

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Ach** : Acétylcholine

**ADP** : Adénosine Diphosphate

**AMPc** : Adénosine-3'-5'-monophosphate cyclique

**ATP** : Adénosine Triphosphate

**BaCl<sub>2</sub>**: Chlorure de barium

**BH<sub>4</sub>** : tétrahydrobioptérine

**CML** : Cellule Musculaire Lisse

**CMLV** : Cellule Musculaire Lisse Vasculaire

**COX** : Cyclooxygénase

**DAG**: Diacétyl glycerol

**EDCF**: Facteurs Vasoconstricteurs Dérivés de l'Endothélium

**EDFR** : Endothélium Derived Relaxing Factor

**EDHF** : Facteur Hyperpolarisant Dérivé de l'endothélium

**EET** : époxycicosatriénoïques

**eNOS** : Endothélium Nitric Oxyde Synthase

**ET1**: l'Endothéline 1

**FAD** : Flavine-Adénine-Di nucléotide

**FMN** : Flavine-Mono nucléotide

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'hydrogène

**HNO**: Nitroxyl

**HOCL** : Hypochloreux

**HSP90** : heat shock protéine90

**iNOS** : Nitric Oxyde Synthase

**IP3** : Inositol Triphosphate

**LDL** : Low Density Lipoprotéin

**MCP-1**: monoxyde chémoattractant protéine-1

**NADPH** : Nicotinamide-Adénine-Di nucléotide-Phosphate

**nNOS** : **Neuronal Nitric oxyde Synthase**

**NO** : Monoxyde d'azote

**NO<sub>2</sub>** : Dioxyde d'azote

**NorADR** : Noradrénaline

**NOS** : Monoxyde d'azote synthase

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde

**OH<sup>•</sup>** : Hydroxyle

**ONOO<sup>-</sup>** : Peroxynitrites

**PGG<sub>2</sub>** : Prostacycline G2

**PGH<sub>2</sub>** : Prostaglandine H2

**PGI<sub>2</sub>** : Prostacycline I2

**PKA** : Protéine Kinase A

**PLA<sub>2</sub>** : Phospholipase A2

**PLC**: phospholipase c

**PM**: Poids Moléculaire

**ROS** : Espèces Réactives de l'oxygène

**SOD** : Superoxyde Dismutase

**SP** : Substance P

**TFA**: L'Anhydride trifluoroacétique

**TXA2**: Tromboxane A2

**VCAM-1** : vascular cell adhésion molécule-1

**VGEF** :vascular endothelial growth factor

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

**Figure 1** : Représentation schématique des différents tuniques de la paroi vasculaire

**Figure 2** : Facteurs vasoactifs synthétisés par l'endothélium

**Figure 3** : Métabolisme de l'acide arachidonique en prostanoides spécifiques

**Figure 4** : Biosynthèse du NO à partir de la L-arginine

**Figure 5** : Biosynthèse du NO et régénération de la L-arginine

**Figure 6** : Représentation schématique de la NOS

**Figure 7** : Voie de synthèse du NO

**Figure 8** : Mécanisme d'action de l'EDHF

**Figure 9** : Facteurs vasoconstricteurs endothéliaux

**Figure 10** : Balance entre production et dégradation des ROS

**Figure 11** : Calices d'Hibiscus sabdariffa

**Figure 12** : Gousse d'allium sativum

**Figure 13** : Fruits d'Anacardium occidentale

**Figure 14** : Ecorces d'Anacardium occidentale

**Figure 15** : Balanites aegyptiaca

**Figure 16** : Moringa oleifera

**Figure 17** : Tronc du sclerocarya birrea

**Figure 18** : Fruits et feuilles de sclerocarya birrea

**Figure 19** : Graines bouillies et fermentées de Parkia biglobosa

**Figure 20** : Feuilles, fruits et graines de Parkia biglobosa

**Figure 21** : Vue d'ensemble du laboratoire de physiologie

**Figure 22** : Système à organe isolé

**Figure 23** : Balance de précision

**Figure 24** : Distillateur

**Figure 25** : Moulinex

**Figure 26** : Broyeur à mortier

**Figure 27** : Evaporateur rotatif

**Figure 28**: Courbes effet- concentration de la réponse relaxante à l'acétylcholine (Ach) ou au Nitroprussiate de sodium (SNP) au niveau de l'aorte thoracique isolée de rat en présence et en absence d'endothélium, respectivement. Les résultats représentent la moyenne  $\pm$  SEM (écart-moyen standard) de 4 expériences à partir de 4 rats différents.[98]

**Figure 29** : Etude de l'effet de l'extrait d'écorces de *Parkia biglobosa* sur la vasomotricité des vaisseaux endothéliaux

**Figure 30** : Courbes effet-concentration de la réponse relaxante à l'extrait brut d'*hibiscus sabdariffa* au niveau de l'aorte thoracique isolée de rat en présence et en absence d'endothélium. Les résultats représentent la moyenne  $\pm$  SEM (écart-moyen standard) de 4 expériences à partir de 4 rats différents.

**Figure 31** : Relaxation induite par la gamme de concentration de l'extrait hydro alcoolique d'*Anacardium occidentale* sur les anneaux d'aorte de rat.

**Figure 32 :** Courbes effet-concentration de l'extrait *d'Allium sativum*, au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-contracté à l'Adr, en présence et en l'absence d'endothélium fonctionnel.

**Figure 33 :** Courbes effet-concentration de l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* sur l'aorte thoracique isolé de rat, en présence et en l'absence d'endothélium fonctionnel.

**Figure 34 :** Courbes effet-concentration de l'extrait brut de *S. birrea*, au niveau de l'artère thoracique isolée de rat, en présence et en absence d'endothélium. Les résultats sont exprimés sous forme de Moyenne  $\pm$  SEM de 6 à 24 expériences. [114]

**Figure 35 :** Courbes effets-concentrations de la réponse relaxante à l'extrait brut de *Moringa oleifera* au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat en présence et en absence de l'endothélium.

**Figure 36 :** Courbes effet-concentration des extraits *d'Allium sativum*, *Balanites aegyptiaca*, *Sclerocarya birrea* et de *Moringa oleifera* au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec la L-NAME.

**Figure 37 :** Relaxation vasculaire induite par l'extrait d'*Anacardium occidentale*, inhibée en la présence de L-NAME. Courbe effet concentration de l'extrait *d'Anacardium occidentale* en présence d'indometacine.

**Figure 38 :** Courbes effet-concentration de la réponse relaxante de l'extrait brut *d'hibiscus sabdariffa* sur des vaisseaux traités avec un inhibiteur de la NO synthase (la L-NAME) et d'un inhibiteur de la Cyclooxygénase (l'indométacine) et d'un vaisseau non traité (le contrôle). Les résultats représentent la moyenne  $\pm$  SEM (écart-moyen standard) de 4 expériences à partir de 4 rats différents.

**Figure 39 :** relaxation vasculaire induite par l'extrait de *Parkia biglobosa* inhibée en présence d'indométacine et en présence de L-NAME.

**Figure 40:** Relaxation des anneaux d'aorte induite par l'extrait *d'Hibiscus sabdariffa*, *d'Anacardium occidentale* et *Moringa oleifera* et de *Sclerocarya birrea* en présence de BaCl<sub>2</sub>.

**Figure 41 :** Effet de l'inhibition de la voie PI3 kinase/AKT par la wortmannine dans les relaxations vasculaires induites respectivement par l'extrait *d'Anacardium occidentale*, *d'Hibiscus sabdariffa* et de *Parkia biglobosa*. n = 4 ; \* = p < 0.05

**Figure 42 :** Effet inhibiteur de l'antioxydant MnTMPyP sur la relaxation vasculaire induite par l'extrait *d'Anacardium occidentale* et *d'Hibiscus sabdariffa* n = 4 ; \* = p < 0.05.

**Figure 43 :** Courbes effet-concentrations de l'Adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat en présence et en l'absence d'endothélium fonctionnel.

**Figure 44** : Courbes effet-concentration de l'adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* à  $10^{-2}$  mg/ml en présence d'endothélium fonctionnel.

**Figure 45** : Courbes effet-concentration de l'Adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec l'extrait hydroalcoolique d'*Allium sativum* à  $10^{-2}$  mg/ml en présence d'endothélium fonctionnel

**Figure 46** : Effet préventif de l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa* dans la vasoconstriction induite par l'adrénaline en présence d'endothélium fonctionnel

**Figure 47** : Courbes effet-concentration de l'Adrénaline sur l'aorte thoracique isolée de rat pré-incubé avec l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* à  $10^{-2}$  mg/ml en l'absence d'endothélium fonctionnel.

**Figure 48** : Courbes effet-concentration de l'Adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec l'extrait hydroalcoolique d'*Allium sativum* à  $10^{-2}$  mg/ml en l'absence d'endothélium fonctionnel.

**Figure 49** : Effet préventif de l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa* dans la vasoconstriction induite par l'adrénaline en l'absence d'endothélium fonctionnel.

**Tableau I** : Composition de la solution physiologique de Krebs

**Tableau II** : Composition de la solution fille de Krebs

**Tableau III** : Gamme de concentration d'adrénaline et leur équivalence dans la cuve

# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
PREMIERE PARTIE	
Chapitre I : Physiologie de la paroi vasculaire.....	4
I.1- Organisation fonctionnelle de la paroi vasculaire .....	4
I.2- Structure et fonction des artères.....	4
I.2.1- L'intima ou endothélium .....	4
I.2.2- Le média.....	5
I.2.3- l'adventice .....	5
I.3- L'endothélium source de facteurs vaso-actifs .....	6
I.3.1- La prostacycline .....	8
I.3.2- Le monoxyde d'azote.....	10
I.3.2.1- Biosynthèse du NO .....	10
I.3.2.2- Les NOS .....	12
I.3.2.3- Rôle physiologique du NO d'origine endothélial.....	15
I.4- Facteurs hyperpolarisants endothélial.....	16
I.4.1- Mécanisme d'action et hypothèse quant à la nature d'EDHF ..	16
I.4.2- Importance de l'EDHF.....	19
I.5- Facteurs vasoconstricteurs dérivés de l'endothélium.....	20

I.5.1- Dérivés de l'acide arachidonique vasoconstricteurs.....	20
I.5.2- L'endothélin .....	21
I.5.3- Les espèces réactives de l'oxygène .....	22
I.5.4- L'angiotensine II.....	22
I.6- La dysfonctionnement endothéliale .....	23
I.6.1- Définition et causes.....	23
I.6.2- conséquences.....	25
Chapitre II : Rappel bibliographique sur les plantes à visée	
Cardiovasculaire .....	27
II.1- Calices d'Hibiscus sabdariffa.....	27
a) Classification .....	27
b) Composition chimique .....	28
c) Utilisations.....	29
II.2- Gousse d'Allium sativum.....	30
a) Classification .....	31
b) Composition chimique .....	31
c) Utilisations.....	32
II.3- Ecorces de Anacardia occidentale.....	33
a) Classification .....	34

b) Composition chimique .....	34
c) Utilisations .....	35
II.4- Fruits de <i>Balanites aegyptiaca</i> .....	35
a) Classification .....	36
b) Composition chimique .....	37
c) Utilisations .....	37
II.5- Feuilles de <i>Morenga olifera</i> .....	38
a) Classification .....	39
b) Composition chimique .....	39
c) Utilisations .....	40
II.6- Feuilles de <i>Sclerocarya birrea</i> .....	42
a) Classification .....	43
b) Composition chimique .....	44
c) Utilisations .....	44
II.7- Ecorces de <i>Parkia biglobosa</i> .....	46
a) Classification .....	47
b) Composition chimique .....	47
c) Utilisations .....	47

## DEUXIEME PARTIE : Travail Personnel

Chapitre I : Méthodologie générale.....	50
I.1- Cadre d'étude .....	50
I.2- Type d'étude .....	51
I.3- Matériels.....	51
I.3.1- Matériels de laboratoire .....	51
a- Petit matériel.....	51
b- Appareils du laboratoire .....	52
c- solution, solvant et réactifs utilisés .....	57
I.3.2- Les animaux .....	58
a- Espèces utilisés .....	58
b- Condition d'élevage .....	58
I.3.3- matériel végétal.....	58
I.4- Méthodes .....	59
I.4.1- Préparation des extraits bruts.....	59
a- Méthodes d'extraction .....	59
b- Mode opératoire .....	59
I.4.2- Préparation de la solution physiologique de KREBS.....	60
a- Préparation de la solution mère de KREBS .....	60

b- Préparation de la solution fille de KREBS .....	61
I.4.3- Mise en route du système à organe isolé .....	61
I.4.4- Sacrifice de l'animal et préparation des vaisseaux.....	62
I.4.5- Préparation des solutions de travail .....	63
a- Préparation de la solution d'adrénaline .....	63
b- Préparation de la solution d'acétylcholine .....	63
c- Préparation de la solution de L-NAME.....	64
d- Préparation de la solution de Wortmannine.....	64
e- Préparation de la solution d'indométacine .....	65
f- Préparation de la solution de chlorure de baryum .....	65
g- Préparation de la solution de MnTMPyP .....	65
h- Préparation de la solution de nitroprussiate sodique .....	65
i- Préparation de la solution de bleu de méthylène .....	66
j- Préparation de la solution de glibenclamide .....	66
k- Préparation de la solution de l'oxyhémoglobine .....	66
l- Préparation de la gamme de concentration d'adrénaline.....	67
m- Préparation des gammes de concentration d'extraits.....	68
I.4.6- Test de réactivité vasculaire.....	68
a. Test de sensibilisation.....	68

b. Test de fonctionnalité .....	69
I.4.7- Caractérisation des effets vasoactifs de l'extrait .....	70
a. Recherche de propriétés vasoactifs des extraits .....	70
b. Recherche des mécanismes impliqués dans les effets vasoactifs des extraits.....	70
I.5- Analyse statistique .....	71
I.6- Résultats .....	71
I.6.1- Résultats des tests de fonctionnalité .....	71
I.6.2- Effets vasculaires des extraits .....	76
I.6.3- Caractérisation des mécanismes impliqués dans la vasorelaxation .....	76
I.6.4- Rôle de l'endothélium dans la vasoconstriction induite par l'adrénaline .....	81
I.6.5- Effets préventifs des extraits sur la vasoconstriction induite par l'Adrénaline en présence d'endothélium.....	82
I.6.6- Effets préventifs des extraits sur la vasoconstriction induite par l'Adrénaline en l'absence d'endothélium.....	84
Chapitre III : Discussion.....	86
CONCLUSION.....	90
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	93

## INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires constituent un véritable problème de santé publique et sont la cause d'une importante mortalité et morbidité au niveau mondial. La forme la plus fréquente est l'hypertension artérielle.

Beaucoup de travaux ont permis d'établir que ces principales pathologies cardiovasculaires sont associées à l'apparition d'une dysfonction endothéliale qui diminue les propriétés relaxantes du vaisseau. La conséquence sera une augmentation des résistances vasculaires, entraînant alors une hypertension artérielle.

L'hypertension artérielle à elle seule serait responsable d'un peu moins de 8 millions de décès par an dans le monde et de près de 100 millions de jours d'invalidité au sein de la population active. Elle serait la cause de près de la moitié des accidents vasculaires cérébraux et des accidents cardiaques dans le monde [86].

En 2000 on avait estimé à environ 24,6% la population d'hypertendue et 29,2% devraient être atteintes d'ici 2025. Parmi les 972 millions d'adultes hypertendus, 333 millions, soit 34,3%, proviennent des pays développés, et 639 millions, soit 65,7%, sont issus des pays en voie de développement. Le nombre d'adultes hypertendus d'ici 2025 pourrait augmenter de 60% et atteindre 1,56 milliard [60].

Sa prise en charge reste un réel enjeu dans les pays en voie de développement, car si l'efficacité des traitements existants a été largement prouvée, leur accessibilité financière reste problématique. Ainsi, la phytothérapie semble être une alternative dans la prévention et la prise en charge à moindre coût de l'hypertension artérielle.

Dans notre laboratoire d'accueil il a été démontré qu'*Hibiscus sabdariffa*, *Anacardium occidentale*, *Parkia biglobosa*, *Moringa oleifera*, *Sclerocarya*

*birrea*, *Allium sativum* et *Balanites aegyptiaca*, des plantes à usage alimentaire fréquemment utilisées en Afrique et connues pour leurs nombreuses propriétés médicinales, notamment leur efficacité thérapeutique sur les maladies cardiovasculaires, possédaient des propriétés vasorelaxantes. Les mécanismes sous-tendant cette vasorelaxation, cependant, sont élucidés pour la plupart de ces plantes. Ainsi nous nous sommes proposé de contribuer à l'étude des effets vasculaires en faisant une synthèse des travaux qui ont été menés sur ces plantes.

