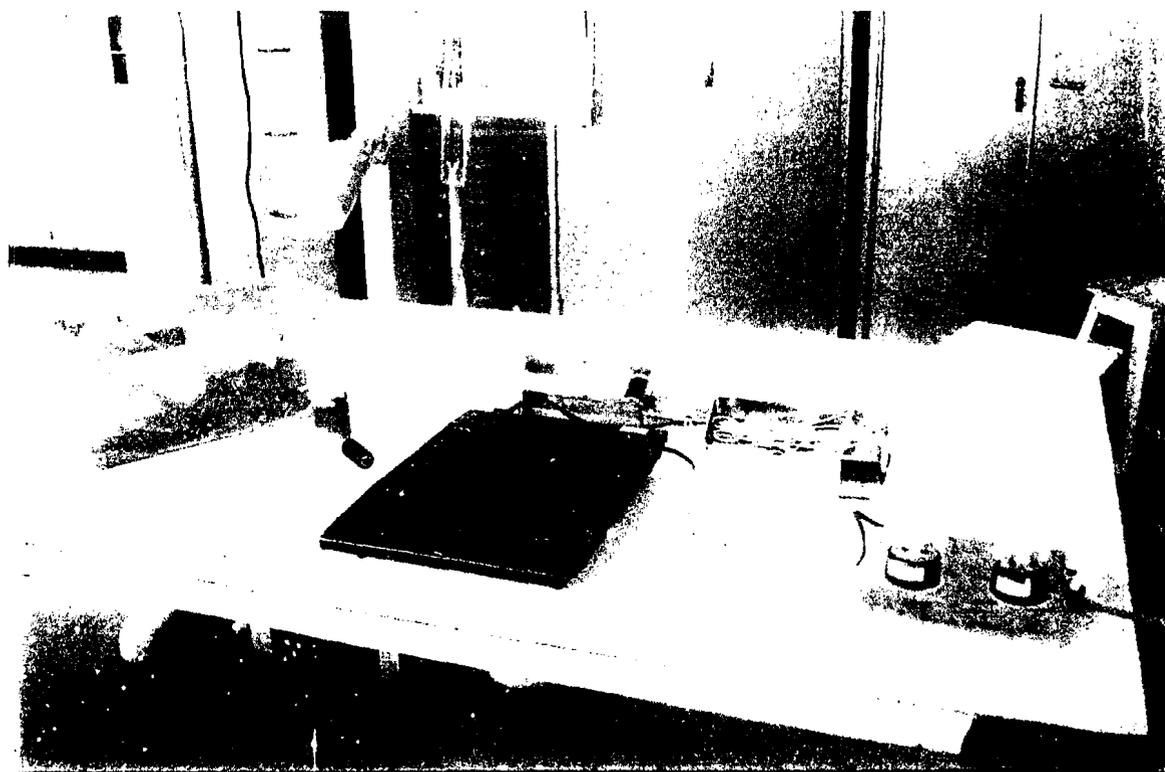


Photo 3

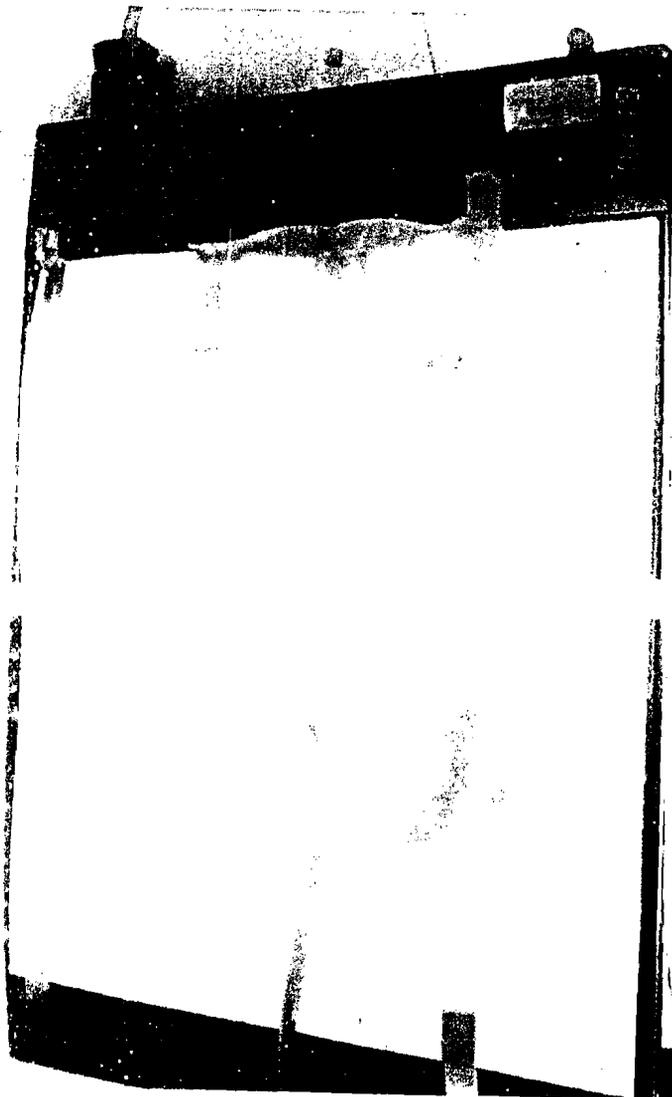


Photo 4

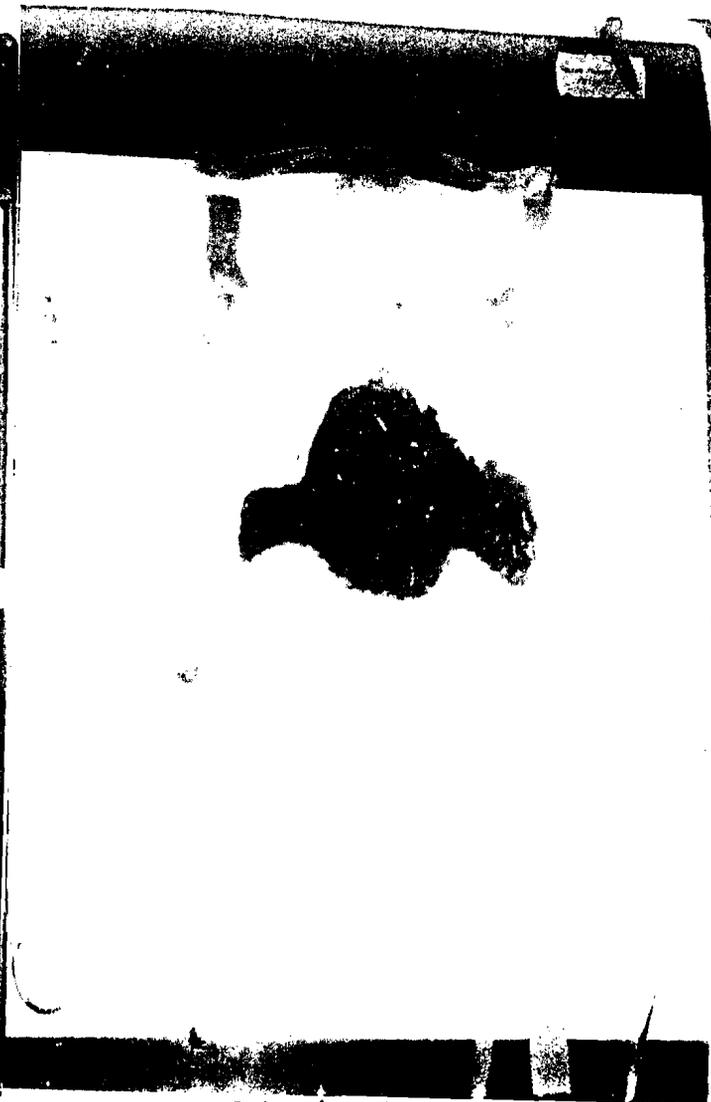


Photo 5

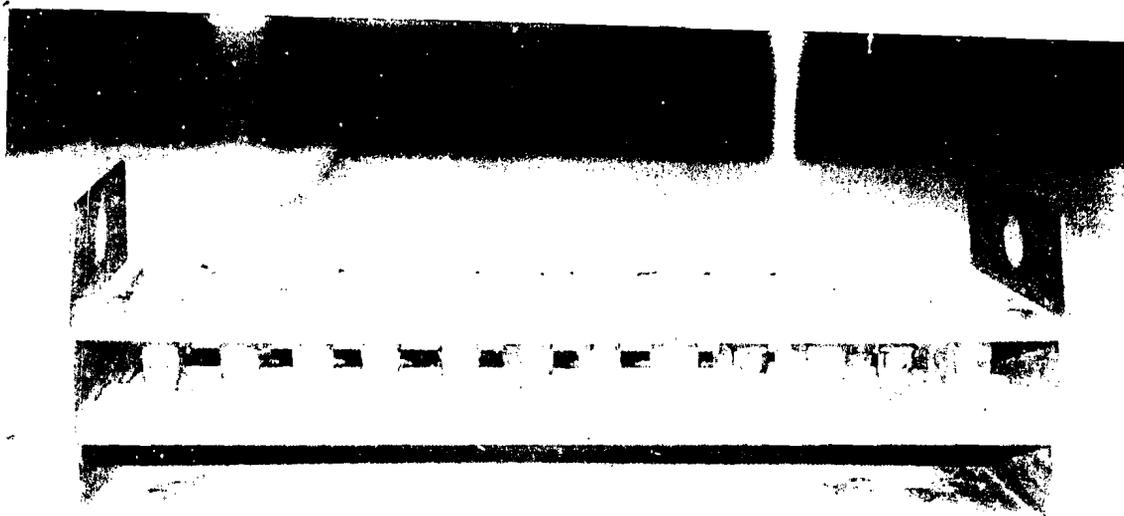


Photo 6

Résultats

II - RESULTATS

II.1. - Le modèle de cholestase

Le CCl₄ pur nous a permis d'obtenir une cholestase mais avec une mortalité plus ou moins élevée selon les voies d'administration et les doses.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau II

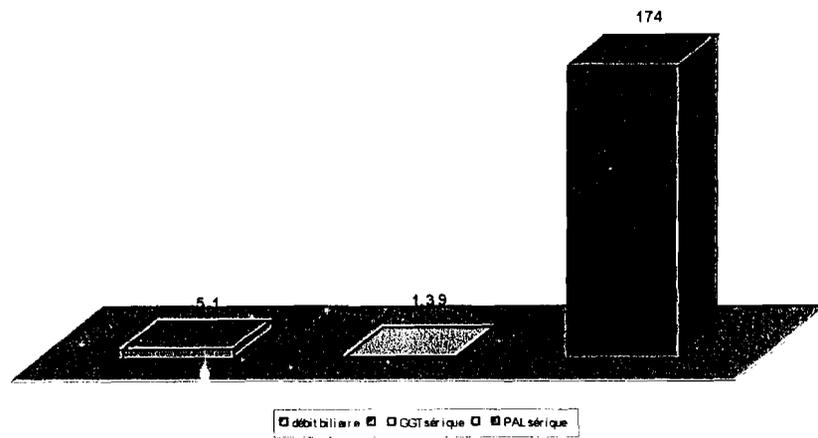
Tableau II : Influence de la dose et de la voie d'administration du CCl₄ sur la mortalité des rats

Doses et modes d'administration du CCl ₄	Résultats obtenus
0,05 ml / 100g PC en IP	100% de mortalité
0,03 ml / 100g PC en IP	50% de mortalité
0,05 ml / 100g PC en SC	50% de mortalité et 50% de cholestase totale
0,03 ml / 100g PC en SC	Aucune mortalité

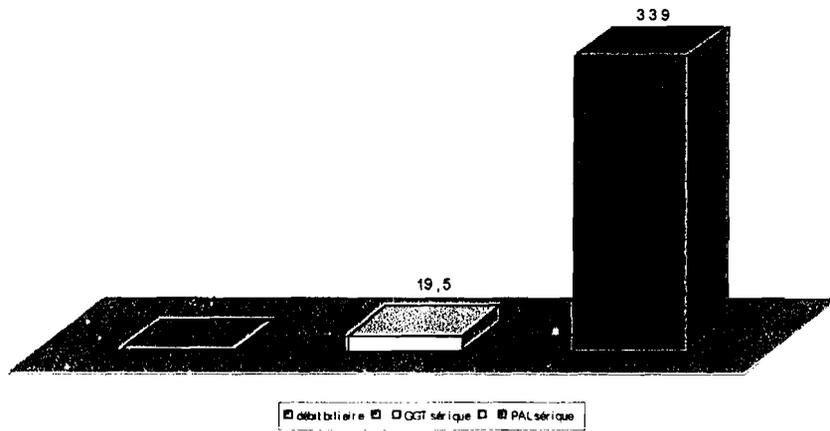
Dans la suite de notre travail nous avons utilisé le CCl₄ à la dose de 0,03 ml / 100g PC en sous cutané.

II.2. - Les animaux

Profil biologique des rats sains

*Figure 2*

Profil biologique des rats cholestatiques

*Figure 3*

II.3. -Etude de l'effet de *Combretum micranthum* sur la sécrétion biliaire

Différentes concentrations de *Combretum micranthum* ont été testées sur la sécrétion biliaire afin d'obtenir le débit biliaire maximal ; Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau III.

Tableau III : Effet de différentes doses de *Combretum micranthum* sur la sécrétion biliaire

Doses utilisées en ml/100g PC	1,25	2,5	5	10
Débits biliaries en $\mu\text{l}/\text{mn}/100\text{g}$ PC	4,7	5,8	6,5	4,3

Compte tenu des résultats, dans la suite de notre travail nous avons utilisé le décocté de *Combretum micranthum* à la dose de 5 ml / 100g de poids corporel.

Les résultats obtenus sur les différents lots de rats sont représentés sur les figures suivantes.