Notre travail sera présenté en 4 parties :

- Une revue bibliographique sur la paroi vasculaire et sur les plantes listées plus haut
- Un exposé des travaux expérimentaux
- Une analyse et discussion des résultats obtenus
- Une conclusion générale

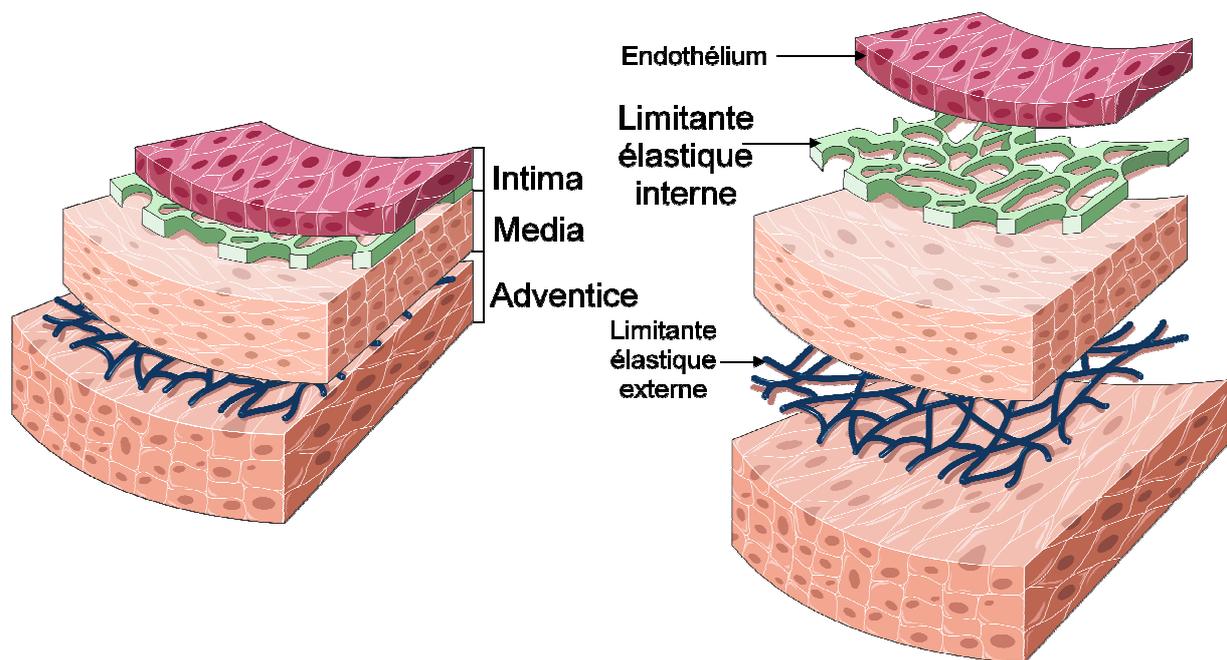
# PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

# CHAPITRE I : PHYSIOLOGIE DE LA PAROI VASCULAIRE

## I.1- Organisation fonctionnelle de la paroi vasculaire

A l'exception des capillaires sanguins, tous les vaisseaux sanguins sont composés d'une paroi vasculaire organisée en trois couches distinctes de l'intérieur vers l'extérieur : l'intima, la média et l'adventice

## I.2- Structure et fonction de la paroi vasculaire



**Figure 1** : Représentation schématique des différents tuniques de la paroi vasculaire

### I.2.1- L'intima

C'est la couche la plus interne. Elle est constituée d'une monocouche de cellule endothéliale et d'une base extracellulaire (collagène, glycoprotéines). L'intima joue un rôle majeur d'interface entre le sang et la paroi artérielle. Les cellules endothéliales ont une fonction fibrinolytique et antithrombotique. Elles permettent la modulation de la vasomotricité artérielle par la synthèse et la transmission de nombreuses substances vasoactives.

### **I.2.2- La média**

C'est la couche centrale, la plus épaisse de la paroi vasculaire. Dans les artères de conductance (aorte) elle est limitée par une lame élastique interne du côté luminal et une lame élastique externe. Elle se compose d'une succession de sous couches délimitées par des lames élastiques. Dans les artères de résistances, la lame externe est fragmentée ou bien absente. La media est constituée essentiellement d'un type cellulaire prédominant, la cellule musculaire lisse vasculaire(CMLV). Celle-ci est insérée dans une matrice extracellulaire qu'elle secrète et qui est constituée de fibres d'élastines et de collagènes. Les cellules musculaires lisses sont indispensables pour la relaxation et pour la contraction des artères. La présence et l'organisation aussi bien des fibres élastiques que des cellules musculaires lisses varient en fonction des vaisseaux. Dans les artères élastiques (artères brachio-céphaliques, artères sous-clavières, carotides, iliaques et artères pulmonaires), la media est constituée de plusieurs lames élastiques concentriques entre les quelles on retrouve les cellules musculaires lisses(CML). Le nombre de ces lames élastiques est fonction du diamètre de l'artère. Les CML et les lames élastiques forment une unité lamellaire. Le nombre d'unité lamellaire est proportionnel au diamètre du vaisseau et augmente avec le poids et la taille chez les animaux

### **I.2.3- L'adventice**

C'est la couche périphérique, constituée de tissu conjonctif (élastique, collagène), de fibroblastes, macrophages, terminaisons et vasa vasorum (pour l'apport d'oxygène et de nutriments). Les terminaisons nerveuses sont plus nombreuses sur les vaisseaux de faible calibre et musculaire alors que les vasa-vasorum sont plus importants dans les artères de gros calibres (> 200µm). Cette couche externe joue un rôle dans la régulation de la vasomotricité en libérant des neurotransmetteurs responsables de signaux divers pour la cellule musculaire lisse. Les fibroblastes sont aussi capables de produire des médiateurs

vasoactifs comme le NO [62, 63] ou les anions superoxydes [91] et ainsi, affecter le tonus vasculaire [46].

C'est sur cette structure en trois couches que reposent de nombreuses fonctions physiologiques dont le principal est d'assurer l'irrigation sanguine des différents organes. Il existe également de nombreuses interactions entre les différentes couches plus particulièrement entre les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales, mais également avec les éléments du plasma et figurés du sang (plaquettes, globules rouges et blancs). Selon les secteurs artériels considérés, la structure et l'importance relative de chaque tunique varient et confèrent à ces secteurs des propriétés mécaniques et structurales de la paroi artérielle :

→ Les artères de conductance : élastiques, de gros calibre où la matrice extracellulaire joue un rôle important. Elles opposent une très faible résistance au débit sanguin et ont un rôle hydraulique.

→ Les artères de résistance : musculaire de moyen et de petit calibre où la media est organisée et la trame élastique moins importante.

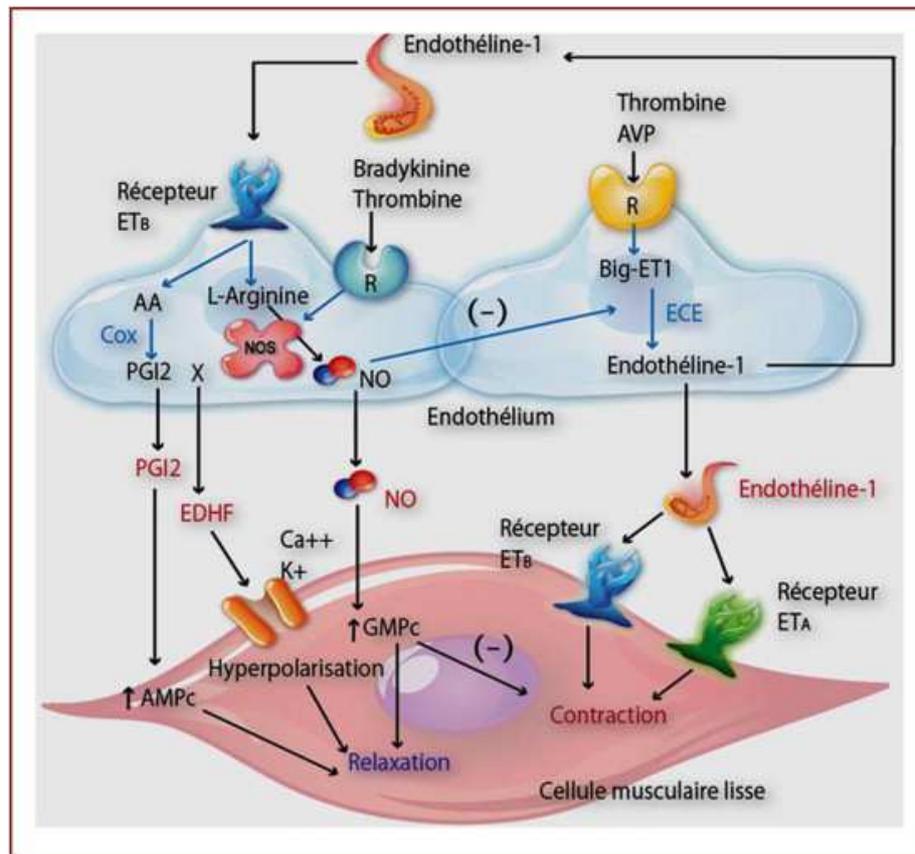
Ces artères distribuent le sang en volume et pression adéquate au niveau des capillaires, participant ainsi à la régulation physiologique de la résistance périphérique pré-capillaire.

### **I.3- L'endothélium source de substances vasoactives**

L'endothélium vasculaire n'est plus considéré comme une simple barrière entre le sang et les tissus [38]. Bien au contraire, les diverses fonctions de l'endothélium comprennent le contrôle du tonus vasculaire, la perméabilité endothéliale, l'agrégation plaquettaire mais aussi l'adhésion des plaquettes et des leucocytes, la prolifération des cellules musculaires lisses et la régulation de divers paramètres plasmiques et de la fibrinolyse [108]. Les facteurs impliqués dans ces nombreux processus physiologiques sont sécrétés lorsque

l'endothélium est activé par des agonistes tels que : les neurotransmetteurs (Acétylcholine, Noradrénaline, Adrénaline, Substance P) ; les hormones circulantes (catécholamines, vasopressine, angiotensine II, insuline) ; les autacoides (bradykinine, ADP, ATP, endothéline) ; les produits des plaquettes ou de la coagulation sanguine (sérotonine, ADP, thrombine). Ces agonistes se lient principalement à des récepteurs couplés aux protéines G et entraînent une augmentation de la concentration du  $Ca^{2+}$  intracellulaire dans la cellule endothéliale, responsable des différents effets vaso-actifs via la stimulation des différentes enzymes.

Le tonus vasculaire est régulé par de nombreux facteurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs endothéliaux. Les facteurs vasoconstricteurs sont principalement composés du thromboxane  $A_2$ , des anions super oxydes, de l'endothéline-I, de la prostaglandine  $H_2$ , et de l'angiotensine II [37]. Les trois principaux facteurs vasorelaxants sont : le monoxyde d'azote NO, la prostacycline ou  $PGI_2$  et le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium ou EDHF. Ainsi l'endothélium joue un rôle crucial en maintenant un équilibre entre vasoconstriction et vasodilatation, en régulant la prolifération des cellules musculaires lisses et en maintenant un équilibre entre les activités anti- et pro-fibrinolytique et anti- et pro-thrombotique.



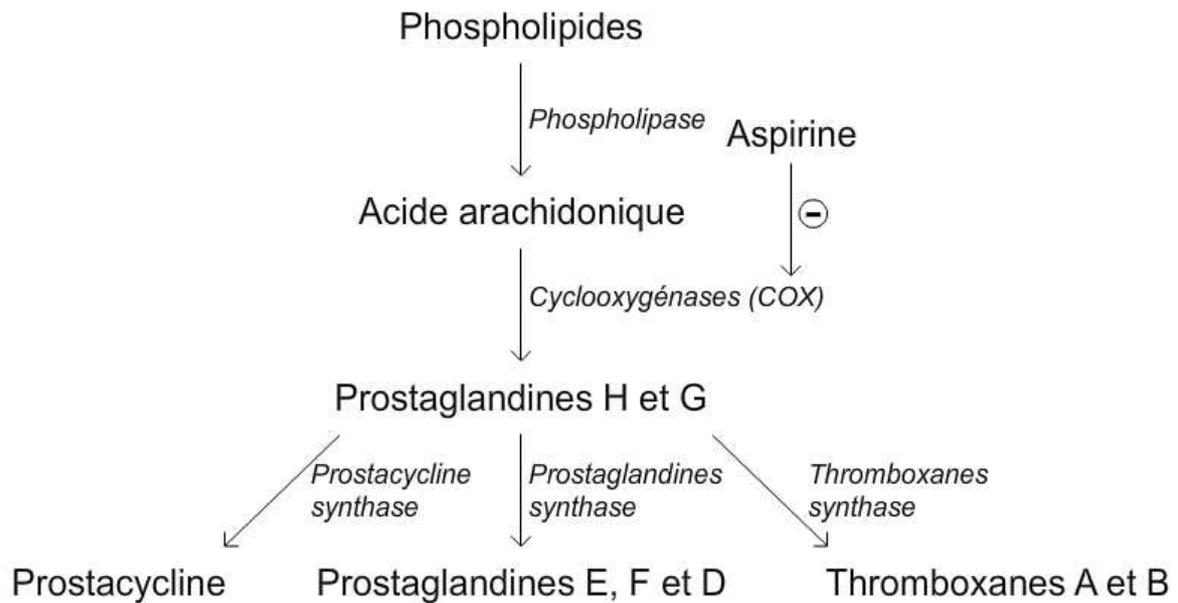
**Figure 2** : Facteurs vaso-actifs synthétisés par l'endothélium

### I.3.1- La Prostacycline

La prostacycline ou PGI<sub>2</sub> appartient à la famille des écosanoïdes ; dérivé de l'acide arachidonique, elle a été découverte par **Bunting, Gryglewski, Moncada** et **Vane** [14]. Les écosanoïdes sont synthétisés par l'enzyme cyclooxygénase COX-1 exprimée constitutivement par ces cellules. La synthèse de PGI<sub>2</sub> se faisant à partir de l'acide arachidonique, la disponibilité de l'acide arachidonique représente un facteur limitant de la synthèse de PGI<sub>2</sub>. L'acide arachidonique est libéré par la phospholipase A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>) à partir des phospholipides membranaires. L'acide arachidonique sera alors transformé par la COX-1 en PGG<sub>2</sub>, un endoperoxyde cyclique instable. A son tour PGG<sub>2</sub> est convertie en PGH<sub>2</sub>. La PGH<sub>2</sub> est aussi instable et va subir une isomérisation catalysée par PGI<sub>2</sub> synthase aboutissant aussi à la formation de PGI<sub>2</sub>. Dans les conditions de pH physiologique, la demi-vie est d'environ trois minutes. A son

tour, PGI<sub>2</sub> est hydrolysée en 6-kéto-PGF<sub>1</sub>α qui est stable mais inactif. Au niveau endothélial on trouvera également d'autres prostaglandines telles que PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α et PGD<sub>2</sub>[65]. La production de PGI<sub>2</sub> est stimulée par divers stimuli tels que l'hypoxie, les forces de cisaillements, en réponse à l'activation des récepteurs pour l'ATP, l'ADP, la bradykinine, l'histamine et la thrombine et en réponse à des stimuli indépendants des récepteurs tels que l'ionophore calcique A23187 et divers cations [82]. La synthèse de PGI<sub>2</sub> est indépendante de la concentration en calcium cytosolique qui est nécessaire à l'activité de la PLA<sub>2</sub> responsable de la libération de l'acide arachidonique.

Tout comme le NO la PGI<sub>2</sub> est un puissant vasodilatateur et un puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales mais également aux cellules musculaire lisses [65]. Une fois synthétisée, PGI<sub>2</sub> va diffuser librement et venir se lier au niveau des récepteurs à la prostacycline, des récepteurs à sept domaines membranaires que l'on trouvera au niveau des cellules cibles [103]. Ces récepteurs vont activer l'adénylate cyclase localisée au niveau membranaire, ce qui résulte en une augmentation de la formation d'AMP cyclique. L'AMPc ainsi produit active la protéine kinase dépendante de l'AMPc, la PKA, capable d'induire notamment la relaxation des cellules musculaires lisses [2]. D'autre part, la PGI<sub>2</sub> est également capable d'activer différents canaux dépendants de l'ATP tels que les canaux potassique dépendant du calcium à large conductance, les canaux potassiques dépendants de l'ATP [29]. Par ces effets sur les plaquettes et sur le tonus vasculaire, la PGI<sub>2</sub> est un puissant facteur anti-thrombotique. En revanche dans certains cas, la prostacycline peut avoir des effets vasoconstricteurs [42].



**Figure 3** : Métabolisme de l'acide arachidonique en prostanoides spécifiques

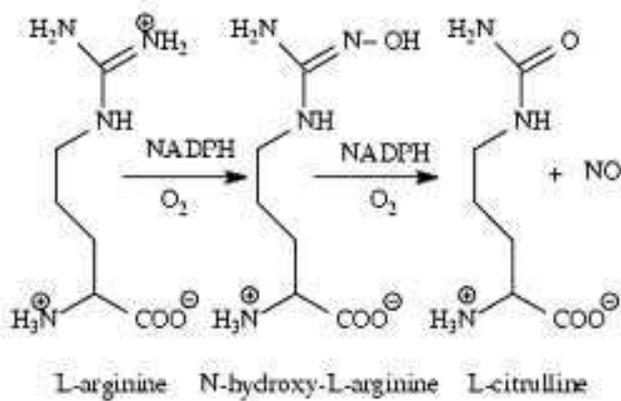
### I.3.2- Le monoxyde d'azote

Le NO est connu depuis la fin des années 1970 comme l'un des ligands capables d'activer la guanylate cyclase soluble et responsable de la relaxation des muscles lisses vasculaires [58]. Il n'a pu être considéré comme un vasodilatateur endogène que quelques années plus tard, suite à la découverte par **Furchgott** et **Zawadzki** du rôle de l'endothélium dans la relaxation du muscle vasculaire par le facteur relaxant dérivé de l'endothélium (Endothélium Derived Relaxing Factor), EDRF [38]. En 1986 **Furchgott** et **Ignarro** notaient que le NO et l'EDRF relaxaient le muscle lisse de façon identique [94]. Ils proposent que l'EDFR puisse être le NO ou le composé labile libérant du NO [84].

#### I.3.2.1- Biosynthèse du NO

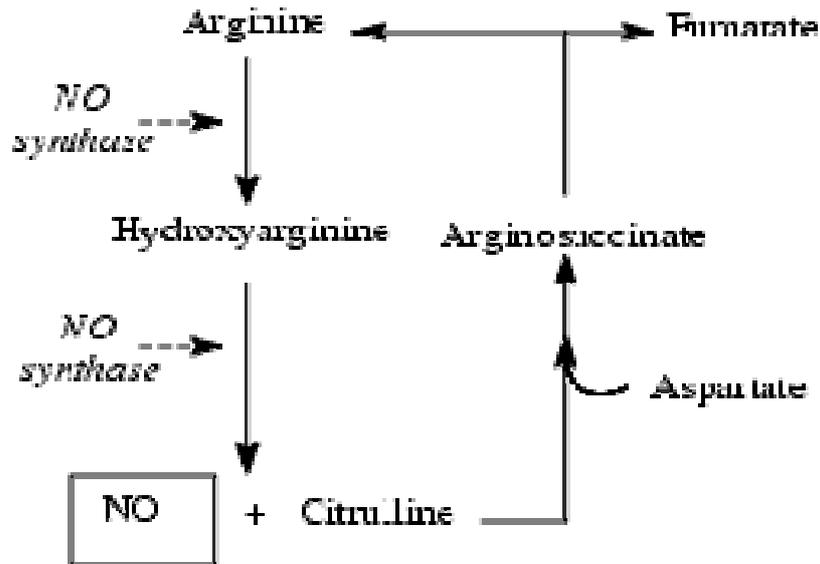
Le NO est une molécule biatomique gazeuse non chargée. Le NO est un radical libre car une de ses orbitales externes contient un électron non apparié. Sa synthèse s'effectue à partir de la L-arginine grâce à la NO synthase (NOS) [85]. En présence de NADPH (Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide-Phosphate)

comme donneur d'électron, qui est transmis via le couple FAD (Flavine-Adénine-Dinucléotide) et FMN (Flavine-Mono nucléotide) au fer de l'hème en présence tétrahydrobioptérine (BH4) et d'oxygène. La NOS transforme la L-arginine en hydroxarginine qui, peut être libéré du site actif de l'enzyme et exercer des effets autocrines et paracrines, mais qui après réduction est transformée en NO selon la réaction suivante :



**Figure 4 :** Biosynthèse du NO à partir de la L-arginine

La citrulline en présence de l'arginosuccinate synthétase et d'aspartate est transformée en arginosuccinate, puis en fumarate et L-arginine. La L-arginine provient ainsi d'un renouvellement et d'un apport d'oxygène alimentaire.



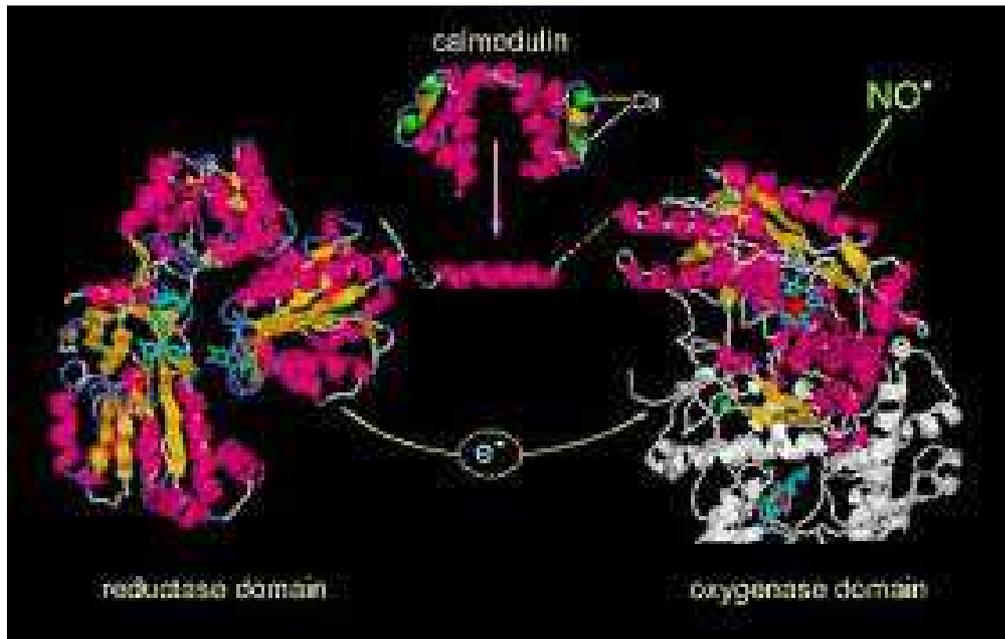
**Figure 5** : Biosynthèse du NO et régénération de la L-arginine

### I.3.2.2- Les NOS

Les NOSs sont des enzymes contenant un groupement hème. Il existe trois isoformes des NOSs.

- La NOS endothéliale (eNOS ou de type III)
- La NOS neuronale (nNOS ou de type I)
- La NOS inducible (iNOS ou de type II)

Les isoformes sont codées par trois gènes différents et possèdent entre elles environ 53% d'homologie [79] : Une activité oxygénase dans la partie N-terminale, une activité réductase dans la partie C-terminale et entre les domaines un site de liaison de la calmoduline [45, 4]. Le domaine d'activité oxygénase contient les sites de liaison de l'hème, de la L-arginine et de BH<sub>4</sub>. Le domaine d'activité réductase va contenir les sites de liaison de la Nicotinamide-Adénine-Phosphate sous forme réduite (NADPH) et des cofacteurs flavoniques : La flavine adénine dinucléotide (FAD) et la flavine mononucléotide (FMN).



**Figure 6 :** Représentation schématique de la NOS

### a- La NOS endothéliale

La eNOS est une protéine de masse moléculaire 134KDa. Elle est exprimée principalement dans les cellules endothéliales vasculaires et les plaquettes ainsi que dans certaines populations de neurones et dans l'épithélium respiratoire [73]. C'est aussi l'isoforme la plus exprimée dans le cœur en condition physiologique, au niveau de l'endothélium endocardique et des cardiomyocytes [76]. Cette isoforme présente une régulation de son activité catalytique par le complexe  $Ca^{2+}/CaM$  ainsi que par son état de phosphorylation/déphosphorylation [33]. L'activité enzymatique de la eNOS peut être modulée au niveau de son activité et de son expression [97] par des médiateurs circulants [9], les forces de cisaillements, les agonistes variés (sérotonine, adénine, ADP/ATP, l'histamine, thrombine)

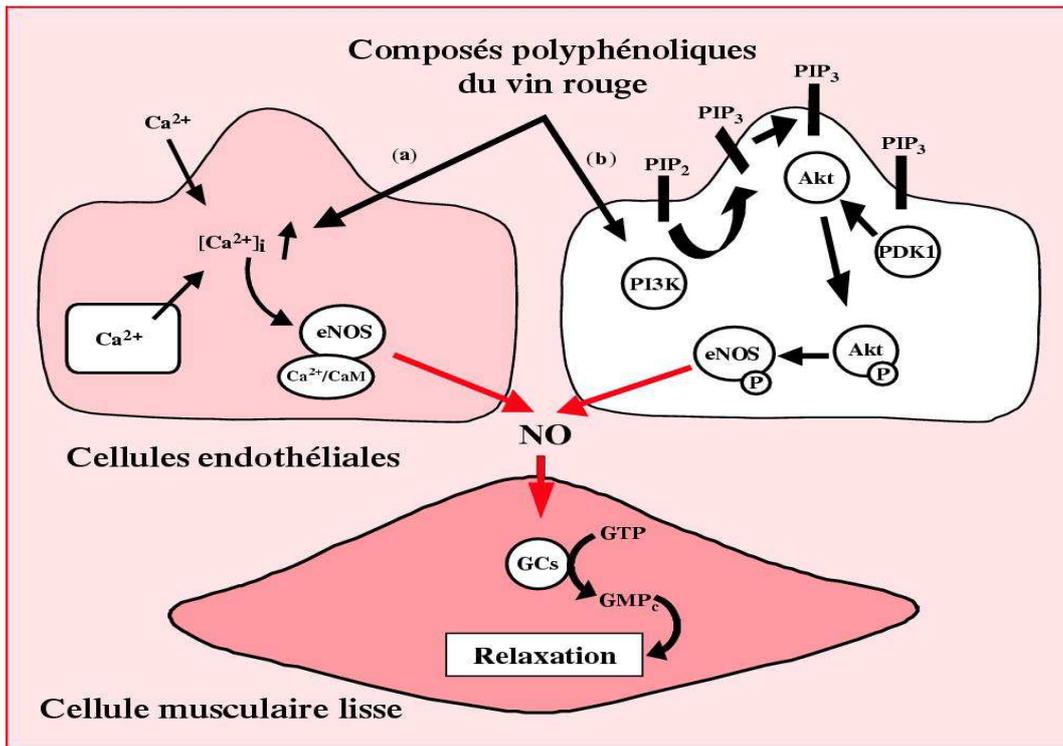
#### • Activation de la eNOS par le calcium

L'activation de la eNOS implique plusieurs voies de signalisation et une translocation vers l'appareil de golgi [32]. Dans la cellule endothéliale au repos

la NOS est liée à la caveoline. A basse concentration cytosolique de  $\text{Ca}^{2+}$ , la eNOS est liée à la protéine HSP90 (heat shock protéine90) ce qui a pour conséquence une augmentation de l'affinité de l'enzyme pour le complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /CAM et favorise donc la dissociation de la caveoline à la eNOS. Lorsque les cellules endothéliales sont activées par un stimulus externe, l'augmentation consécutive de la concentration cytosolique de  $\text{Ca}^{2+}$  va entraîner de par la liaison du  $\text{Ca}^{2+}$  au complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /CAM, la dissociation de la eNOS de la caveoline. L'association avec HSP90 permettant ensuite une phosphorylation de la eNOS par des kinases dont la nature va varier en fonction de la nature du stimulus [32] [100]. L'enzyme ainsi activé se localiserait ensuite au niveau de l'appareil de golgi [104], ou elle est capable de produire du NO [35].

- **Activation de la eNOS indépendante du calcium**

Bien que l'activité de la eNOS soit couplée à une augmentation du niveau de  $\text{Ca}^{2+}$ , son activation passe ainsi par des mécanismes de phosphorylation et déphosphorylation [32]. **Busse** et **Fleming** ont montré que les forces de cisaillement exercées par le flux sanguin activent la eNOS indépendant de l'augmentation du calcium. Cette activation est liée à la phosphorylation de résidus serine par la voie  $\text{PI}_3$ kinase/Akt [32, 21] mais peut être aussi induite par divers inhibiteurs de tyrosine kinases ou de serine phosphatase [31]. L'activation de cette voie indépendamment du calcium peut être stimulée par le VEGF ou les œstrogènes [21].



**Figure 7** : voie de synthèse du NO

### I.3.2.3- Les rôles physiologiques du NO d'origine endothéliale

Le NO d'origine endothéliale exerce localement des effets multiples. Il peut diffuser vers les couches cellulaires sous-jacentes. Le NO inhibe le tonus vasculaire, la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses ainsi que la synthèse des protéines de la matrice extracellulaire [98]. Le NO peut aussi diffuser vers le lumen du vaisseau sanguin où il contribue au maintien de la fluidité du sang. Le NO inhibe l'adhésion des plaquettes sanguines et des leucocytes aux cellules endothéliales. De plus, il prévient l'agrégation plaquettaire et facilite la dissolution d'agrégats plaquettaires. Le NO exerce vraisemblablement son rôle régulateur sur l'hémostase uniquement à l'interface de la surface liminale des cellules endothéliales et du sang, car il est rapidement capté par l'hémoglobine érythrocytes et est inactivé par les radicaux oxygénés tels que les anions super oxydes. Le NO peut également affecter l'activité du système fibrinolytique en régulant la libération de l'activateur du plasminogène (t-PA) et de son inhibiteur le PAI-1, mais aussi inhiber l'expression de divers

gènes pro-athérosclérotiques comme le monoxyde chémoattractant protéine-1 (MCP-1) et le facteur tissulaire.

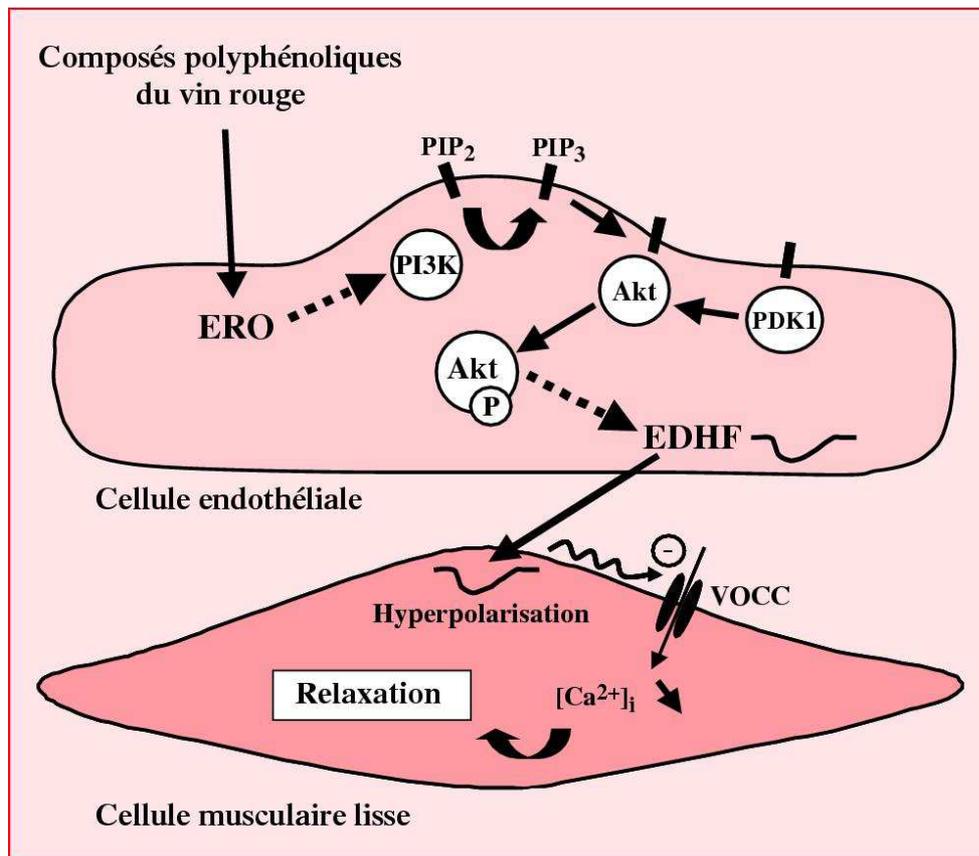
#### **I.4- Le Facteur hyperpolarisant endothélial**

Le troisième facteur intervenant dans le contrôle du tonus vasculaire est le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium ou Endothélium-Derived hyperpolarizing Factor, EDHF. La formation d'EDHF comme celle du NO et de la PGI<sub>2</sub> a été décrite comme étant dépendante du calcium et pouvant être induite soit par l'activation des récepteurs couplés aux protéines G par des agonistes tels que l'acétylcholine, la bradykinine et la substance P, soit par des stimuli indépendants de l'activation des récepteurs tels que l'ionophore calcique A<sub>23187</sub>, la thapsigargine ou l'acide cyclopiazonique [70]. Il est admis que quelle que soit sa nature le phénomène EDHF prend naissance avec une hyperpolarisation résultant de l'activation des canaux potassiques calcium dépendants de faible et de moyenne conductance (SKca IKca) localisés au niveau des cellules endothéliales. Ces canaux sont activés par une augmentation du calcium intracellulaire stimulée par les agonistes vasculaires [41].

##### **I.4.1- Mécanisme d'action et hypothèse quant à la nature du EDHF.**

La nature chimique du EDHF suscite actuellement encore de nombreuses interrogations et semble être variable d'un lit vasculaire à l'autre. L'hyperpolarisation endothéliale est un pré-requis pour l'hyperpolarisation et la relaxation des cellules musculaires lisses sous-jacentes dans la signalisation d'EDHF [23]. La transmission de l'hyperpolarisation entre les deux types cellulaires implique vraisemblablement soit les ions K<sup>+</sup> issus de l'influx potassique endothélial, K<sup>+</sup> pouvant activer à la fois la pompe Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup>ATP ase et les canaux potassiques rectifiant entrant des cellules musculaires lisses, soit des jonctions gap myo-endothéliales composées de connexines permettant la transmission de l'hyperpolarisation des cellules endothéliales aux cellules

musculaires lisses [115]. Cette hyperpolarisation a pour principal effet d'empêcher l'activation des canaux calciques, dépendants du potentiel des cellules musculaires lisses vasculaires, entraînant une diminution de la concentration cytosolique en calcium libre et la relaxation [15].



**Figure 8** : Mécanisme d'action du EDHF

Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la nature du EDHF.

•→ Les métabolites des cytochromes P<sub>450</sub> mono-oxygénases :

Plusieurs auteurs ont suggéré que par les réponses attribuées à l'EDHF, impliquaient les acides époxycyclosatriénoïques, les EETs [29]. Ces derniers auraient pour cible la cellule musculaire lisse et entraîneraient son hyperpolarisation en augmentant la probabilité d'ouverture des canaux potassiques, K<sub>ca</sub> de ces cellules [36]. Il semble cependant que l'inhibition du

cytochrome P<sub>450</sub> n'affecte pas les relaxations médiées par l'EDHF dans l'artère mésentérique et l'artère hépatique de rat.

•→ Les jonctions-gap myo-endothéliales :

L'hyperpolarisation membranaire peut être transmise aux cellules musculaires lisses par l'intermédiaire des jonctions-gap myo-endothéliales. Les cellules endothéliales ainsi que les cellules musculaires lisses sont couplées entre elles par des jonctions-gap impliquant divers connexines. Le nombre de ces jonctions est inversement proportionnel au calibre des vaisseaux, ce qui contribue en partie à expliquer l'importance de ce type d'EDHF dans les vaisseaux de faible calibre [94]. Ces jonctions permettent vraiment la communication des cellules entre elles, le calcium par exemple peut ainsi diffuser d'une cellule à l'autre [22]. Dans certaines cellules comme l'artère mésentérique de rat, des inhibiteurs de jonctions-gap inhibent les réponses attribuées à l'EDHF [114].