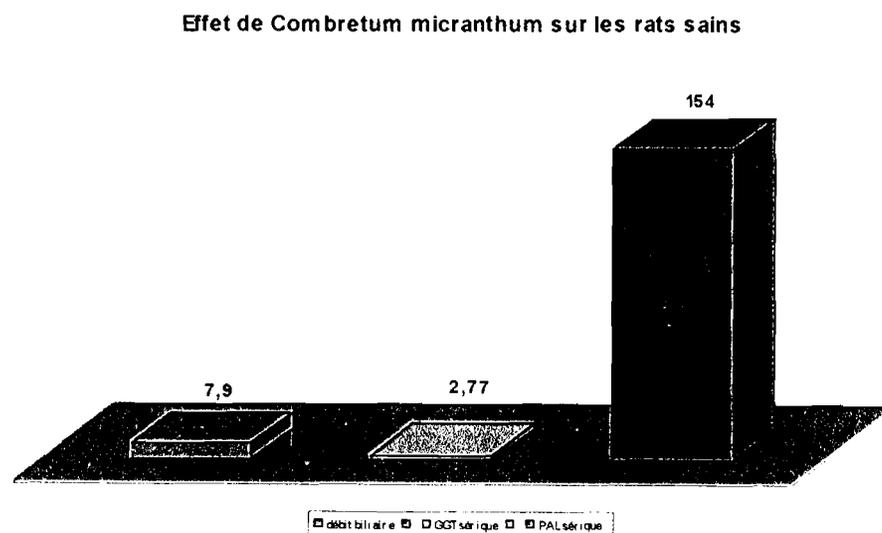


Figure 4

Effet de Combretum micranthum sur les rats cholestatiques:
Protocole 1

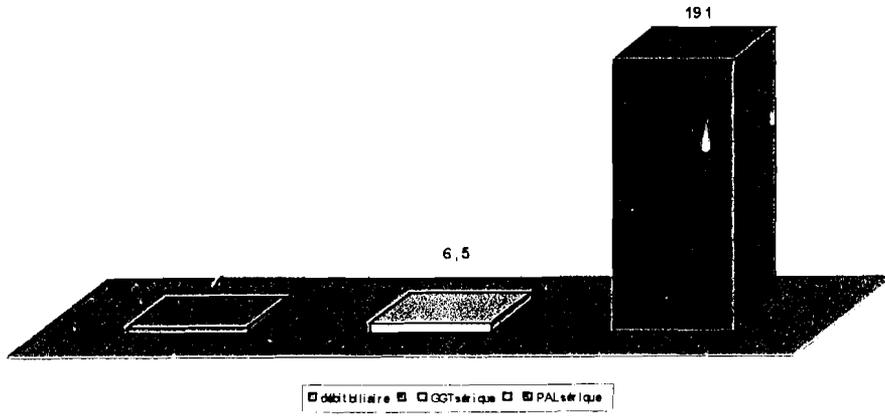


Figure 5

Effet de Combretum micranthum sur les rats cholestatiques:
Protocole 2

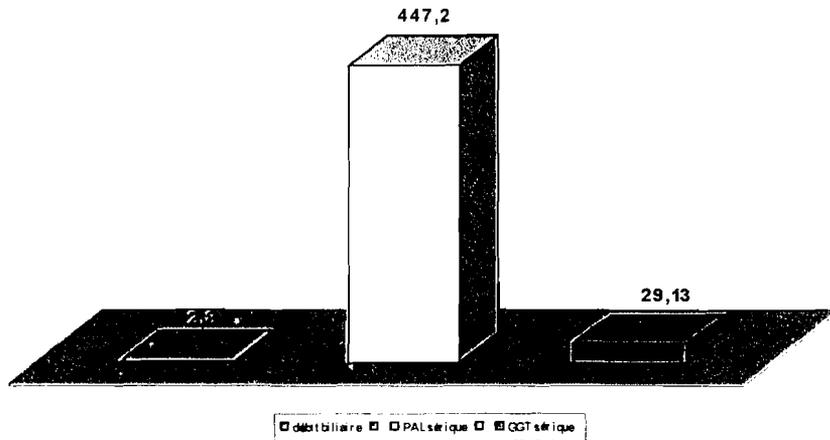


Figure 6

II.4. -Résultats comparés des différents lots de rats

Résultats comparés rats sains traités / rats sains non traités

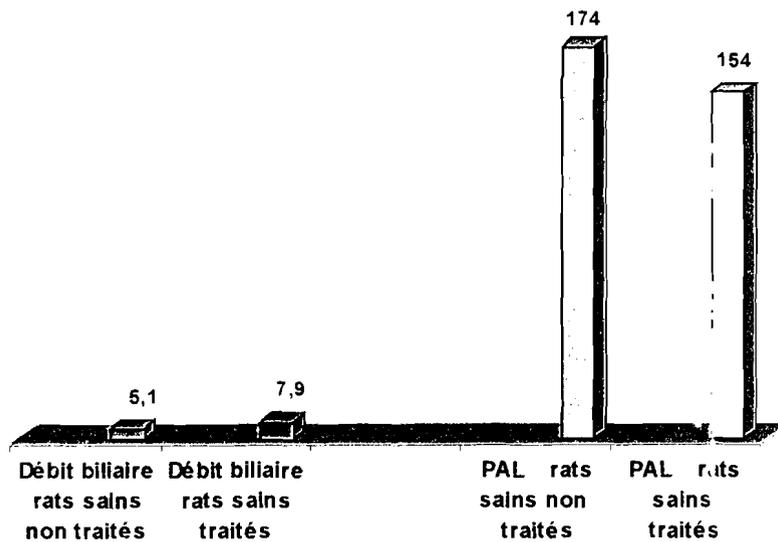


Figure 7

On observe chez les rats sains traités une augmentation du débit biliaire accompagnée d'une baisse des PAL par rapport aux rats sains non traités prouvant l'activité cholérétique du kinkéliba sur les rats sains. Le test statistique est significatif pour les débits biliaires ($p < 0,001$) et non significatif pour les PAL ($p > 0,05$)

Résultats comparés rats sains / rats cholestatiques

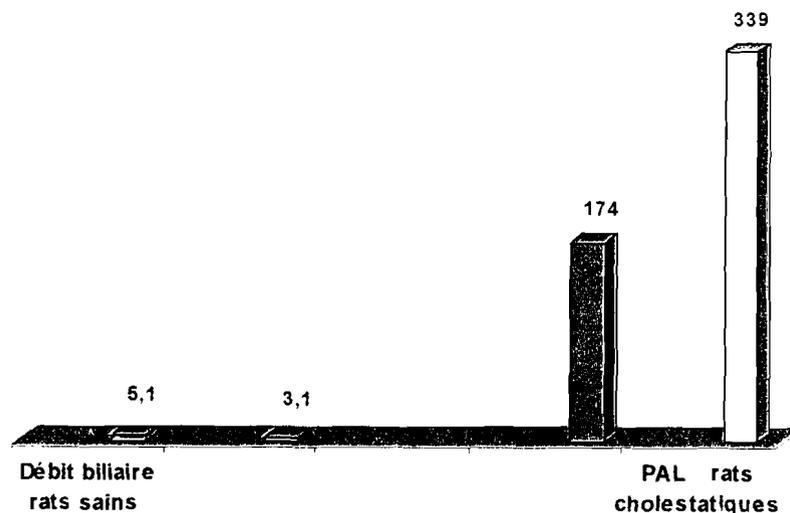


Figure 8

Les rats cholestatiques ont un débit biliaire diminué accompagné d'une augmentation des PAL sériques par rapport aux rats sains prouvant l'effet cholestatique du CCl_4 sur des rats sains avec un test statistique significatif aussi bien pour les débits biliaires que pour les PAL ($p < 0,001$ pour les deux)

Résultats comparés rats cholestatiques traités protocole 1 /
rats cholestatiques non traités