•→ Les ions potassium (K<sup>+</sup>)

En effet à faible concentration dans l'espace intercellulaire, les ions potassium provenant des courants K<sup>+</sup> par les canaux potassiques calcium dépendant endothéliaux vont activer à la fois le Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase et les canaux potassique rectifiant dans le sens entrant des cellules musculaires lisses [89], entraînant ainsi une hyperpolarisation des cellules musculaires lisses [25]. La contribution des potassiums dans la relaxation médiée par l'EDHF a été démontré dans de nombreux vaisseaux, incluant ceux de l'homme [26].

•→ Les peroxydes d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Cette hypothèse est née de l'observation que dans certains vaisseaux sanguins, les relaxations non-NO non-PGI<sub>2</sub> induites par des agonistes ou par flux, étaient partiellement inhibées par la catalase et que les relaxations induisent une production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>[101]. La catalase n'inhibe pas dans toutes les artères les

relaxations non-NO et non-PG<sub>12</sub> dépendante [12] et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'induit pas la relaxation ou l'hyperpolarisation des cellules musculaires lisses dans toutes les artères. Ainsi la nature d'EDHF varie bien en fonction des lits vasculaires et des espèces étudiées [41].

•→ Le nitroxyl (HNO)

Il a été identifié comme un EDHF par **Andrews** et al (2009). Il est responsable des relaxations et des hyperpolarisations endothélium- dépendantes dans les artères mésentériques de souris et de rats. Celles-ci sont inhibées en présence de L-cystéine, un piègeur de HNO [55].

#### **I.4.2-Importance du EDHF**

La voie de signalisation EDHF joue donc un rôle physiologique crucial en promouvant la vasodilatation des artères et artérioles [28]. Certes sa nature reste controversée mais il apparaît comme étant un vasodilatateur majoritaire dans les artères coronaires et les artères de résistance [15], alors que sa participation est faible dans les vaisseaux de conductance. Les mécanismes vasodilatateurs varient en fonction du lit vasculaire et en fonction du degré d'implication des différents facteurs endothéliaux dans un même lit vasculaire. Dans l'artère mésentérique de rat par exemple, **Shimokawa et al. (1996)** ont mis en évidence l'augmentation de l'existence du facteur EDHF (par rapport à NO) dans les relaxations endothélium-dépendants lorsque que la taille du vaisseau sanguin est diminuée. **Sadow et Hill (2000)** ont montré par microscopie électronique, un nombre de jonctions gap myo-endothéliales par cellules musculaires lisses dans l'artère mésentérique distal de rat que dans la proximale. La corrélation entre l'incidence des jonctions gap myo-endothéliales et l'importance du EDHF au lieu de NO pour les réponses vasodilatateurs suggérait que les jonctions gap myo-endothéliales permettent le couplage avec l'activité du EDHF, couplage électrique ou le transfert de petites molécules [93]. Ces études montrent une

réponse graduelle de la concentration du EDHF par rapport au NO qui serait en partie due à l'augmentation des jonctions gap myo-endothéliales.

### **I.5- Les facteurs vasoconstricteurs dérivés de l'endothélium (EDCFs)**

Il existe une grande hétérogénéité dans la formation d'EDCFs (Endothélium-Derived Contracting Factors) dépendants des stimuli, des lits vasculaires, de l'âge et des modèles animaux expérimentaux utilisés. Parmi les facteurs contracturant produit par les cellules endothéliales, nous citerons en particulier les dérivés de l'acide arachidonique : les endoperoxydes, le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) la prostaglandine H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), et la prostacycline (PGI<sub>2</sub>), mais aussi les anions super oxydes CO<sub>2</sub><sup>•</sup>, l'endothéline1 (ET1) et l'angiotensine II [116].

#### **I.5.1- Les dérivés vasoconstricteurs de l'acide arachidonique**

##### **• Endoperoxydes et prostaglandines**

L'acide arachidonique est transformé par la Cox-1 en PGG<sub>2</sub>, un endoperoxyde cyclique instable et est alors convertie en PGH<sub>2</sub> par une réaction peroxydase [50], le précurseur des prostanoides tel que le thromboxane A<sub>2</sub>[74]. Les endoperoxydes eux-mêmes ont la capacité d'induire des contractions endothélium-dépendantes. La PGH<sub>2</sub> et TXA<sub>2</sub> libérées par les cellules endothéliales peuvent se lier aux récepteurs endoperoxyde / thromboxane TP des cellules musculaires lisses [42], l'activation de ce récepteur conduit à la production d'inositol triphosphates (IP<sub>3</sub>) et de diacétyl glycérol (DAG) via la phospholipase C (PLC) ou à une inhibition de la production et d'AMPc via l'adénylate cyclase. La contraction induite par la PGH<sub>2</sub> / TXA<sub>2</sub> fait donc appel à une augmentation du [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. Dans les conductions physiologiques, l'influence de petites quantités de prostanoides vasoconstricteurs libérés par les cellules endothéliales est masquée par la production de PGI<sub>2</sub>, de NO et d'EDHF [72].

## • La prostacycline

**LEVY et AL. (1980)** ont montré que la prostacycline était capable d'induire des contractions des cellules musculaires lisses par son action sur les récepteurs TP. Au cours des contractions induites par l'acétylcholine, il y a une plus forte libération de prostacycline que de prostaglandine [41] qui ne produit pas une vasodilatation mais une vasoconstriction. Cette contraction peut être de faible importance et transitoire du fait de la faible affinité de la prostacycline pour les récepteurs TP et par sa rapide dégradation en un métabolite inactif, la 6-kéto-PGF<sub>1α</sub> [41]. De plus il semblerait que la prostacycline et les endoperoxydes soient les EDCFs impliqués dans les contractions induites par l'acétylcholine, mais dans le cas d'autres agonistes (ionophore calcique A<sub>23187</sub>, ADP, endothéline 1, trombine ou nicotine) se serait plutôt le thromboxane A<sub>2</sub> qui aurait le rôle d'EDCF.

### I.5.2- L'endothéline1(ET1)

La stimulation des cellules endothéliales par la thrombine, l'interleukine 1 et le facteur de croissance TGF $\beta$ <sub>1</sub>, l'adrénaline, l'ionophore calcique A<sub>23187</sub>, la vasopressine ou encore les catécholamines [99] peut conduire à la synthèse de l'ET1 à partir de la prohormone big-endothéline, grâce à l'enzyme de conversion de l'endothéline. L'endothéline est un puissant peptide vasoconstricteur qui permet le maintien du tonus vasculaire basal. Il s'agit d'une famille de peptides de trois structures différentes (ET<sub>1</sub>, ET<sub>2</sub>, ET<sub>3</sub>) [61]. La contraction fait suite à la liaison de l'ET<sub>1</sub> à ses récepteurs ET<sub>A</sub>, ET<sub>B</sub> présents sur les cellules musculaires lisses. Ces récepteurs sont couplés à la protéine G hétérotrimérique et leur activation conduit à l'augmentation, de la concentration du calcium intra cellulaire par la libération des stocks intracellulaires et l'influx de Ca<sup>2+</sup> extracellulaire mais également à l'augmentation de la sensibilité de l'appareil contractile du Ca<sup>2+</sup>[92]. Une fois libérée par l'endothélium, l'ET 1 peut

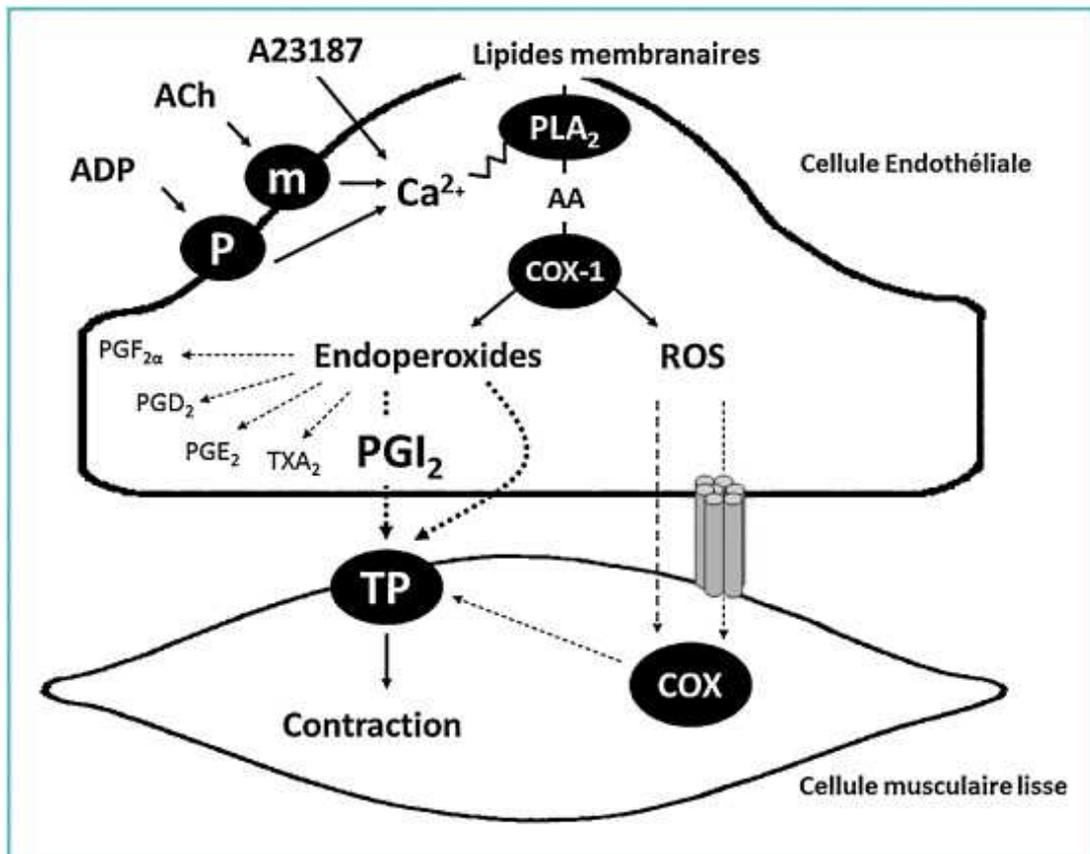
également agir sur les récepteurs ET<sub>B</sub> endothéliaux et conduire ainsi à une vasodilatation artérielle via la production de NO, PGI<sub>2</sub> et EDHF. Enfin l'ET 1 peut conduire à la libération de TXA<sub>2</sub> par les cellules endothéliales [83].

### **I.5.3- Les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS)**

Les cellules endothéliales peuvent produire différents types d'espèces réactives dérivées de l'oxygène, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub> en réponse aux forces de cisaillement à des agonistes endothéliaux telle que la bradykinine ou lors de l'activation des Cox<sub>s</sub>. Les O<sub>2</sub><sup>•</sup> peuvent être produits par différentes enzymes endothéliales telles que la xanthine oxydase, la NADPH oxydase, les Cox<sub>s</sub> [107]. L'intervention des O<sub>2</sub> avec le NO conduit à une diminution des effets vasodilatateurs du NO via la formation de peroxynitrites [91] et à une perte de sa biodisponibilité. Les O<sub>2</sub><sup>•</sup> peuvent également faciliter la mobilisation du Ca<sup>2+</sup> cytosolique dans la cellule musculaire lisse vasculaire en inhibant la dégradation de l'IP<sub>3</sub>, ou encore promouvoir la sensibilisation des éléments contractiles au Ca<sup>2+</sup> via la PKC. L'augmentation du stress oxydant est ainsi associée à une diminution des relaxations endothélium-dépendantes et les antioxydants sont capables d'améliorer ses réponses[10].

### **I.5.4- L'angiotensine II**

La cellule endothéliale présente à sa surface l'enzyme de conversion qui permet la conversion de l'angiotensine II. La plupart des effets pharmacologiques observés avec l'angiotensine II sont médiés par les récepteurs AT<sub>1</sub>.



**Figure 9** : Les facteurs vasoconstricteurs endothéliaux

## I.6- La dysfonctionnement endothéliale

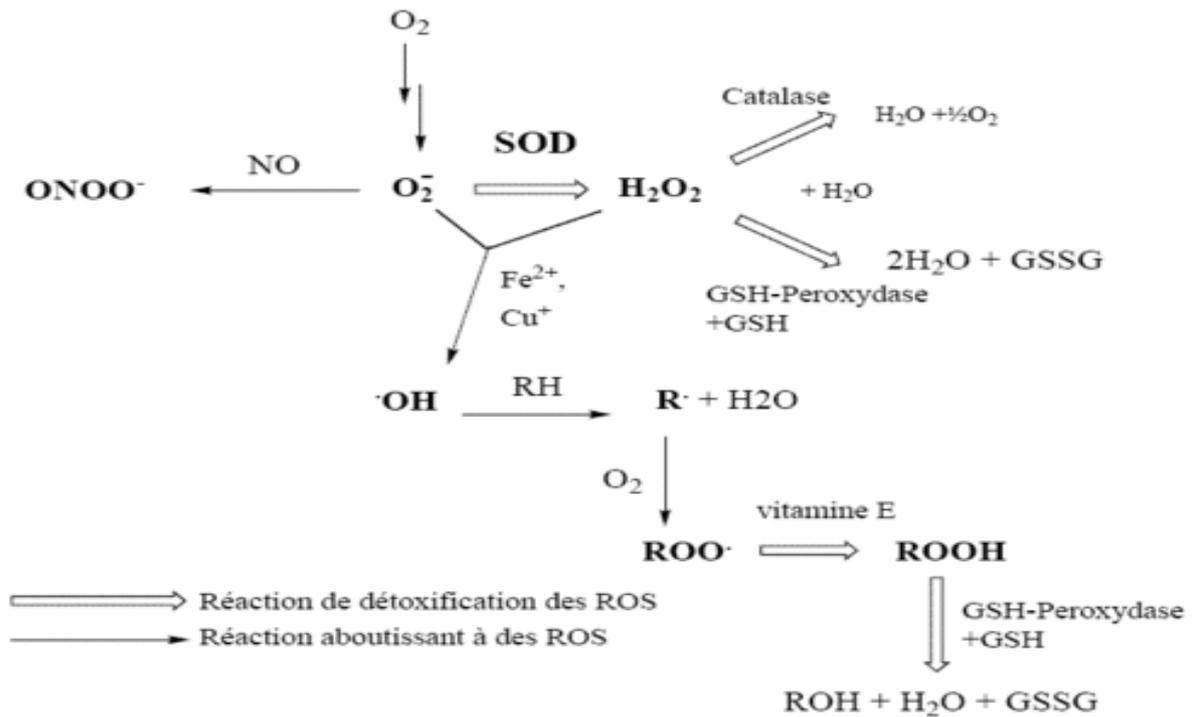
### I.6.1- Définition et causes

Nous avons vu jusqu'à présent que l'endothélium joue un rôle tout à fait primordial dans le maintien du tonus et de l'intégrité vasculaire et notamment par la sécrétion des médiateurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs. Dans la plupart des pathologies vasculaires, cet équilibre va être rompu par atténuation de la fonction vasodilatatrice de l'endothélium [106]. On parle alors de dysfonctionnement endothéliale. Elle peut se manifester suite à une diminution de sécrétion des facteurs vasodilatateurs et ou par l'augmentation des facteurs vasoconstricteurs au sein de l'endothélium. Elle peut aussi être la conséquence d'une diminution de la sensibilité des cellules musculaires pour les facteurs comme le NO, la prostacycline ou l'EDHF. L'augmentation des espèces réactives de l'oxygène au niveau des cellules endothéliales et musculaires lisses

est très certainement une cause majeure de dysfonction endothéliale mais ne saurait expliquer à elle seul la dysfonction endothéliale.

Cette dysfonction endothéliale est une étape précoce dans les pathologies installées comme l'athérosclérose l'insuffisance cardiaque [16]. Nous savons que les mécanismes du dysfonctionnement endothélial sont complexes et que l'étiologie exacte de ce processus est toujours au cœur de la recherche actuelle, mais le stress oxydant en serait le dénominateur commun [43]. Le stress oxydant est caractérisé par la formation accrue de ROS, principalement des radicaux libres oxygénés. Ces principaux radicaux sont l'anion super-oxyde ( $O_2^-$ ) et le radical hydroxyle (OH). D'autres ROS tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ; le peroxynitrite (ONOO) le dioxyde d'azote ( $NO_2$ ) et l'acide hypochloreux (HOCL) ne sont pas considérés presque comme des radicaux libres mais ont des pouvoirs oxydants contribuant ainsi au stress oxydatif. Dans une situation physiologique l'anion super-oxyde peut être formé par différentes enzymes telles que la NADPH oxydase, la xanthine oxydase ; les Coxs et lipoxigénases, les NOSs, le cytochrome  $P_{450}$  et les enzymes de la chaîne mitochondriale [17], à des concentrations qui normalement devraient être réduites par les super-oxydes dismutases (SOD) [24]. Les SOD représentent un mécanisme de défense important vis-à-vis des  $O_2^{\bullet -}$ . Elles dismutent les anions super-oxydes en  $H_2O_2$  qui lui-même peut être dégradé en eau et oxygène par la catalase ou glutathion peroxydase [7].

Dans les conditions physiologiques normales, il existe une balance en production et dégradation des ROS.



**Figure 10** : Balance entre production et dégradation des ROS

En revanche, lorsqu'un dysfonctionnement apparaît entre la formation des ROS et la capacité antioxydant de défense, il découle une augmentation de la biodisponibilité de ces ROS et le stress oxydant s'installe à l'origine de nombreuses pathologies cardiovasculaires [44].