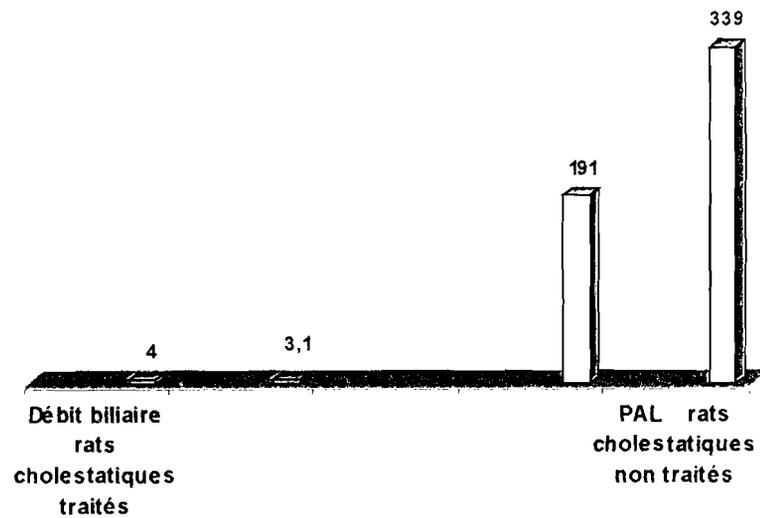


Figure 9

On observe une nette amélioration de la sécrétion biliaire et une baisse des PAL sériques démontrant l'effet positif du kinkéliba administré suivant le protocole 1 sur des rats cholestatiques. Tests significatifs avec un $p < 0,05$ pour les débits biliaries et $p < 0,001$ pour les PAL.

Résultats comparés rats cholestatiques traités protocole 2 /
rats cholestatiques non traités

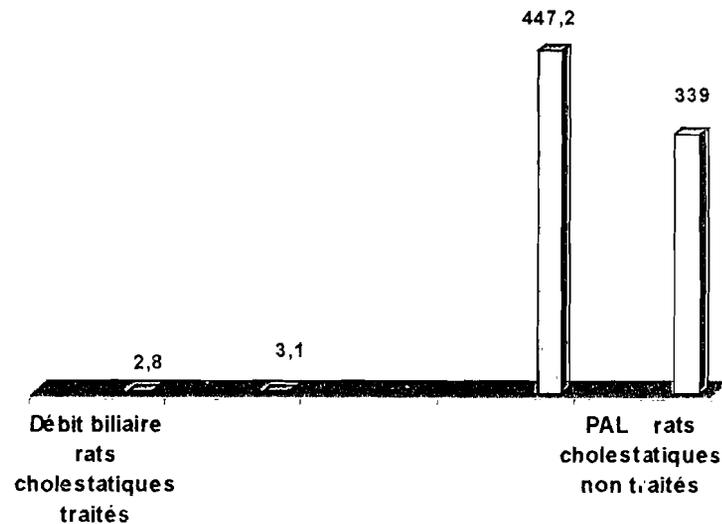


Figure 10

Le protocole 2 n'améliore pas la cholestase induite chez les rats. Test significatif pour les pal ($p < 0,01$) et non significatif pour les débits biliaries ($p > 0,05$)

Résultats comparés rats cholestatiques traités protocole 1 / protocole 2

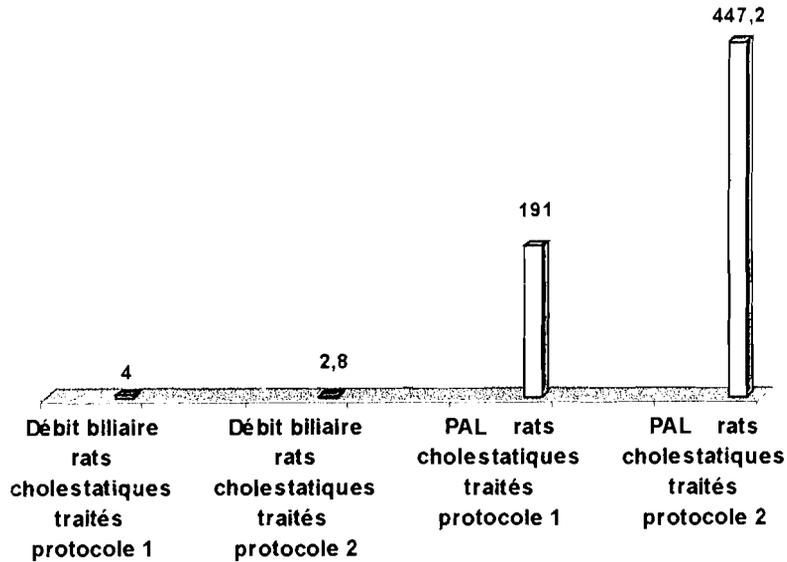


Figure 11

Le protocole 1 donne de meilleurs résultats que le protocole 2 avec un test statistique significatif pour les débits biliaires ($p < 0,05$) et pour les PAL sériques ($p < 0,001$)

II.5. - Résultats de l'analyse qualitative de la bile

L'analyse qualitative de la bile par dosage des sels biliaires, du glutathion biliaire et du glucose biliaire et plasmatique a donné les résultats ci-après. Les débits sont en $10^{-3} \mu\text{mol} / \text{mn} / 100 \text{ g de PC}$.