### I.6.2-Conséquences

Les ROS sont capables de modifier la balance de relaxation / contraction vers la concentration jouant un rôle primordiale dans les pathologies vasculaires [43]. Nous avons déjà vu que les  $\text{O}_2^-$  diminuent la biodisponibilité du NO en formant les peroxynitrites mais ils ont aussi une action directe sur la GCs en inhibant son activité et en diminuant son expression [91]. Les peroxydes sont eux-mêmes capables, à forte concentration, inhiber la GCs, d'inactiver la synthèse de la  $\text{PGI}_2$  par nitration de la prostacycline synthase, d'inhiber la SOD [88] et de découpler la NO synthase qui va alors former des  $\text{O}_2^-$  au lieu du NO. Compte

tenu des effets multiples du NO l'altération du fonctionnement de la voie du NO va conduire à :

- L'apparition d'une surface pro-thrombotique, puisque le NO n'exerce plus son action antiagrégant plaquettaire et inhibe plus l'expression de la E-selectine la P-selectine, ICAM-1 ou VCAM-1, intervenant dans l'adhésion des plaquettes et des leucocytes [17, 90].
- D'où l'augmentation de la perméabilité de l'endothélium facilitant ainsi l'infiltration, le dépôt et l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) et donnant l'accès à la paroi vasculaire par les monocytes. Des lymphocytes sont également recrutés et pouvant entraîner des effets importants sur le devenir de plaques précoces, ainsi que sur la pathogenèse des complications des plaques d'athérosclérose [17].
- La prolifération des cellules musculaires lisses conduisant à l'épaississement de la paroi vasculaire et au développement de pathologies vasculaires occlusives telle que l'athérosclérose.
- L'altération des relaxations endothélium-dépendantes observées dans les pathologies vasculaires telles que l'hypertension artérielle [53], l'athérosclérose [52], l'hypercholestérolémie [27], le diabète ou des évolutions physiologiques tel que le vieillissement vasculaire [3].

La dysfonction endothéliale, caractérisée par une diminution significative des relaxations endothélium-dépendantes due notamment à la réduction de la biodisponibilité du NO, apparait très précocement dans le développement de la plupart des pathologies cardiovasculaires comme l'hypertension artérielle [72].

## CHAPITRE II : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES PLANTES A VISEECARDIOVASCULAIRE

---

### II.1- Hibiscus sabdariffa



**Figure 11** : *Calices d'Hibiscus sabdariffa*

#### **a- Classification**

Règne : Plantea

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliospida

Ordre : Malvales

Famille : Malvaceae

Genre : Hibiscus

*Hibiscus sabdariffa* (ou Oseille de Guinée, Roselle) est une plante herbacée de la famille des Malvacées qui pousse en zone tropicale, notamment en Afrique de l'ouest (Sénégal, Burkina Faso, Bénin, Togo, Niger, sud du Mali, nord de la Côte d'Ivoire), au Botswana, et au Congo. Cette plante est aussi connue en Égypte, en Centrafrique (appelé karakandji) et au Mexique où on l'appelle *Flor de Jamaica*[51, 1].

## **b- Composition chimique**

Les calices d'*Hibiscussabdariffa* principale partie comestible de la plante ont une composition très variable.

Les calices d'*Hibiscussabdariffa* sont riches en acide gras organiques et en polyphénols. Les acides succinique, oxalique, tartrique et malique sont présents. Les acides succinique et oxalique constituent les deux acides organiques majoritaires d'*Hibiscussabdariffa*[1]. A eux deux ils représentent 76% des acides organiques totaux. Les sucres présents dans les calices sont constitués de glucose, fructose et saccharose. Le glucose avec près de 40% des sucres totaux est le sucre majoritaire [70].

La présence d'oligoéléments tels que le cuivre et chrome ont été constaté alors que d'autres ont été mise en évidence que dans certaines origines. C'est le cas par exemple du plomb et du nickel détecté dans les seuls calices des cultures du Mali [34].

La présence de  $\beta$ -carotène et de lycopène à des concentrations respectives de  $1,9\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  et  $164,3\mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de matière fraîche a été signalée dans les calices d'*Hibiscussabdariffa* [110]. Les calices contiendraient également des mucilages et des pectines, ainsi que tous les acides aminés essentiels.

Une des caractéristiques d'*Hibiscussabdariffa* est sa richesse en anthocyanes (calices rouges) dont la teneur peut atteindre  $1,5\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de calices secs [34].

Les calices d'*Hibiscussabdariffa* contiennent également d'autres composés phénoliques notamment de l'acide protocatéchique [20].

### **c- Utilisations**

Hibiscus est valorisé à des fins alimentaires et médicinales.

*Hibiscus sabdariffa* (également appelé « oseille de Guinée »), originaire de l'Afrique de l'Ouest, produit des pousses et des jeunes feuilles qui se mangent crues cuits comme des légumes. Ses fleurs rouges, séchées puis infusées sont utilisées pour des sauces et confitures ou pour la préparation du « bissap », infusion et sirop produisant une boisson rouge bue fraîche et très sucrée (parfois préparés avec de la menthe) en Afrique de l'Ouest notamment au Sénégal et en Mauritanie où une de ses applications en vogue est devenue « Coc Afrique » [67]. C'est une boisson riche en acide ascorbique. En Afrique de l'Ouest au moyen Orient cette boisson est appelée carcadé (karkadé).

L'infusion d'*Hibiscussabdariffa* pourrait faire baisser la pression artérielle, diminuant ainsi le risque de maladie cardiovasculaire [47].

Les études phytochimiques ont montré la présence d'acide organique, d'anthocyanosides responsables de la couleur rouge de l'infusion, de flavonoïdes, de mucilages et de pectines. Ces composants expliquent l'action anti-inflammatoire (ces capacités anti-inflammatoire ont été évaluées par une équipe de chercheur taiwanais en 2009), adoucissante, antiasthénique, antispasmodique et légèrement laxative d'*Hibiscussabdariffa*. On l'utilise pour apaiser l'inflammation des voies respiratoires, les spasmes gastro-intestinaux et lutter contre la fatigue [75].

Elle a des vertus amincissantes et tonifiantes. Pour soulager et espacer les crises, les malades de Crohn peuvent essayer les tisanes d'Hibiscus. Considéré comme un régénérant de l'organisme, l'hibiscus ou encore karkadé est diurétique, bénéfique pour le foie et l'hypertension. Il offre des qualités revitalisantes et de drainage. Reconnu pour faciliter la digestion, l'hibiscus est aussi un tonifiant grâce à la vitamine C qu'il contient [47].

En externe, les compresses imbibées d'infusion réduisent les œdèmes, les eczémas suintants, les dermatoses et les abcès.

## **II.2-*Allium sativum***

L'ail est une petite plante vivace à feuilles linéaires et engainantes probablement originaire de Sibérie mais cultivé depuis l'antiquité au Moyen-Orient, en Egypte en Grèce ainsi qu'en chine. Il s'adapte à tous les climats mais donne les plus belles récoltes dans les paystempérés [113].



**Figure 12 :** *gousse d'Allium sativum*

## **a- Classification**

Règne : Plantea

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsiada

Ordre : Liliales

Famille : Liliaceae

Genre : Allium

## **b- Composition chimique**

La gousse d'ail renferme des polysaccharides de réserves (des fructanes), des acides aminés, des enzymes (aliinase, peroxyde), du sélénium et surtout des composés soufrés responsables de la majorité des propriétés pharmacologiques. Dans l'ail frais le constituant soufré principal est l'aliine (sans odeur) [113].

Elle renferme également de l'eau, des glucides, des protéines, des fibres, des prostaglandines, des acides phénols, des phytostéroïdes, des polyphénols et des flavonoïdes. Les vitamines B1, B2, B3, B5, B6, C, et A sont présents. Les minéraux tels que le potassium, le soufre, le phosphore, le calcium, le magnésium, le sodium, le chlore sont aussi présents. On trouve également les oligoéléments tels le Fer, le Zinc, le Manganèse, le Bore, le Cuivre, le Nickel, le Molybdène, l'Iode et le Sélénium [67].

### **c- Utilisations**

L'ail est très utilisé dans l'alimentation du fait de sa richesse en vitamines A, B1, B2, et C. Il contient également divers antibiotiques naturels dont l'ajoéne ainsi que des agents anticholestérolémiants [67].

Chez l'animal la consommation d'ail fait chuter de façon significative le taux de cholestérol et des triglycérides. Chez l'homme, même si les protocoles expérimentaux sont parfois critiqués, on observe en général une diminution de 9 à 12% du taux de cholestérol sanguin au bout d'un mois de traitement (600 à 900mg de poudre d'ail standardisée à 1,3% d'aliine par jour) et surtout au bout de quatre mois de prise régulière. On observe une modification favorable du rapport LDL/HDL (lipoprotéine qui transporte le cholestérol dans le sang), avec augmentation des bonnes lipoprotéines(HDL) et diminution des autres. Probablement les plaques d'athéromes semblent se réduire en surface (10 à 20%) et en épaisseur (3%). Néanmoins cette chute du cholestérol sanguin ne s'observe que dans les hypercholestérolémies modérées et pas dans les cas de maladies familiales et congénitales. L'effet sur la pression artérielle est faible à modéré : 5 à 7% de diminution [113].

Les extraits d'ail sont utilisés communément dans le traitement du rhume [78].

Il pourrait avoir une efficacité pour réduire le risque d'hypertension artérielle [102].

L'ail possède d'autres propriétés démontrées

- Fibrinolytique, anti-agrégant plaquettaire
- Immunostimulante
- Antibiotique
- Et protège semble-t-il de certains cancers digestifs [75].

### II.3-Anacardium occidentale

*Anacardium occidentale* est un arbre de la famille des Anacardiaceae. Son nom anglais dérive du nom portugais pour le fruit de l'anacardier, caju (prononciation portugaise: [kɐʒu]), qui lui-même est dérivé du nom indigène Tupi, Acaju. Originaire de nord-est du Brésil, il est maintenant largement cultivé dans les régions tropicales pour ses pommes de cajou et de noix.



Figure 13 : *Fruit d'Anacardium occidentale*



Figure 14 : Ecorces d'Anacardium occidentale

## a- Classification

Règne : Plantea

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliospida

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiaceae

Genre : Allium

## b- Composition chimique

La pomme contient de l'eau à 87,9%, de protéines à 0,9%, de matières grâces à 0,1%, de glucide à 11,6%, de cendres à 0,2%, de Ca à 0,01%, de P à 0,01%, de Fe à 0,02%, de vitamine C à 0,26%.

La couleur foncée de l'écrou est due à un complexe de Fer-polyphénols. L'huile contient environ 90% d'acide anacardique et 1% d'anacardol. **Murthy** et **Yadawa** ont signalé que la teneur en huile de la coquille varie de 16,6 à 32,9% de noyau, de 34,5 à 46,8% de sucres réducteurs, de 0,9 à 3,2% de sucres non réducteurs, de 1,3 à 5,8% de sucres totaux, de 4,7 à 11,2%. La gomme contient de l'arabinose, galactose, rhamnose et xylose [56].

La valeur nutritionnelle brute par 100 g de noix caju est de 2,314 kJ (553kcal) avec 30,9g de glucides (Amidon 23,49g, Les sucres 5,91g, Les fibres alimentaires 3,3g), 43,85g d'acide gras (- Saturés 7,78 g, Mono-insaturés 23,8 g, Polyinsaturés 7,85 g), Protéines 18.22 g, Eau 5,2 g, La thiamine (B1) Vit. .42 mg (37%), La riboflavine (B2) Vit. .06 mg (5%), La niacine (vit. B3) 1,06 mg (7%), Acide pantothénique (B5) 86 mg (17%), Vitamine B6 0,42 mg Acide folique (vit. B9) 25 mg (6%) (32%), Vitamine C 0,5 mg (1%), Vitamine E 0,9 mg (6%), Calcium 37 mg (4%) [55].

### **c- Utilisations**

De nombreuses parties de la plante sont utilisées : La noix de cajou "pomme", la plus grande maturité, les fruits peuvent être consommés crus, ou conservés en confiture ou friandise. Le jus est effectué dans une boisson (Brésil cajuado) ou fermenté dans un vin. Fruits ou les graines de la noix de cajou sont consommées ensemble, torrifiés, décortiqués et salés, en vin de Madère, ou mélangés dans les chocolats.

Le liquide de coquille de noix de cajou, un sous-produit de la transformation de l'anacarde, est surtout composée d'acides anacardique [5] (70%), cardol (18%) et cardanol (5%). Ces acides ont été utilisés efficacement contre les abcès en raison de leur létalité à un large éventail de bactéries Gram-positives. L'écorce est grattée et trempée une nuit ou bouillie comme un anti-diarrhéique. Il donne également une gomme utilisée dans les vernis. Les graines sont réduites en poudres utilisées comme antivenimeux pour les morsures de serpent. L'huile de noix est utilisée localement comme antifongique [49]. En Côte d'Or, l'écorce et les feuilles sont utilisées pour les gencives douloureuses et les maux de dents. Le jus d'écorce, de fruit et de l'huile de noix sont tous les deux dit être les remèdes populaires pour durillons, cors, verrues, les ulcères et cancéreuses, et même éléphantiasis[56].

Les écorces soignent l'ictère et principalement l'hypertension [77].

### **II.4- Balanite aegyptiaca**

Le **dattier du désert**, en *tamasheqtaboghart*, en *bambarazeguene*, encore appelé *savonnier* au Tchad, ou *sump* au Sénégal, est un arbre du genre *Balanites* présent et cultivé notamment en Afrique tropicale. Son nom scientifique est *Balanites aegyptiaca*.

C'est un arbre très épineux, à feuilles caduques, allant jusqu'à 8 mètres de haut, à ramification importante et complexe. Le tronc est bien défini, droit ou légèrement tortueux, à écorce brun-grisâtre, crevassée longitudinalement. Les branches sont nombreuses, très ramifiées, avec des épines droites de 2-7 cm. Les branches secondaires jeunes sont vertes, pubescentes et portent aussi des épines.



**Figure 15** : *Balanites aegyptiaca*

#### **a- Classification**

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : Balanites

## **b- Composition chimique**

La pulpe contient sur la base du poids sec : environ 60 % d'eau pour un rapport pondéral (pulpe/fruit) variant de 52 à 66 % ; 1,2 % de protéines ; 0,4 % de lipides 9,7 % de fer ; 0,8 % de vitamine C ; 3,6 % de matières minérales. Les principales constantes physiques et chimiques de l'huile extraites des amandes sont : une teneur en huile de 67,5 % ; une densité de 0,868g/l ; un indice d'iode de 16,3 ; un indice de saponification de 197,7 mg KOH/g d'huile. L'huile extraite des amandes est constituée principalement de trois acides gras insaturés : linoléique (16,45 %), acide linoléique (57,77 %) et acide oléique (25,76 %)[6].

## **c- Utilisations**

Le dattier du désert a deux usages : alimentaire et médicinal.

Le fruit et les feuilles entrent dans l'alimentation des populations locales. Le fruit, appelé *iboraghan* ou *aboghar* au Mali, est généralement consommé frais par succion, une fois débarrassé de son épicarpe. Son goût est sucré, avec une pointe d'amertume. Cette consommation est proche de celle d'une datte ou d'une friandise. Au Mali, on fait également macérer le fruit pour produire une boisson, l'*asaborad* et l'amande contenue dans le noyau, appelée *tandilba*, est consommée après une longue cuisson[13]. De l'huile alimentaire est également extraite des amandes. Les feuilles sont quant à elles séchées et réduites en poudre utilisables dans différentes sauces[18, 68].

Pour l'aspect médicinal, le liquide obtenu en pressant le fruit est utilisé traditionnellement pour stimuler la production de lait des mères allaitant, et les noix sont utilisées pour traiter des troubles digestifs[68]. L'huile est également utilisée pour soigner des problèmes cutanés.

L'écorce et la racine broyée en poudre ont un effet laxatif et calment les coliques. Des décoctions d'écorce finement broyées sont utilisées contre les maux de ventre, la stérilité, les troubles mentaux, les maux de dents, l'épilepsie, la syphilis et la fièvre jaune.

Les analyses en laboratoire ont confirmé l'effet vermifuge de l'écorce. Les fruits, les feuilles et l'huile sont utilisés en usage externe contre le rhume.

-Détergent : un détergent riche en saponine est tiré des racines, des fruits et des fibres du liber, surtout celles de la base du tronc et des fruits.

-poison à poisson : l'écorce pilée, mélangée avec les liquides restants après la macération des tiges feuillées de *Cissus quadrangularis*, est utilisée comme pesticide par les pêcheurs [39, 64, 105].

## **II.5- Moringa olifeira**

Le Moringa est un petit arbre originaire d'Asie tropicale, naturalisé et cultivé dans de nombreux pays tropicaux. C'est un arbre assez résistant à la sécheresse, facile à cultiver, très commun en Inde, dans tout le sud – est de l'Asie, aux Philippines, en Afrique.

Il est également présent en Amérique du sud [113].



**Figure 16 :** *Moringa oleifera*

### **a- Classification**

Règne : Plantea

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliospida

Ordre : Capparales

Famille : Moringaceae

Genre : Moringa

### **b- Composition chimique**

Toutes les parties végétatives contiennent un hétéroside à saveur piquante qui s'hydrolyse à 100 °C en présence d'eau.

Le feuillage a une teneur très intéressante en :

- Protéines (assimilables à 90%) : 8 à 9% du poids humide, environ 25% du poids sec,
- Vitamine A (presque 2000 microgrammes pour 100g),
- Vitamine C (180 mg pour 100 g) et en vitamine B1 (220 microgrammes pour 100g).

Les feuilles contiennent aussi beaucoup de calcium, de fer et de potassium.

Les analyses poussées sur 100mg de feuilles séchées de MORINGA OLEIFERA révèlent les résultats ci-dessous:

- Eau: 7,5% Matières grasses: 2,3 g
- Calories: 205 kcals. Carbohydate: 38,2 g
- Protéine: 27,1 g Fibres: 19,2 g
- Mg: 368 mg Ca:2003 mg
- P: 204 mg VitB1-Thiamine 2,64 mg
- K: 1324 mg VitB2-Riboflavine
- Cu: 0,57 mg VitB3-Nicotinique acide 8,2 mg
- Fer: 28,2 mg Vit C: décortique acide : 17,3 mg
- S : 870 mg Vit E : Tocophérol acetate : 113 mg
- Oxalique acide : 1,6 mg Argonne (g/16gN) 1,33%
- VitA-B carotènes : 16,3mg Histidine (g/16gN) 0,61 %
- VitB choline Lysine (g/16gN) 1,32 %

Isoleucine (g/16gN) 0,83% Tryptophane (g/16gN) 0,43% Phénylalanine (g/16gN) 1,39% Méthionine (g/16gN) 0,35% Thréonine (g/16gN) 1,19%  
Leucine (g/16gN) 1,95%,Valine (g/16gN) 1,06%.