II.5.1. - Profils des différents lots

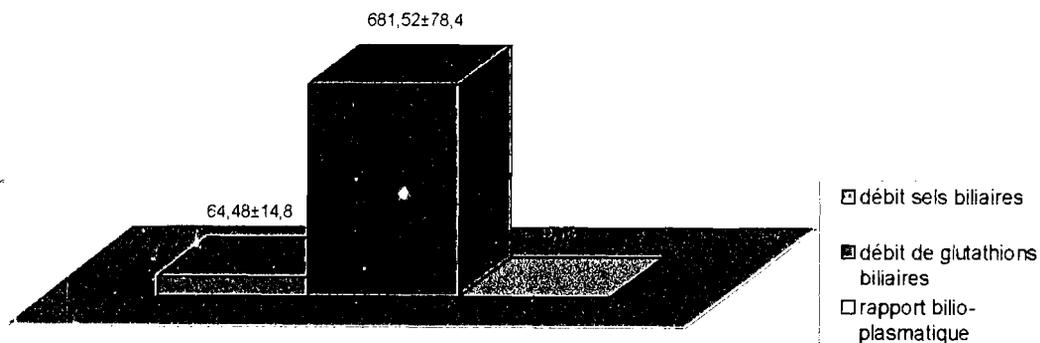


Figure 12 : résultats de l'analyse qualitative chez les rats cholestatiques

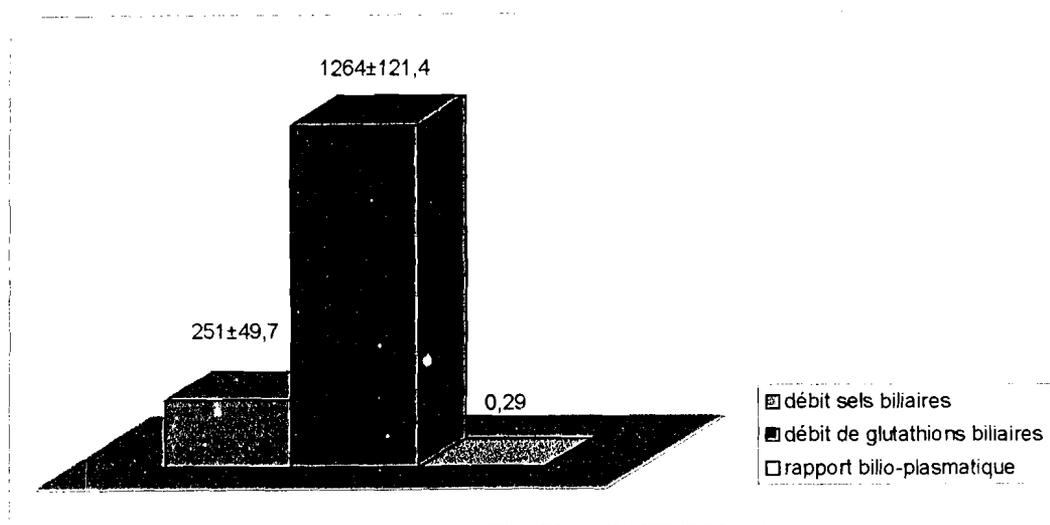


Figure 13 : Résultats de l'analyse qualitative chez les rats sains

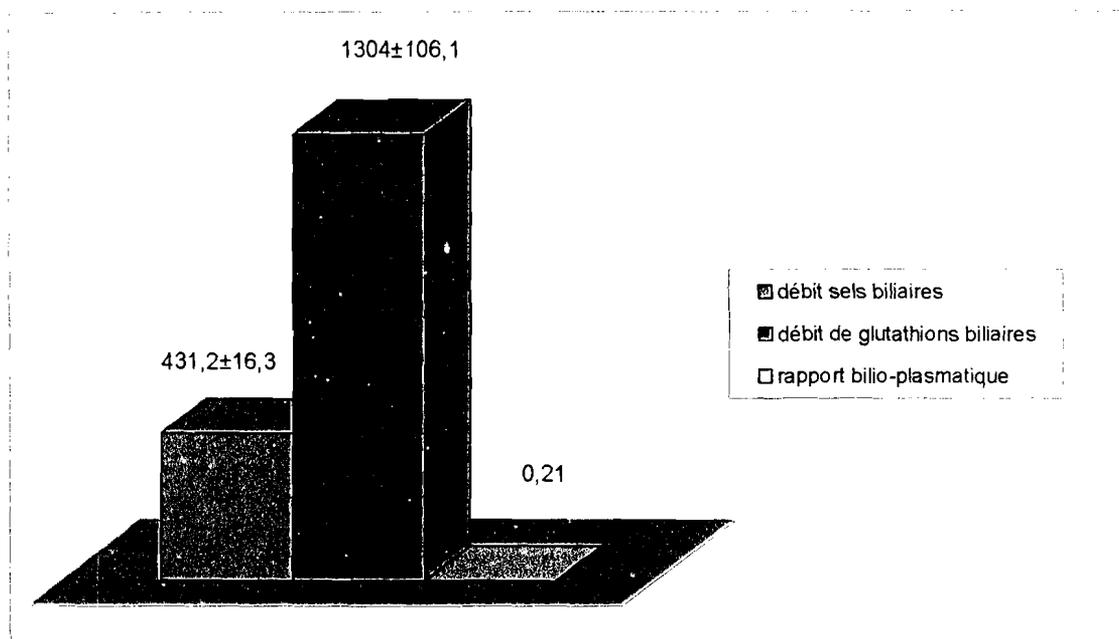


Figure 14 : Résultats de l'analyse qualitative chez les rats cholestatiques traités

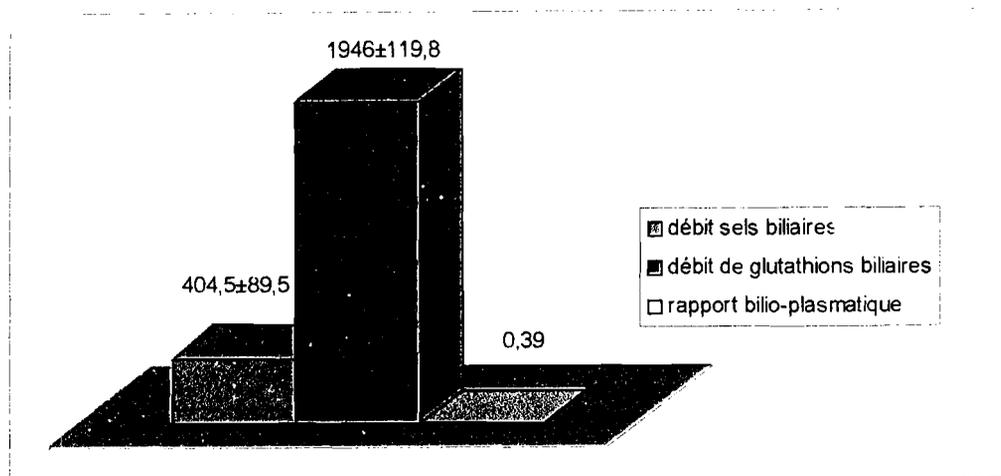


Figure 15 : Résultats de l'analyse qualitative chez les rats sains traités

II.5.2. - Résultats comparés des lots traités par rapport aux lots témoins

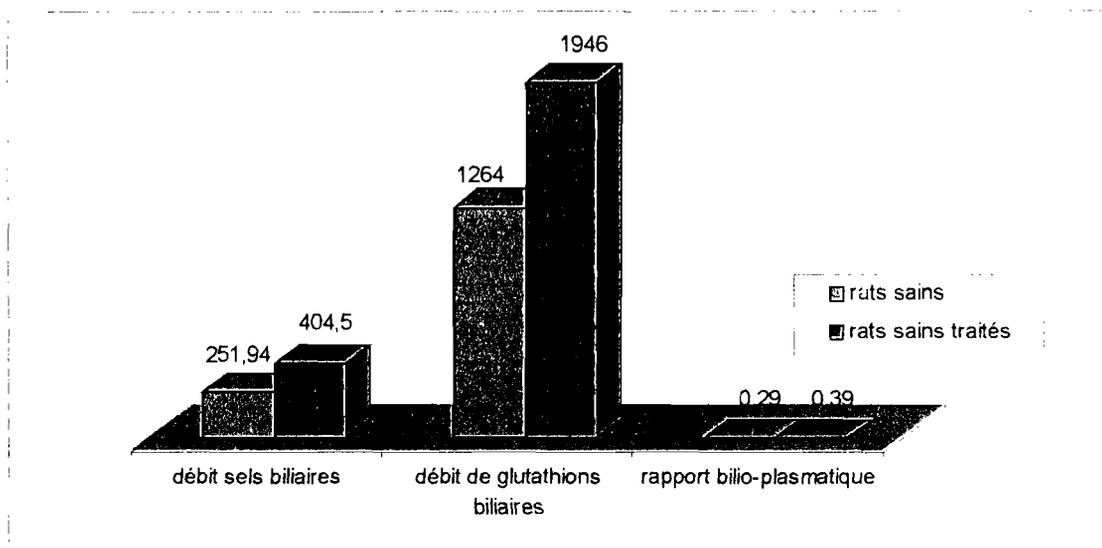


Figure 16 : Résultats comparatifs rats sains / rats sains traités

On observe une augmentation des sels biliaires du glutathion et du rapport bilio-plasmatique. Le test statistique est significatif pour les sels biliaires, le glutathion et le rapport bilio-plasmatique.