### **c- Utilisations**

Les feuilles fraîches ou sèches sont un excellent complément alimentaire particulièrement recommandé chez l'enfant pour sa haute teneur en protéines assimilables. Des formules de bouillies infantiles (céréales locales, huile de palme, graines d'arachide, sel iodé et fluoré) ont été mises au point en Afrique contenant 10 à 20 % de poudre de feuilles de Moringa. En Asie les feuilles et les jeunes gousses sont un aliment traditionnel très apprécié (cuisson courte comme des épinards ou des haricots verts).

En médecine traditionnelle presque toutes les parties de l'arbre sont utilisées. Les feuilles légèrement chauffées sont un traitement des fièvres "grippales". Plus longuement cuites, elles sont nutritives, comme nous l'avons vu, et "rafraîchissantes", légèrement antalgiques (douleurs musculaires, rhumatismales).

Le jus des feuilles fraîches, les feuilles froissées ou la racine écrasée sont révulsifs et servent :

- comme sinapismes dans les affections broncho-pulmonaires,
- comme antinévralgiques, écorces et feuilles broyées appliquées sur la tête (migraine, névralgie faciale) ou sur la région douloureuse,
- pour supprimer ou réduire la sécrétion lactée (montée de lait) en friction sur les seins.

Faire infuser les feuilles et boire comme du thé plusieurs fois par jour, ou prendre la poudre une cuillerée deux fois par jour froide ou chaude dans le repas ou autres boissons agissent très efficacement contre les maladies et troubles suivantes:

- Troubles liés à la drépanocytose Les A V C
- Hypertension, hypotension, diabète syphilis, herpes
- Troubles liés au VIH/sida obésité, malnutrition
- Infections des yeux et des oreilles crampes, stress
- Diarrhée, dysenterie, vers intestinaux rhumatisme, goutte
- Rhume, bronchite, vertige, malaises, fatigue Les hépatites A, B,C
- Dégénérescence nerveuse et cellulaire kyste, fibrome, myome

- Tumeurs et cancers divers anémie
- Plaies internes et externes troubles de foie, de reins
- Faiblesse système immunitaire et anémie attaques fongiques
- Palpitations et maladies du cœur ostéoporose
- Inflammation glandulaire maux de tête et gorge [113]

## II.6- Sclerocarya birrea



**Figure 17** : Tronc du sclerocarya birrea



**Figure 18** : *Fruits et feuilles du sclerocarya birrea*

Le **marula** (*Sclerocarya birrea*) (*skleros* = dur, *karya* = noix, en référence au noyau que l'on retrouve à l'intérieur des fruits charnus) est un arbre dioïque de taille moyenne. On le trouve dans les régions boisées du sud de l'Afrique, ainsi que dans la partie sub-sahélienne de l'ouest africain. L'arbre est à simple tronc et développe une cime en forme de large couronne. Il est caractérisé par une écorce chinée grise. L'arbre peut atteindre 18 m de hauteur principalement en basses latitudes et forêts ouvertes.

#### **a- Classification**

Règne : Plantea

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliospida

Ordre : Spindales

Famille : Anacardiaceae

Genre : Sclerocarya

### **b- Composition chimique**

Sclerocarya contient de l'acide oléique (70 % min.), de l'acide palmitique (9 % min.), de l'acide stéarique (5 % min.), l'acide linoléique (4 % min.), de l'acide arachidique (0,3 % min.), de l'acide linoléique (0,1 % min.), des flavonoïdes, des tanins et des vitamines [112].

Les amandes du prunier d'Afrique sont riches en protéines (28-31 %), en huile (56-61 %), en magnésium, en phosphore et en potassium. Parmi les autres composants importants figurent des oligo-éléments et des vitamines comme le fer, le calcium, le cuivre, le zinc, la thiamine et l'acide nicotinique [48].

### **c- Utilisations**

Les amandes peuvent être mangées ou pressées pour en extraire de l'huile destinée à la cuisine ou à l'industrie cosmétique. Les fruits et les feuilles sont broutés par le bétail et ont une grande variété d'utilisations médicinales, tout comme l'écorce et les racines.

Le prunier d'Afrique est un arbre fruitier de grande valeur et toutes les parties du fruit sont comestibles, crues ou cuites. Les fruits sont mûrs une fois devenus jaunes. À ce stade, ils ont déjà subi une abscission et sont donc généralement ramassés par terre. Les fruits et les amandes sont une composante importante du régime des populations rurales. Les fruits frais sont largement consommés, en particulier par les enfants, et constituent une riche source de vitamine C. Ils sont également cueillis et transformés pour fabriquer du jus, des boissons alcoolisées (vin et bière) et de la confiture. L'amande est écrasée pour en extraire la graine. Celle-ci est ensuite pressée pour obtenir de l'huile, qui peut être utilisée pour la consommation ou dans l'industrie cosmétique. L'endocarpe huileux et

comestible est occasionnellement vendu sur les marchés locaux et contient jusqu'à 6 % d'huile [54].

Barka décoction d'écorce traite la dysenterie, la diarrhée, les rhumatismes et a un effet prophylactique contre le paludisme. L'écorce est un excellent remède pour les hémorroïdes. Racines et l'écorce sont également utilisées comme laxatifs. Une boisson à base de feuilles de marula est utilisée pour le traitement de la gonorrhée. Parfois, on trouve un arbre avec une blessure, probablement causée par un guérisseur traditionnel ou quelqu'un qui a rassemblé des matériaux à des fins médicinales.

La médecine traditionnelle l'emploie surtout pour ses propriétés *hypoglycémiantes* et *anti dysentériques*. Les décoctions ou macérations des feuilles auraient une action sur le système régulateur de la glycémie et une activité spécifique sur l'assimilation du glucose par l'organisme. Les décoctions de feuilles ou de racines de *Sclerocarya birrea* sont également employées comme antivenimeux et le suc du fruit se montre très efficace contre les piqûres d'insectes. La décoction d'écorce est indiquée dans les cas de dysenterie. Pour ce qui concerne ses propriétés cosmétiques, l'on fait surtout mention de l'huile extraite de ses noix. D'une remarquable stabilité, l'huile de marula est très riche en vitamine C (4 fois plus que dans l'orange) et en minéraux. Elle est utilisée par les populations locales pour ses propriétés hydratantes, nourrissantes et cicatrisantes. Et la cosmétique industrielle utilise aujourd'hui cette huile dans de nombreux produits: crèmes émoullientes, huile de massage pour assouplir la peau, soins pour bébés, champoings pour cheveux secs, crèmes hydratantes et protectrices. Sa toxicité se révèle très faible en usage interne et inexistante en usage externe [112].

## II.7- *Parkia biglobosa*

*Parkia biglobosa*, ou *nééré* en bambara, est une espèce d'arbre de la famille des *Mimosaceae*, ou des *Fabaceae*, sous-famille des *Mimosoideae* selon la classification phylogénétique originaire des zones sahéliennes et soudaniennes.



**Figure 19** : graines bouillies et fermentées de *Parkia biglobosa*



**Figure 20** : Feuilles, fruits et graines de *Parkia biglobosa*

## **a- Classification**

Règne : Plantea

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Fabales

Famille : Mimosaceae

Genre : Parkia

## **b- Composition chimique**

100g de soumbala sec apportent à l'organisme 432 calories et contiennent :

- 36,5 mg de protides
- 28,8 g de lipides
- 378 mg de fer.

On signale également la présence de la vitamine B2 et de la vitamine PPde composés polyphénoliques dans le soumbala.

Des investigations réalisées par chromatographie gazeuse et par CG-SM(chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) ont révélé la présence de sept acides gras principaux parmi lesquels l'acide linoléique (41,9–46,8 %), l'acide oléique (12,6–14,6 %), l'acide palmitique (10,2–11,3 %), l'acide stéarique(10,0–13,4 %) et l'acide béhénique (12,6–13,4 %). La teneur en tocophérols est très faible(17,7 à 30,6 mg.100g<sup>-1</sup> de matières grasses). Les protéines brutes représentent 331 à 540 g.kg<sup>-1</sup>. Elles sont caractérisées par des taux intéressants en acides aminés essentiels, cependant le tryptophane, la cystine, la méthionine et la thréonine sontlargement déficients [40].

## **c- Utilisations**

Le néré produit des fruits pédonculés avec une poudre jaune à forte odeur qui est consommée en pâtes.

Les graines sont bouillies, fermentées, et utilisées, mélangées avec du gombo (*Hibiscus esculentus*) pour préparer une sauce appréciée appelée « soubala » au Mali, et au Burkina Faso. Au Sénégal, les graines fermentées de néré, ainsi que le condiment qui est fabriqué en les pilant et les cuisant avec du sel et du piment s'appellent "nététou" (iru ou dadawa au Nigéria). En zones haoussaphones, un condiment semblable est appelé "dawa dawa". Le nététou accompagne principalement au Sénégal les plats à base de riz et de poisson, ainsi que le "sompkandia", un plat à base de gombo et d'huile de palme [54].

Sa composition explique ses vertus thérapeutiques et de maintien en bonne santé.

L'écorce est utilisée en ostéopathie. La pulpe peut servir de laxatif. Les cosses peuvent servir d'engrais, de poison pour la pêche ou encore comme crépi pour enduire les murs des cases.

Le soubala aurait des propriétés antihypertenseurs

- Sa richesse en iode pourrait permettre de prévenir le goitre
  
- Sa consommation permettrait de prévenir ou de réduire certaines formes d'anémies
- Il semble qu'il donne de très bons résultats dans les traitements de certains cas de décalcification
- On lui attribue un pouvoir de renforcement des défenses immunitaires particulièrement en matière de prévention du cancer.
- En cas de piqûre de scorpion ou d'abeille, certains groupes ethniques appliquent des cataplasmes de soubala sur les parties concernées.
- Quelquefois le soubala est servi avec un peu de sel aux malades qui vomissent du sang.

□ Dans les cas de grandes fatigues, il est recommandé de consommer pendant quelques jours une soupe de soubala pure ou additionnée à un peu de légumes pas trop cuits.

## DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIMENTAL

## CHAPITRE I : METHODOLOGIE GENERALE

---

### I.1- Cadre d'étude

Le laboratoire de physiologie pharmaceutique est situé au deuxième étage du pavillon de pharmacie de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Cette structure est constituée de deux laboratoires : un laboratoire d'analyses biologiques et un laboratoire de recherche scientifique.



**Figure 21** : vue d'ensemble du laboratoire de physiologie

## **I.2- type d'étude**

C'est une étude rétrospective qui consiste à passer en revue toutes les plantes dont les effets vasculaires in-vitro ont été démontrés au niveau du laboratoire de physiologie pharmaceutique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar de 2008 à nos jours. En effet dans cette étude nous avons fait la synthèse des méthodologies utilisées et des résultats obtenus sur les effets vasculaires de certaines plantes de la pharmacopée sénégalaises testées au laboratoire de Physiologie pharmaceutique. Ces résultats ont ensuite fait l'objet de discussion.

## **I.3- Matériels utilisés**

### **I.3.1- Matériels de laboratoire**

#### **a- Le petit matériel**

Il est constitué de plusieurs éléments qui sont récapitulés dans le tableau suivant :

**Tableau I** : petit matériel de laboratoire

Verrerie	Accessoires	Matériel de chirurgie
Ampoule à décanter	Gant	Anesthésiant : penthotal
Ballons en verre	Coton hydrophile	Boite de pétri
Béchers	Micropipettes	Pinces anatomiques
Entonnoirs	Papier aluminium	Paires de ciseaux courbes
Eppendorfs	Papier filtre	Paires de ciseaux droites
Eprouvettes	Pipettes	Seringues
Erlenmeyers	Pompe	
Fioles de kissato	Vaporisateur	
Tubes à essai		

## **b- Appareils du laboratoire**

- **Le système à organes isolés** : C'est un dispositif qui comporte plusieurs éléments :

**Un bain marine** : il a pour but de maintenir la solution physiologique dans les conditions de température du corps c'est-à-dire à 37°C. La température souhaitée est obtenue et maintenue, par le biais d'un thermostat immersible.

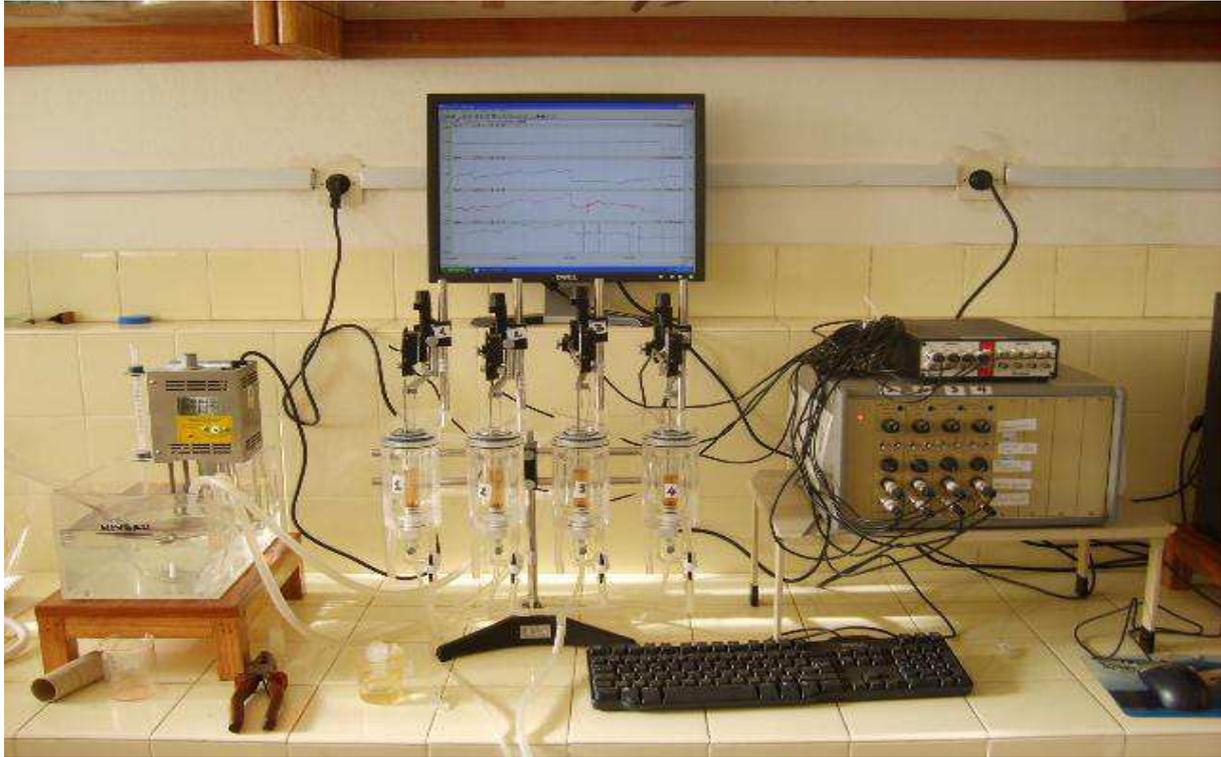
**Des cuves transparentes** : elles sont aux nombres de quatre et sont munies d'un petit cristalliseur en verre, qui sépare la cuve en deux compartiments ; un compartiment dans lequel se trouve de l'eau provenant du bain-marie, et un autre plus petit, invaginé dans le précédent compartiment, qui correspond à l'endroit où baignera l'organe dans la solution physiologique de Krebs. Ce compartiment est également oxygéné via un cathéter qui est relié à la bouteille d'oxygène. Les deux compartiments ne se communiquent en aucune manière.

**Des capteurs de tensions isométriques** : les anneaux d'organe à étudier sont montés sur ces derniers. Ils sont reliés à des tiges métalliques qui développent une tension isométrique. Ces capteurs permettent de mesurer l'intensité de la tension développée.

**Un amplificateur ISO 510** : il est relié aux capteurs du bain d'organe et au conducteur. Il permet d'amplifier les signaux électriques reçus et d'améliorer la sensibilité.

**Un transducteur iWorx 118 Biosep®** : il est relié au transducteur, et à un ordinateur. Il convertit les signaux mécaniques en signaux électriques puis les numérise avant leur visualisation sur l'ordinateur.

**Un ordinateur** : il permet de visualiser les données traitées par le transducteur et l'amplificateur par le biais du logiciel « LABSCRIBE®<sup>TM</sup>Data recording Software ». Les données obtenues sont sous forme de graphes.



**Figure 22** : système à organe isolé

- Un combiné **réfrigérateur congélateur** : il permet la conservation des solutions, de drogues et d'extraits à +4° et des réactifs du laboratoire à 20°C.
- **La balance de précision** : elle permet d'effectuer des pesées de l'ordre du centième de grammes.



**Figure 23** : Balance de précision

- **Le distillateur** 2008 GFL® : il est relié à une arrivée d'eau ; il permet de distiller l'eau courante. L'eau distillée obtenue est utilisée dans toutes les manipulations allant du rinçage aux dilutions.



**Figure 24** : Distillateur

- **Le vortex** VX 100 labnet ® : il permet d'homogénéiser les solutions, de même que les préparations liquides effectuées avant leur utilisation.
- **Le microscope optique binoculaire** Prior® : il permet de réaliser des grossissements. Il est surtout utilisé pour le nettoyage de l'aorte prélevé chez le rat. Ceci consiste à débarrasser l'aorte des graisses, de sectionner les tissus nourricier et les tissus de connexion se trouvant au niveau de la paroi de l'organe.
- **Le Moulinex** : il permet d'effectuer un broyage mécanique et nous donne des particules semi fines qui peuvent être améliorées selon le besoin.