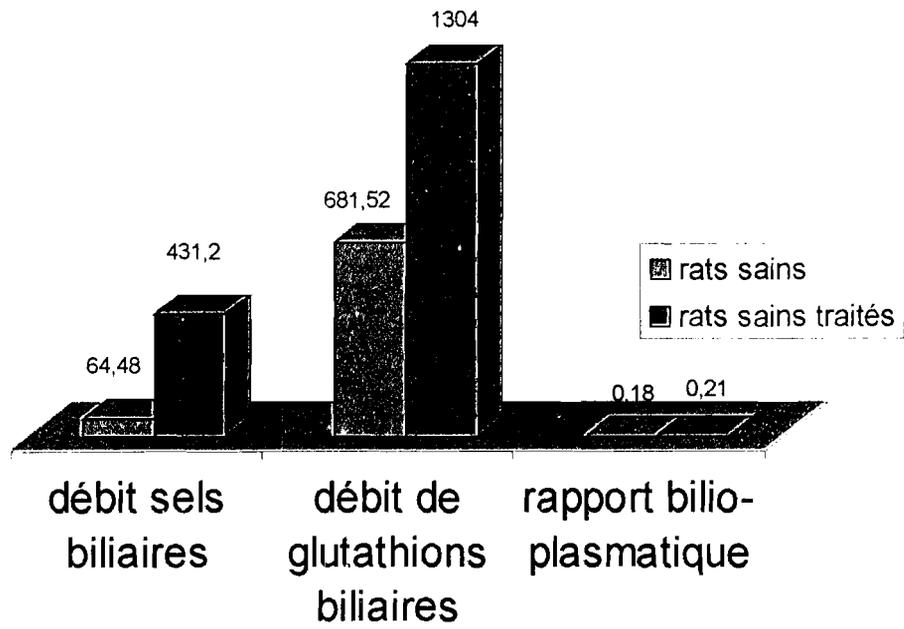


Figure 17 : Résultats comparatifs rats cholestatiques / rats cholestatiques traités

Les différents paramètres ont augmenté chez les rats traités avec une différence significative pour les sels biliaires et le glutathion ; et non significative pour le rapport bilio-plasmatique

*Discussions et
conclusion*

III - DISCUSSION ET CONCLUSION

Du fait de ses nombreuses propriétés, *Combretum micranthum* plus connu sous le nom de kinkéliba est largement utilisé en médecine traditionnelle : diurétique, fébrifuge, cholagogue, cholérétique... (5, 9, 18, 19, 33, 51, 53). Cependant nous disposons de peu de travaux scientifiques validant ces propriétés. C'est pourquoi nous nous sommes fixé comme objectif de mener une étude sur les propriétés cholérétiques de cette plante à partir d'un modèle in vivo. Pour atteindre cet objectif nous avons utilisé des rats Wistar rendus cholestatiques par intoxication au CCl_4 , le CCl_4 entraînant une cirrhose biliaire associée à une cholestase (34, 35, 38).

Le choix du rat comme modèle est guidé par les raisons suivantes :

- il est dépourvu de vésicule biliaire ; la bile en provenance des différents lobes du foie est directement acheminée dans le canal cholédoque. Ainsi toute augmentation du débit biliaire sera dûe à un effet cholérétique, les cholagogues ayant pour site d'action la vésicule biliaire qui est absente chez le rat.

- les résultats obtenus chez le rat sont transposables à l'homme ;

- le prix de revient est abordable.

Quant à l'action du CCl_4 sur le rat, elle est variable selon les auteurs. Dans notre série l'intoxication chronique par le CCl_4 même à doses faibles a entraîné une forte mortalité contrairement à ce qui est rapporté dans les travaux de *GUEYE M.* et *KAMSLOUM* (35, 38). Ces résultats discordants pourraient être dus à une différence de sensibilité des rats au CCl_4 .

En revanche, la cholestase a été confirmée dans notre série, elle est caractérisée par une diminution du débit biliaire des rats associée à une élévation des gamma glutamyl transférases et des phosphatases alcalines sériques.

Chez les rats sains traités, le débit biliaire est significativement plus élevé que chez les témoins non traités, ce qui suggère d'une part l'élimination de *Combretum micranthum* par voie biliaire et d'autre part un effet hypercholérétique.

Chez les rats intoxiqués au CCl_4 , cette hypercholérèse est observée lorsque le décocté de *Combretum micranthum* et le CCl_4 sont administrés simultanément, par

contre cet effet disparaît lorsque l'administration de *Combretum micranthum* est différée.

Ceci suggère :

1° - une protection des hépatocytes de l'effet toxique du CCl_4 par le décocté de *Combretum micranthum*

2° - une non réversibilité des lésions hépatocytaires induites par le CCl_4 par *Combretum micranthum*.

Cependant il ne faut pas exclure qu'un traitement prolongé pourrait être efficace, le nôtre ayant duré trois jours.

L'étude qualitative de la bile a montré une augmentation significative des sels biliaires et des glutathions biliaires chez les rats traités.

Cette augmentation confirme de nombreux travaux qui ont montré que le transport des acides biliaires constitue une des forces motrices de la sécrétion biliaire dépendante des acides biliaires et celui du glutathion, du débit biliaire indépendant des acides biliaires (25, 26, 35, 46).

En effet les sels biliaires par le shunt cholé-hépatique sont captés par les hépatocytes qui les acheminent vers le canalicule. Ils sont alors cent fois plus concentrés dans le canalicule que dans le cytosol hépatocytaire et ainsi leur transport entraîne un flux osmotique d'eau contribuant à une partie importante de la sécrétion biliaire.

A coté de cette sécrétion dépendante des acides biliaires, il existe une autre indépendante, liée au transport actif du glutathion qui lui permet de se retrouver dans la bile et d'entraîner également un appel d'eau par phénomène osmotique.

Cette étude qualitative de la bile a par ailleurs révélé une augmentation du rapport bilio-plasmatique du glucose des lots traités par rapport à leurs témoins respectifs. Ce qui suggère une augmentation du débit canaliculaire résultant de l'hypertension sinusoidale et d'une augmentation de la filtration passive hydrostatique à travers les jonctions cellulaires.

Une autre hypothèse sur le mécanisme d'action cholérétique pourrait être liée à une prolifération des néoductules biliaires dans les cirrhoses biliaires comme l'ont

montré les travaux d'*Alpini* et coll (2) et *Erlinger S.* (25, 26, 27), selon lesquels dans certains modèles de cirrhoses, l'augmentation du nombre de ductules biliaires est corrélée à l'hypercholérèse. Cette hypothèse peut être exclue dans notre étude, même si nous n'avons pas pratiqué une biopsie hépatique en vue de la recherche de la prolifération des néoductules. En effet les travaux de *Reichen J* et *Krahenbuhl S* ont montré qu'après administration de CCL₄, il existe une cirrhose sans prolifération néoductulaire (51).

En conclusion, cette étude nous a permis de confirmer les propriétés cholérétiques de *Combretum micranthum* et suggère une activité hépatoprotectrice. L'augmentation du débit biliaire au cours du traitement des rats cholestatiques par le décocté de *Combretum micranthum* est due aux propriétés cholérétiques de ce décocté. Cet effet est dû d'une part à une augmentation des sels biliaires et des glutathions biliaires ; et d'autre part à une augmentation du débit canaliculaire résultant de l'hypertension sinusoidale et de l'augmentation de la filtration passive à travers les jonctions intercellulaires.

Ces résultats devraient inciter les populations à une meilleure considération et une plus grande revalorisation de cette plante.

En effet, en dehors de son intérêt purement alimentaire (petit déjeuner de beaucoup de sénégalais !!), elle constitue un bon rempart contre un des symptômes les plus fréquents des pathologies hépatiques à savoir la cholestase. A ces avantages, s'ajoute un qui n'est pas des moindres dans nos pays, c'est le prix de revient à portée de toutes les bourses !!!

*Références
bibliographiques*

BIBLIOGRAPHIE

- 1- **ADJANOHOUN E. J. et coll.** (1979) :
Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. 291 p. 86 pl p17-39-ACCT Paris

- 2- **ALIPINI G., LENZI R., ZHAI W.R., SCOTT P.A., LIU M.H., SARKOZI L., TAVALONI N.**
Bile secretory function of intrahepatic biliary epithelium in the rat .
Am. J. Physiol, 1989, 257 : G124-33

- 3- **AUBERVILLE A.**
Flore forestière soudano-guinéene, A.O.F. Cameroun A.E.F. Soc. d'éd. Géographiques maritimes et coloniales, Paris, 1950

- 4- **BAKARY MAHAMAT**
Contribution à l'étude de Combretacées du Sénégal, comparaison de l'activité anti-bactérienne de 3 espèces :
- *Combretum micranthum* G. Don ;
- *Guiera senegalensis* J.F.G Mel ;
- *Terminalia avicenoides* Guill. Et Perr
Thèse doctorat d'Etat Pharmacie 1990 N°44 (Enquêtes)

- 5- **BALANSARD J. ; DELPHAUT J.**
Diurèse et kinkéliba: action d'un décocté sur la diurèse d'un lapin. Bull. Soc. Marseille ,1952, 29

- 6- **BALANSARD J. ; DELPHAUT J.**
Diurèse et kinkéliba: Les facteurs responsables de l'action diurétique.
Bull. Soc. pharm., Marseille, 1952, 29

- 7- **BASSENE E.**
Etude de la composition chimique du *Combretum micranthum* G. DON (kinkéliba) Combretacées. 128p, 28 fig. p 104-107.
Thèse doctorat d'état pharmacie 1985 N°13 UCAD

- 8- **BASSENE E. ; OLSCHWANG D. ; POUSSET J.L.**
Plantes médicinales africaines. Les alcaloïdes du *Combretum micranthum* G. DON (kinkéliba) An. pharm.fses, 1986, 44 (3) : 191-196

- 9- **BASSENE S.**
Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle Diola : Enquête ethnopharmacologique chez les Diola Brin-Bandial
Thèse doctorat d'état Pharmacie 24 décembre 1991, N°65

BIBLIOGRAPHIE

- 1- **ADJANOHOUN E. J. et coll.** (1979) :
Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. 291 p. 86 pl p17-39-ACCT Paris

- 2- **ALIPINI G., LENZI R., ZHAI W.R., SCOTT P.A., LIU M.H., SARKOZI L., TAVALONI N.**
Bile secretory function of intrahepatic biliary epithelium in the rat .
Am. J. Physiol, 1989, 257 : G124-33

- 3- **AUBERVILLE A.**
Flore forestière soudano-guinéenne, A.O.F. Cameroun A.E.F. Soc. d'éd. Géographiques maritimes et coloniales, Paris, 1950

- 4- **BAKARY MAHAMAT**
Contribution à l'étude de Combretacées du Sénégal, comparaison de l'activité anti-bactérienne de 3 espèces :
 - *Combretum micranthum* G. Don ;
 - *Guiera senegalensis* J.F.G Mel ;
 - *Terminalia avicenoides* Guill. Et Perr
 Thèse doctorat d'Etat Pharmacie 1990 N°44 (Enquêtes)

- 5- **BALANSARD J. ; DELPHAUT J.**
Diurèse et kinkéliba: action d'un décocté sur la diurèse d'un lapin. Bull. Soc. Marseille ,1952, 29

- 6- **BALANSARD J. ; DELPHAUT J.**
Diurèse et kinkéliba: Les facteurs responsables de l'action diurétique.
Bull. Soc. pharm., Marseille, 1952, 29

- 7- **BASSENE E.**
Etude de la composition chimique du *Combretum micranthum* G. DON (kinkéliba) Combretacées. 128p, 28 fig. p 104-107.
Thèse doctorat d'état pharmacie 1985 N°13 UCAD

- 8- **BASSENE E. ; OLSCHWANG D. ; POUSSET J.L.**
Plantes médicinales africaines. Les alcaloïdes du *Combretum micranthum* G. DON (kinkéliba) An. pharm.fses, 1986, 44 (3) : 191-196

- 9- **BASSENE S.**
Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle Diola : Enquête ethnopharmacologique chez les Diola Brin-Bandial
Thèse doctorat d'état Pharmacie 24 décembre 1991, N°65

- 10- **BENOIT-VICAL F. ; VALENTIN A. ; PELISSIER Y. ; MARION C. ; CASTEL D. ; MILHAU M. ; MALLIE M. ; BASTIDE J.M. ; DIAFOUKA F. ; KONE-BAMBA D. MLAN A. ; LOUKOU Y. ; MONET D. ; AKE-ASSI L. ; YAPO A.**

Confirmation « in vitro » de l'activité antimalarique de certaines plantes d'origine africaine utilisées en Médecine traditionnelle.

- 11- **BERHAUT J.(1974)**

Flore illustrée du Sénégal Tom II , Balanophoracées à composés.695 p.231 p.233 à 319

Gouvernement du Sénégal. Ministère du développement rural et de l'hydraulique. Direction des eaux et forêts. Diffusion Clairafrique Dakar.

- 12- **BERHAUT J.(1967)**

Flore du Sénégal. 2^{ème} Ed, 485 p 71, fig12 illustration. Diffusion Clairafrique Dakar

- 13- **BERNARD S.**

Les hépatites et le syndrome de cholestase.

Biochimie clinique ed. 2001 pp200-1

- 14- **CHAPEVILLE F., CLAUSER et al**

Biochimie, Hermann Edit. des sciences et des arts, 1974, p.503-504

- 15- **COMBETTES L., DOMONT M., BERTHON B., ERLINGER S., CLARET M.**

Release of calcium from the endoplasmic reticulum by bile acids in rat liver cells.

J. Biol. Chem.,1988, 263: 2299-303

- 16- **CONNOLY A.K., PRICE S.C., CONNOLY J.C., HINTCH R.H.**

Early changes in bile duct lining cells and hepatocytes in rates treated with naphthylisothiocyanate.

Tox. Appl. Pharmacol., 1991,93 : 208-19

- 17- **DAFFE B.M. (1973)**

Recherche sur la flore médicinale du Sénégal , *Antiaris africana* Engl.

Combretum micranthum G. DON ; *Combretum glutinosum* Perr

Thèse doctorat d'état pharmacie Université de Bordeaux II

- 18- **DECAUX F.**

Un puissant chalagogue africain : Le kinkéliba, *Combretum micranthum* G. DON

Lum. DON. Phytothérapie, 1948, 86.