**Figure 25** : le Moulinex

- **Le broyeur RM 100 Retsch®** : il permet d'obtenir des poudres fines à partir de poudres semi-fines, obtenues par broyage préalable à l'aide d'un Moulinex.



**Figure 26** : Broyeur a mortier RM 100

- **La bouteille d'oxygène** : elle permet d'alimenter le bain d'organe du système à organe isolés en oxygène. Le débit et la pression sont régulés à l'aide des vannes qui permettent d'obtenir une pression allant de 0 à 60 bars et un débit allant de 0 à 16 bars

- **Evaporateur rotatif**

Le rotavapor permet de réaliser des distillations rapides et en une étape mais également de façon à ménager le produit.

Cette procédure se base sur l'évaporation et la condensation de solvants au moyen d'un ballon d'évaporation par rotation sous vide.

La distillation sous vide améliore le résultat du traitement et aide à protéger les produits.

*Le Rotavapor est composé d'un(e) :*

- Réfrigérant ;
- Ballon d'évaporation ;
- Pompe à vide ;
- Refroidisseur à circulation ;
- Bain marie thermostaté.



**Figure 27** : Evaporateur rotatif

### **c- Solutions, solvants et réactifs utilisés**

- **Solutions** : les solutions utilisées au cours de ces manipulations sont les suivantes :

- Eau distillée : utilisée pour le nettoyage de la verrerie, les dilutions des agents pharmacologiques, la préparation de la solution physiologique de Krebs. Aucune manipulation n'a été réalisée avec de l'eau courante.

- Solution physiologique de Krebs : c'est une solution physiologique dans laquelle baignent les anneaux d'organes. Elle permet de maintenir l'intégrité du vaisseau et ses fonctions biologiques in vitro. Par ailleurs ladite solution apporte non seulement les éléments nutritifs qui garantissent les fonctions physiologiques, mais aussi les ions nécessaires au métabolisme. Les phénomènes biologiques sont très influencés par les conditions externes comme la température, le pH, les concentrations ioniques...

- **Les solvants**

Du méthanol sous forme d'un mélange eau /méthanol à 60% a été utilisé lors de l'extraction du matériel végétal pour la macération des différentes drogues.

- **Réactifs**

- L'anhydride trifluoroacétique (TFA) : Il est ajouté à la préparation hydro alcoolique lors de la préparation de l'extrait brut. Il permet de dissoudre les graisses présentes dans la solution.

- Les agents pharmacologiques : L'Adrénaline et l'Acétylcholine

### **I.3.2- Les animaux**

#### **a- Les espèces utilisées**

Des rats males de souche Wistar de 12 à 14 semaines, dont le poids varie entre 300 et 350 kg, ont été utilisés dans toutes les manipulations. Le choix de ce type d'animal se justifie par la facilité de l'élevage, de son cout adorable et de son utilisation aisée en expérimentation

#### **b- Les conditions d'élevage.**

Les rats sont élevés dans des cages en matière plastique transparentes fermée par un grillage en fer et mesurant 42cm de long, 27cm de large et 15 cm de hauteur. Les cages disposent d'une litière qui est renouvelée tous les deux jours. 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 de veille et de sommeil. Les rats sont maintenus dans un environnement proche de la neutralité thermique c'est-à-dire entre 25 et 30°C.

### **I.3.3-Le matériel végétal**

Le matériel utilisé est composé :

- ✓ Anacardium occidentale : écorces
- ✓ Parkia biglobosa : écorces
- ✓ Allium sativum : gousse
- ✓ Balanites aegyptiaca : pulpe de fruit
- ✓ Moringa oleifera : feuilles
- ✓ Sclerocarya birrea : feuilles
- ✓ Hibiscus sabdariffa : calices

A partir de ces différentes parties de plantes, sont préparés leurs extraits hydroalcooliques.

## I.4- Méthodes

### I.4.1- Préparation des extraits bruts

#### a- Méthodes d'extraction

L'objectif de cette étape est d'extraire une grande majorité des composés actifs présents dans les différentes drogues. L'extraction est généralement dictée par les informations bibliographiques concernant la chimie des constituants de la plante. Comme solvant, un mélange eau/méthanol (40/60) a été utilisé. L'extraction s'est effectuée en trois étapes :

- **La macération** : cette méthode de préparation a été choisie car elle permet de limiter la dégradation des composés thermolabiles.
- **La filtration** : elle est réalisée sous vide, à l'aide d'une fiole de kissato, un entonnoir et du papier filtre.
- **L'évaporation** : elle est réalisée à l'aide de l'évaporateur rotatif et permet de se débarrasser du méthanol et de l'eau et d'obtenir un extrait sec.

#### b- Mode opératoire

Les écorces, les feuilles, les fruits et les calices selon la plante utilisée sont pulvérisés. 100 grammes de poudre de la drogue sont mis dans un Erlenmeyer préalablement taré à 0. Mesurer 500ml de solution eau/méthanol (300ml de Méthanol et 200ml d'eau) qu'on ajoute dans l'erenmeyer. Ce dernier est vigoureusement agité puis laissé au repos pendant 2h durant lesquelles, il sera remué toutes les 15min.

Il est à noter que l'erenmeyer est recouvert d'un papier aluminium, afin de protéger les molécules photosensibles.

Après la macération, la phase organique ou macérât est récupérée et conservée à +4°C. Après cette étape, le macérât est filtré avec du coton hydrophile placé

dans un entonnoir relié à une pompe aspirante qui accélère la filtration. Quelques minutes après, on obtient une solution exclusivement liquide. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à l'aide de l'évaporateur rotatif dans les conditions suivantes : température du bain-marie 40°C, température de refroidissement 21°C et le nombre de rotation 4000 tr/min. Ainsi l'évaporation aboutit à l'obtention d'un extrait brut sec de la partie de la plante utilisée, à partir du quel est testée la réactivité vasculaire des rats.

#### **I.4.2- Préparation de la solution physiologique de KREBS**

La solution de Krebs est composée de sels organiques et de glucose. Dans un premier temps, la préparation d'une solution mère est effectuée ; à partir de cette solution est préparée la solution fille.

##### **a- Préparation de la solution mère de KREBS**

Dans un erlenmeyer, introduire 500 ml d'eau distillée, puis ajouter successivement en remuant jusqu'à dissolution complète, les produits dans ce tableau ci-dessous :

**Tableau I** : composition de la solution physiologique mère de KREBS

	Poids moléculaire	Concentration (m/M)	Concentration (g/l)	Solution Mère (x20) g
NaCl	58,44	119	6,954	139,10
KCl	74,55	4,69	0,350	7
CaCl <sub>2</sub>	110,99	1,25	0,138	2,77
MgSO <sub>4</sub>	120,37	1,20	0,144	2,8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	174,18	1,03	0,179	3,84

Après cela, compléter à l'aide d'eau distillée jusqu'à 1 litre. La solution ainsi préparée, est conservée au réfrigérateur, à la température de +4°C.

## **b- Préparation de la solution fille de Krebs**

Elle est préparée à partir de la solution mère c'est-à-dire celle préparée précédemment, à partir de laquelle il est prélevé 50 ml qu'on introduit dans une fiole jaugée. On ajoute successivement les produits suivants :

**Tableau II** : Composition de la solution fille de Krebs

	Concentration (g/l)	Concentration (m/M)	Poids Moléculaire
Glucose	2	25	84,01
Bicarbonate de Na	2,1	11,2	180,2

Une fois ces produits introduits, on complète à 1 litre avec de l'eau distillée, puis la fiole jaugée est mis dans le bain-marie qui est thermostaté à 37°C. Dès que la solution a pris la température physiologique, les cuves de verre du bain d'organe en sont remplies.

### **I.4.3- Mise en route du système à organe isolé (SOI)**

C'est un dispositif comportant un ensemble d'appareils reliés entre eux. Il est important et nécessaire de mettre en marche les appareils avant de démarrer une quelconque manipulation. Ainsi l'allumage du système à organe isolé s'effectue successivement en ces étapes suivantes :

- Mettre à niveau le bain-marie avec de l'eau distillée
- Rincer les cuves, préparer les solutions de Krebs
- Allumer le bain-marie
- Vérifier que les quatre cuves sont remplies de Krebs puis allumer le gaz

- D'abord la pression
- Ensuite le débit
- Allumer les appareils par ordre (inducteur-amplificateur-unité centrale-écran), lancer le logiciel LABS CRIBES
- Calibrer l'appareil par édit/préférence
- Mettre le zéro électrique avec les boutons blanches
- Monter les vaisseaux
- Remettre les zéro électriques sur une tension à deux grammes

#### **I.4.4- Sacrifice de l'animal et préparation des vaisseaux**

Le rat est anesthésié à l'aide de propovan par injection intra-péritonéale, à la dose de 40 à 60 mg/Kg de poids corporels, puis on laisse agir l'anesthésique pendant 10 minutes environ. Dès qu'il s'est endormi, l'animal est exsanguiné à l'aide d'une partie de ciseaux courbes au niveau de la trachée ; il s'en suit une dissection par laparotomie sus-ombilicale. A l'issue de cette opération, le diaphragme, le péritoine et les côtes sont sectionnées ; les viscères sont déplacés et le cœur est également sectionné. Une fois que l'aorte thoracique est bien en vue, elle est prélevée délicatement à l'aide d'une paire de ciseaux, puis déposée dans une boîte de pétri contenant une solution de Krebs. Le vaisseau prélevé est ensuite bien nettoyé afin de le débarrasser des couches de graisses, mais aussi des tissus de soutien et de connexion ; de même que les tissus nourricier. Cette opération est réalisée à l'aide du microscope optique pour permettre une bonne visibilité du vaisseau. A la fin de cette étape, l'aorte thoracique est sectionnée en quatre anneaux d'égale longueur (3 à 4 mm). Ces anneaux sont ensuite montés sur les tiges du système à organe isolé, puis ils sont baignés dans la solution de Krebs introduite préalablement dans les cuves.

Une fois montés, les vaisseaux sont tendus à une tension de 2 grammes pendant 45 minutes (tension de base) au cours desquelles, la tension est réajustée, en cas de besoin à 2 grammes car l'anneau se relâche spontanément dans les conditions *in vitro*. Aussi, durant ce temps de stabilisation, la solution de Krebs sera renouvelée toutes les 15 minutes. Cette étape de pré-tension permet de mimer la tension exercée par le flux sanguin sur l'anneau dans les conditions *in vivo*.

#### **I.4.5- Préparation des solutions de travail**

##### **a- Préparation de la solution d'Adrénaline**

L'adrénaline est utilisée pour la contraction vasculaire. Les solutions d'Adrénaline utilisées dans les expériences sont préparées à partir d'une ampoule d'Adrénaline de concentration 1 mg/ml.

Le poids moléculaire de l'Adrénaline est de 183 mg/mol.

Ainsi donc dans une ampoule de 1 mg/ml, la concentration molaire est de :

$$1 \text{ mol} \rightarrow 183 \text{ mg/ml}$$

$$? \rightarrow 1 \text{ mg/ml}$$

Soit S la concentration de la solution molaire :  $S = 1 \text{ mol} \times 1/183 = 0,005 \text{ mol}$

$$S = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

On effectue une dilution au  $1/5^{\text{e}}$  en prélevant la quantité contenue dans l'ampoule c'est-à-dire 1 ml de la solution d'Adrénaline à  $10^{-3} \text{ M}$ , à laquelle est additionné 4 ml de solution de Krebs pour obtenir 5 ml de solution à  $10^{-3} \text{ M}$ .

##### **b- Préparation de la solution d'acétylcholine**

L'acétylcholine est utilisée pour la relaxation vasculaire endothélium dépendant.

En tenant compte du poids moléculaire (PM= 181,66), on prépare dans un erlenmeyer une solution molaire. Pour ce faire, on pèse 181,66 mg d'acétylcholine à homogénéiser dans 1 ml d'eau distillée. Ensuite on effectue une dilution en cascade (50  $\mu$ l de solution + 450 $\mu$ l de Krebs) pour avoir 18,166 mg/ml ( $10^{-1}$  mol/l) qu'on dilue au 1/100<sup>ème</sup> pour obtenir enfin une solution d'acétylcholine de concentration  $10^{-3}$  mol/l.

### **c- Préparation de la solution de L-NAME**

La L-NAME est l'acronyme de la L-Nitro<sup>G</sup>-Arginine-Méthyl-Ester. C'est une analogue non hydrolysable de la L-Arginine et un inhibiteur de la NOS. Elle empêche ainsi la synthèse et la libération de NO, en bloquant la formation de GMP cyclique dans les cellules endothéliales.

La solution mère de L-NAME est de concentration  $10^{-1}$  M et va être diluée au 1/10ième pour les besoins de l'expérimentation.

50 $\mu$ l à  $10^{-1}$  molaire (aliquote de la solution mère) + 450 $\mu$ l de solution de Krebs

↓ Dilution au 1/10ième

500 $\mu$ l de L-NAME à  $10^{-2}$  molaire.

Lors des manipulations on a injecté 300 $\mu$ l de la solution à  $10^{-2}$  molaire pour une concentration de  $3.10^{-4}$  molaire dans la cuve de 10 ml.

### **d- Préparation de la solution de WORTMANNINE**

La Wortmannine est un inhibiteur de la voie PI3 KINASE/AKT, empêchant l'activation de la NO synthase, l'enzyme responsable de la production de NO.

A partir d'une solution commerciale dosée à  $10^{-1}$  mol/l on prépare une dilution à  $10^{-5}$  mol/l dont, 30 $\mu$ l injectés dans les 10 ml de la cuve donnant une solution finale à  $3.10^{-8}$  mol/l.

### **e- Préparation de la solution d'INDOMETACINE**

L'indométacine inhibe les cyclooxygénases empêchant la sécrétion des PGI<sub>2</sub>.

La solution d'indométacine est une solution commerciale dosée à  $10^{-2}$  mol/l. Après obtention d'une concentration de  $10^{-5}$  mol/l par dilution préalable au 1/1000ième, on injecte 30  $\mu$ l dans les 10 ml de la cuve pour une solution finale de  $10^{-5}$  mol/l.

### **f- Préparation de la solution de CHLORURE de BARYUM**

Le chlorure de baryum est un inhibiteur des EDHF.

On détient au laboratoire une solution de chlorure de baryum (BaCl<sub>2</sub>) de concentration  $10^{-1}$  mol/l, qu'on dilue au 1/100ième pour obtenir une concentration de  $10^{-3}$  mol/l dont les 30  $\mu$ l seront injectés dans la cuve.

### **g- Préparation de la solution de MnTMPyP**

Le MnTMPyP est un inhibiteur des anions superoxydes. De PM= 909,09 g/mole. La solution mère de MnTMPyP a une concentration de  $10^{-2}$  par dilution de 90,909 mg dans 1 ml de la solution de Krebs et va être diluée au 1/10ième avec la solution de Krebs pour obtenir la solution fille de  $10^{-3}$  (solution de travail). Lors des manipulations, 30 $\mu$ l de la solution à  $10^{-3}$  molaire ont été injectés pour obtenir une concentration de  $5 \cdot 10^{-6}$  molaire dans la cuve.

### **h- Préparation de la solution de nitroprussiate sodique**

PM (NP) = 297,91g/mol de la solution mère

29,71 mg/ml correspondent à une solution à  $10^{-1}$  molaire.

Pour obtenir une solution à  $10^{-3}$  molaires, une double dilution au 1/10ième de la solution mère à  $10^{-1}$  molaires a été effectuée.

La concentration de travail lors des expérimentations est de 10  $\mu$ M.

### **i- Préparation de la solution de bleu de méthylène**

Le bleu de méthylène est un inhibiteur de la guanylate cyclase.

PM = 373,9g/mole

37,39mg/ml correspondent à une solution de  $10^{-1}$  molaire.

Pour obtenir une solution à  $10^{-3}$  molaire, une double dilution au 1/10ième de la solution mère à  $10^{-1}$  molaire puis une seconde dilution au 1/10ième pour avoir une solution à  $10^{-3}$  ont été effectuées.

La concentration de travail lors des expérimentations est de 10  $\mu$ M.

### **j- Préparation de la solution de Glibenclamide**

C'est un inhibiteur sélectif des canaux  $K^+$  ATP dépendants.

PM = 494,01g/mol

La solution mère de Glibenclamide est obtenue à une concentration  $10^{-2}$  par dilution de 494,01mg dans 1 ml de Krebs.

Lors des manipulations, 10 $\mu$ l de la solution à  $10^{-3}$  molaires ont été injectés pour obtenir une concentration de  $10^{-6}$  molaire dans la cuve de 10 ml.

### **k- Préparation de la solution de l'oxyhémoglobine**

C'est un piègeur de NO.

PM = 64,58g/mol

La solution mère de l'oxyhémoglobine est de concentration  $10^{-2}$  et est diluée au 1/10ième pour les besoins de l'expérimentation pour obtenir une solution à  $10^{-3}$  molaire.

Lors des manipulations, 10 $\mu$ l de la solution à  $10^{-3}$  molaires ont été injectés pour une concentration de  $10^{-6}$  molaire dans la cuve de 10 ml.

## I- Préparation de la gamme d'Adrénaline de $10^{-4}$ M à $10^{-8}$ M

La solution à  $10^{-4}$  M se prépare par dilution au 1/10<sup>ème</sup> c'est-à-dire en ajoutant 900  $\mu$ l de solution de Krebs à 100  $\mu$ l de la solution d'Adrénaline à  $10^{-3}$  M. Pour obtenir une solution à  $10^{-5}$  M, on procéde de la même manière que précédemment en prélevant 100  $\mu$ l de la solution à  $10^{-4}$  M auxquels sont ajoutés 900  $\mu$ l de solution de Krebs. On respecte le même principe jusqu'à l'obtention de la solution à  $10^{-8}$  M.

En définitive, on obtient une gamme de concentration de six solutions d'Adrénaline, dont les concentrations varient de  $10^{-3}$  M à  $10^{-8}$  M plus la solution mère d'Adrénaline de concentration  $10^{-2}$  M.