- 19- **DELPIANT J. , GERNARD P.**
Diurèse et kinkéliba, recherche de la fraction active.
Bull.Soc. pharm., Marseille, 1952, 26
- 20- **DEYSSON G.**
Organisation et classification des plantes vasculaires
Tom II. p.31-43-473.
- 21- **DIAGNE S.A.**
Plantes médicinales : Enquêtes menées dans la région de Thiès
auprès des guérisseurs
Thèse doctorat d'état Pharmacie 1991, N° 47, Dakar
- 22- **DRAME R.**
Contribution à l'étude des dicotylédones médicinales au Sénégal :
Phyllotaxie et morphologie foliaire.
Thèse doctorat d'état Pharmacie 1985 N° 9 UCAD
- 23- **ELIAS E. , IGBAL S. , KNUTTON S et al.**
Increased tight junction permeability. A possible mechanism of
oestrogen cholestasis.
Eur. J. Clin. Invest, 1983, 13, 383-90
- 24- **ERLINGER S.**
What is cholestasis?
J. Hepatol., 1985, 1: 687-93
- 25- **ERLINGER S.**
La formation de la bile.
Act. Med. Int. Gastro-Enterologie, 1990, 2: 42-52
- 26- **ERLINGER S.**
Role of intracellular organelles in the hepatic transport of bile acids.
Biomed. Pharmacother, 1990, 44: 409-16.
- 27- **ERLINGER S.**
Secretion of bile
In: SCHIFFE E., SCHIFF L., ed.
Diseases of the liver. Philadelphia = Lippincott, 1993
- 28- **ESCOURROU J., LAZORTHE F. et al.**
Le foie.
In: hepatogastroenterologie clinique.
Frexinos J. Simep, Paris, 1992, 9 : 278-287

- 29- FORTIN D. , LO M., MAYNART G.**
Plantes médicinales du Sahel. Dakar, ENDA-EDITION ,1997
pp.114-117
- 30- FRANCOISE M.M.T.**
Origine et identification du kinkéliba. Bull. Soc. Pharm., 1936,3
- 31- GUIGNARD J.L.**
Abrégé de Botanique, 5ème édition révisée 1983
- 32- GRANDELLE A., WONDRGEN P.A.**
Les phytothérapies anti-infectieuses de la forêt savane Afrique
Occidentale
In the journal of ethnopharmacology, 1987, 21
- 33- GREGOIRE J.**
Contribution à l'étude du kinkéliba (*Combretum micranthum*
G.DON.)
Thèse doctorat d'état pharm.,Marseille,1953
- 34- GLEESON D. ; BOYER J.**
Cholestase intrahépatique
Hépatologie clinique, 1993, p1189
- 35- GUEYE M.**
Mise en évidence des propriétés cholérétiques et du mécanisme d'action de
l'extrait aqueux lyophilisé des racines de *Tinospora bakis* à partir de modèle
in vivo.
Thèse doctorat d'état pharmacie 1996 N°74 UCAD
- 36- JAVITT N.B., EMERMAN S.**
Effect of sodium tauroolithocholate on bile flow and bile acid excretion.
J. Clin. Invest, 1968, 47: 1002-14
- 37- JENTZCH K., SPIEGEL P., FUCHS L.**
Untersuhungen uber die inhaltstoff der Blatter Von *Combretum micranthum*
G. DON
Planta Medica (1969), 10, N° 1
- 38-KAMSLOUM R.**
Contribution à l'étude de l'action hépatoprotectrice du *Tinospora bakis*.
Thèse pharm,1984 N° 126 UCAD

39- KERHARO J.

Connaissance de la pharmacopée sénégalaise
Bull. et mém. Fac. mixt. Med. et pharm

40- KERHARO J. et ADAM J.G.

Pharmacopée sénégalaise traditionnelle ; Plantes médicinales et toxiques.
Edition Vigo et frères. Paris, 1974, 1011 P.

41- KERHARO J.(1971)

Recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales et toxiques de la pharmacopée sénégalaise traditionnelle 285 p.p. 143 à 147.
Thèse doctorat d'Etat pharmacie N° 21 UCAD.

42- LEFEVRE G.R.

Contribution à l'étude anatomique et pharmacologique des Combretacées
Thèse doctorat pharm., Paris, 1985

43- LEGRAND A.

Les phytothérapies anti-infectieuses de la forêt savane, Sénégal (Afrique occidentale) III :Un résumé des substances phytochimiques et l'activité anti-microbienne de 43 espèces.

44- LO M. (1984)

Pharmacopée sénégalaise pratique 164 p XXVIII pl. p 54-92
Thèse doctorat d'Etat Pharmacie N° 98 UCAD.

**45- MARCOL, SCHTEINGART C.D., STEINBACH J.H., LAMBERT K.,
Mc ROBERTS J.A., HOFMANN A.F.**

Sugar absorption by the biliary ductular epithelium of the rat: Evidence for two transport systems.
Gastroenterology, 1992, 102: 563-71

46- NATHANSON M.H., BOYER J.L.

Mechanism and regulation of bile secretion
Hepatology, 1991, 14: 551-566

47- PARIS R.

Sur une combrétacée africaine, le kinkéliba.
Bull. Soc. pharm., 1956, 49

48- POIREL O.

Etude de la captation des acides biliaires par les cellules biliaires isolées de rats.
Thèse Doc, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 1993

- 49- POP F.A., WEFER J.M., CHAKRABORTY D.P., ROSEN G., CASEY A.C.**
Investigation of African plants for alkaloids antimalarial agents and antineoplastic agents
Planta medica, 1968
- 50-Reichen J. et Krahenbuhl S.**
Permeabilities to sucrose and ferrocyanate and maximal biliary pressure are increased in cirrhotic rats.
J. Hepatol., 1988, 7, 63-71.
- 51- RIVOALEN M.M.C.**
Contribution à l'étude pharmacologique de l'extrait fluide de kinkéliba.
Travaux Soc. pharm., Montpellier, 1945
- 52- RUETZ S., HUGENTOBLER G. et MEIER P.J.**
Fonctionnal reconstitution of the canalicular bile salt transport system of rat liver.
Proc. Natl. Acad. Sci USA, 1988, 85: G 147-51
- 53- SENE B.**
Contribution à l'étude de l'activité pharmacologique de Combretum micranthum G. DON
Thèse doctorat d'Etat Pharmacie 1990, 94.
- 54- STOLZ A., TAKIKAWA H., OOKHTENS M., KAPLOWITZ.**
The role of cytoplasmic proteins in hepatic bile acid transport.
Anna. Rev. Physiol, 1989, 51: 161-76
- 55- TAILIANDIER J., DUMONT M., MESA V., DEGOTT C., ERLINGER S.**
L'augmentation de la cholérèse au cours de la cirrhose biliaire secondaire chez le rat est due à une sécrétion par les voies biliaires.
Gastroenterol. Clin. Biol., 1990, 14: 313-18
- 56- TAVALONI N.**
Role of ductular bile water reabsorption in canine bile secretion
J. lab. Clin. Med., 1985, 106 :154-161
- 57- VLAHCEVIC Z.R., HEUMAN D.M., HYLEMON P.B.**
Regulation of bile acid synthesis
Hepatology, 1991, 13: 590-600.