**Tableau III :** Gamme de concentration d'Adrénaline et leur équivalence dans la cuve

Gamme de concentration	Equivalence dans la cuve (10ml de solution de Krebs)
10 $\mu$ l de $10^{-8}$ M	$10^{-11}$ M
20 $\mu$ l de $10^{-8}$ M	$3.10^{-11}$ M
70 $\mu$ l de $10^{-8}$ M	$10^{-10}$ M
20 $\mu$ l de $10^{-7}$ M	$3.10^{-10}$ M
70 $\mu$ l de $10^{-7}$ M	$10^{-9}$ M
20 $\mu$ l de $10^{-6}$ M	$3.10^{-9}$ M
70 $\mu$ l de $10^{-6}$ M	$10^{-8}$ M
20 $\mu$ l de $10^{-5}$ M	$3.10^{-8}$ M
70 $\mu$ l de $10^{-5}$ M	$10^{-7}$ M
20 $\mu$ l de $10^{-4}$ M	$3.10^{-7}$ M
70 $\mu$ l de $10^{-4}$ M	$10^{-6}$ M
20 $\mu$ l de $10^{-3}$ M	$3.10^{-6}$ M
70 $\mu$ l de $10^{-3}$ M	$10^{-5}$ M

### **m- Préparation des gammes de concentration d'extraits**

100 mg de l'extrait sec sont dissout dans 1 ml d'eau distillée pour obtenir une solution à 100 mg/ml. On effectue ensuite 3 dilutions sériées au 1/10ième pour obtenir respectivement des solutions à 10 mg/ml, 1 mg/ml et 0,1 mg/ml. Pour *Allium sativum* et *Balanites aegyptiaca*, c'est de l'éthanol qui a été utilisé comme solvant à la place de l'eau distillée.

### **I.4.6-Tests de réactivité vasculaire**

Ils sont aux nombres de deux

#### **a- Test de sensibilisation**

##### **• Principe**

Ce test a pour objectif de sensibiliser le vaisseau, et de le préparer aux différents essais qui seront réalisés à l'aide des différents agents pharmacologiques. Cette étape a lieu après les 45 minutes de stabilisation des vaisseaux et la phase de pré-tension à 2 grammes. Dès que les vaisseaux sont stabilisés, on met le zéro électrique.

##### **• Méthode**

Le test de sensibilisation consiste à introduire dans les cuves contenant 10 ml de solution de Krebs, 10µl d'Adrénaline à  $10^{-3}$  M ; ce qui permet d'avoir une concentration finale de  $10^{-6}$  M dans la cuve. Cette concentration permet d'obtenir 80% environ de la contraction maximale induite par l'Adrénaline. Après avoir noté la tension d'après contraction, on procède au lavage des vaisseaux avec la solution de Krebs, jusqu'à ce que la tension revienne à son niveau initial.

## **b-test de fonctionnalité**

- **Principe**

Ce test se décline ainsi :

- Un test à l'adrénaline qui permet l'activation des récepteurs adrénergiques avec une réponse vasoconstrictrice ;
- Un test à l'acétylcholine qui permet expérimentalement de caractériser la réponse vasodilatatrice **endothélium dépendante**, après la stimulation contracturante.
- Un test au nitroprussiate de sodium (SNP) qui permet de caractériser la réponse vasodilatatrice **endothélium indépendante**, après la stimulation contracturante.

- **Protocole**

Le test fonctionnel consiste à :

- injecter 10µl d'Adrénaline dans la cuve à 1µM ;
- injecter 10µl d'Ach à 1µM, une fois le plateau de contraction obtenue pour les vaisseaux endothélium+
- injecter 10µl de SNP pour les vaisseaux endothélium -
- noter le résultat obtenu et procéder au lavage par le Krebs.

Si une relaxation est notée, suite à l'injection de l'Ach, nous pouvons alors affirmer la présence du tissu endothélial au niveau de l'anneau d'aorte.

Si la relaxation est observée sur les vaisseaux endothélium- suite à l'injection du SNP, nous pouvons conclure que le muscle lisse vasculaire est fonctionnel.

## **I.4.7- Caractérisations des effets vasoactifs des extraits**

### **a- Recherche de propriétés vasoactives des extraits**

Des anneaux d'aorte thoracique isolé de rat, avec ou sans endothélium fonctionnel, sont d'abord nettoyés, montés, équilibrés, puis pré-contractés à l'adrénaline ; ils sont ensuite mis en contact après obtention du plateau de contraction, avec la gamme de concentration des extraits bruts, allant de  $10^{-4}$  mg/ml à 1 mg/ml.

Dans certaines expériences, l'effet préventif des extraits a été étudié avec une gamme de contraction à l'adrénaline sur des anneaux pourvus ou non d'endothélium pré-incubés avec les extraits.

Les tensions mesurées sont recueillies et représentées sous forme de courbe grâce au logiciel Graf pad Prism 5.

### **b- Recherche des mécanismes impliqués dans les effets vasoactifs des extraits**

Les anneaux aortiques avec un endothélium fonctionnel ont été montés, et mis en incubation de manière séparée avec différents inhibiteurs des facteurs endothéliaux vasorelaxants à des concentrations différentes selon l'extrait utilisé :

L-NAME

WORTMANNINE

INDOMETACINE

BaCl<sub>2</sub>

MnTMPyP

BLEU DE METHYLENE

GLIBENCLAMIDE

L'HOXYHEMOGLOBINE

Ils sont ensuite été pré contractés à l'adrénaline et mis en contact après obtention du plateau de contraction, à des concentrations croissantes d'extrait.

Les tensions de base et celles obtenues après adjonction de l'adrénaline, de l'extrait et des inhibiteurs sont recueillies et matérialisées sous forme de courbes grâce au logiciel Graf Pad Prism 5.

### **I.5- Analyses statistiques**

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  Ecartype ou moyenne  $\pm$  SEM.

L'analyse statistique des résultats a été faite avec le logiciel Graf Pad Prism 5.

Le test Anova a été utilisé pour comparer les moyennes aux différents temps.

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

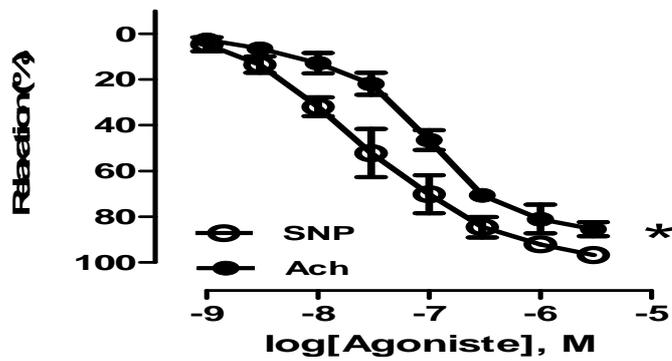
### **I.6.)RESULTATS**

Les résultats sont présentés sous forme de figures confectionnées à partir d'un logiciel dénommé Graph Pad Prism 5.

#### **I.6.1) Résultats des tests de fonctionnalité**

Les résultats obtenus sont présentés à la figure 28.

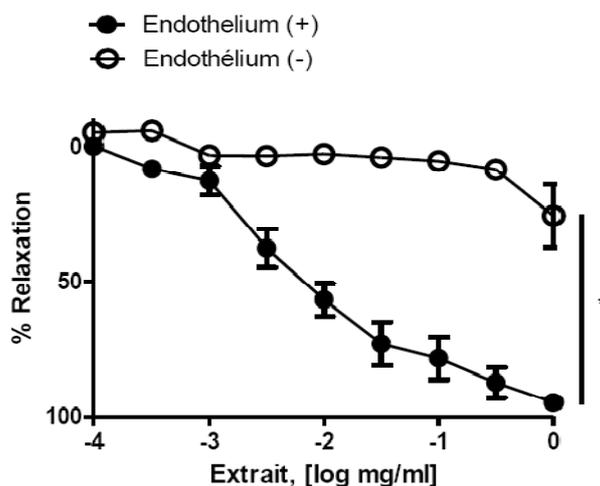
- une relaxation vasculaire d'environ 90% est induite par le Nitroprussiate de sodium (SNP), ce qui démontre l'intégrité du muscle lisse et sa fonctionnalité
- et une relaxation d'environ 80% induite par l'acétylcholine au niveau des vaisseaux pourvus d'endothélium, *ce qui témoigne de l'intégrité de l'endothélium et de sa fonctionnalité.*



**Figure 28:** Courbes effet- concentration de la réponse relaxante à l'acétylcholine (Ach) ou au Nitroprussiate de sodium (SNP) au niveau de l'aorte thoracique isolée de rat en présence et en absence d'endothélium, respectivement. Les résultats représentent la moyenne  $\pm$  SEM (écart-moyen standard) de 4 expériences à partir de 4 rats différents.[98]

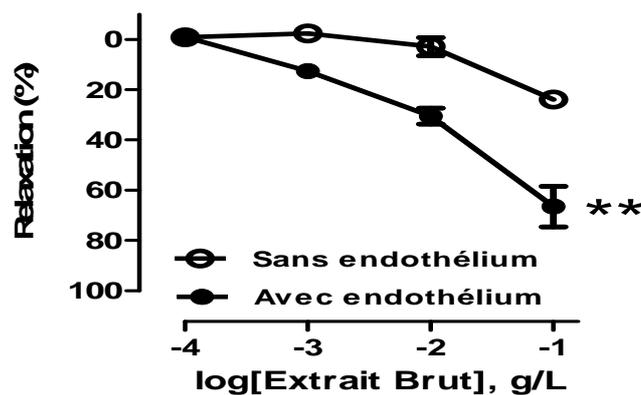
### I.6.2) Effets vasculaires des extraits

•L'extrait hydro alcoolique d'écorce de *Parkia biglobosa* induit une relaxation en moyenne supérieure à 80% sur les anneaux d'aorte thoracique isolé de rat possédant un endothélium fonctionnel, pré-contracté à l'Adrénaline et -25% sur les anneaux d'aorte dépourvu d'endothélium fonctionnel. Cela montre que l'extrait de *Parkia biglobosa* est vasorelaxant et que l'endothélium est fortement impliqué dans cet effet.



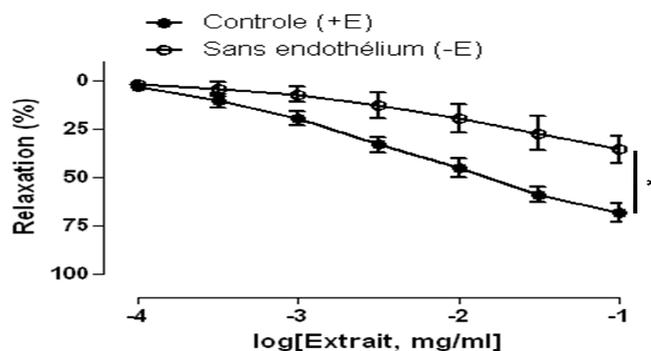
**Figure 29 :** Etude de l'effet de l'extrait d'écorce de *P. biglobosa* sur la vasomotricité des vaisseaux endothélium  $\pm$ . [83]

- l'extrait hydro alcoolique d'*Hibiscussabdariffa* induit une relaxation de l'ordre de 68% sur les anneaux d'aorte de rat présentant un endothélium fonctionnel et pré-contracté à l'adrénaline contre 9% de relaxation sur les anneaux dépourvus d'endothélium. Cela montre que l'extrait d'hibiscus sabdariffa est vasorelaxant et que l'endothélium est fortement impliqué dans cet effet.



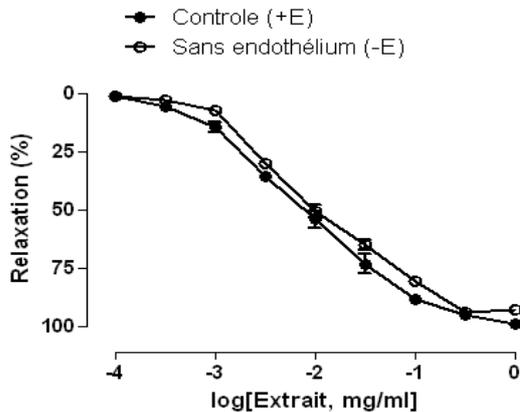
**Figure 30** : Courbes effet-concentration de la réponse relaxante à l'extrait brut d'hibiscus sabdariffa au niveau de l'aorte thoracique isolée de rat en présence et en absence d'endothélium. Les résultats représentent la moyenne  $\pm$  SEM (écart-moyen standard) de 4 expériences à partir de 4 rats différents. [98]

- L'extrait hydro alcoolique d'*Anacardium occidentale* induit une relaxation sur les anneaux d'aorte de rat présentant un endothélium fonctionnel et pré-contracté à l'Adrénaline.



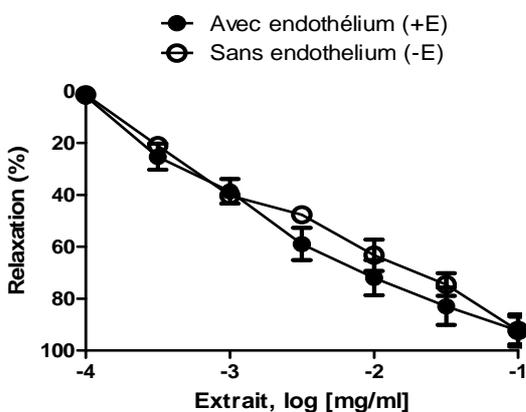
**Figure 31** : Relaxation induite par la gamme de concentration de l'extrait hydro alcoolique d'*Anacardium occidentale* sur les anneaux d'aorte de rat. [58]

- L'extrait brut hydro alcoolique d'*Alliumsativum* entraine une vasorelaxation totale c'est-à-dire d'environ 100% sur les anneaux d'aorte thoracique isolé de rat pré-contraté à l'Adrénaline aussi bien en présence qu'en absence d'un endothélium fonctionnel.



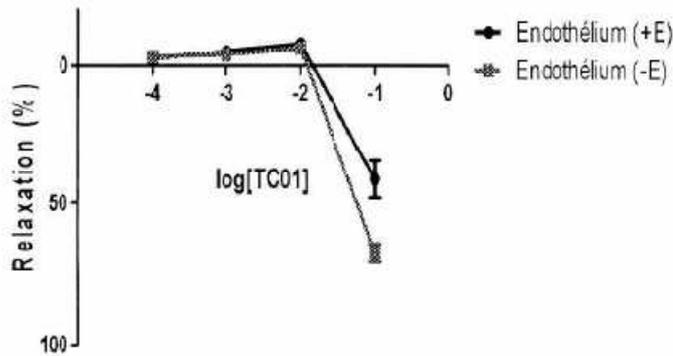
**Figure 32 :** Courbes effet-concentration de l'extrait d'*Allium sativum*, au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-contraté à l'Adr, en présence et en l'absence d'endothélium fonctionnel.[70]

- l'extrait brut hydro alcoolique de *Balanites aegyptiaca* entraine une vasorelaxation totale c'est-à-dire d'environ 100% sur les anneaux d'aorte thoracique isolée de rat pré-contraté à l'Adrénaline, aussi bien en présence qu'en absence d'un endothélium fonctionnel.



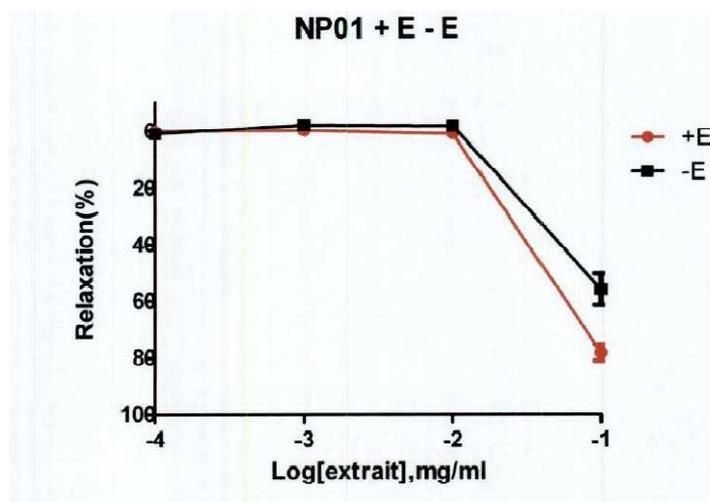
**Figure 33 :** Courbes effet-concentration de l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* sur l'aorte thoracique isolée de rat, en présence et en l'absence d'endothélium fonctionnel.[19]

- L'extrait brut de *Sclérocarya birrea* entraîne une vasorelaxation, en présence ou en absence d'endothélium. Mais l'effet vasorelaxant est plus prononcé chez les anneaux d'aorte thoracique dépourvus d'endothélium.



**Figure 34** : Courbes effet-concentration de l'extrait brut de *S. birrea*, au niveau de l'artère thoracique isolée de rat, en présence et en absence d'endothélium. Les résultats sont exprimés sous forme de Moyenne  $\pm$  SEM de 6 à 24 expériences. [114]

- L'extrait brut hydro alcoolique de *Moringa oleifera* induit une relaxation sur les anneaux d'aorte thoracique isolé de rat en présence et en absence d'endothélium (78,28% pour +E et 55,99% pour -E).



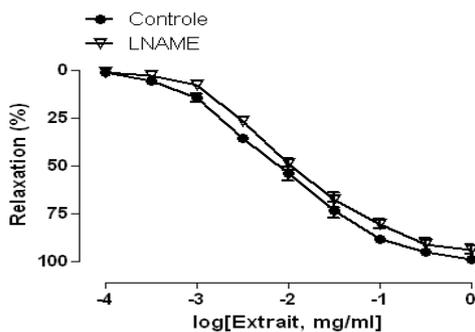
**Figure 35** : Courbes effets-concentrations de la réponse relaxante à l'extrait brut de *Moringa oleifera* (NP01) au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat en présence et en absence de l'endothélium. [59]

### I.6.3) Caractérisation des mécanismes impliqués dans la vasorelaxation

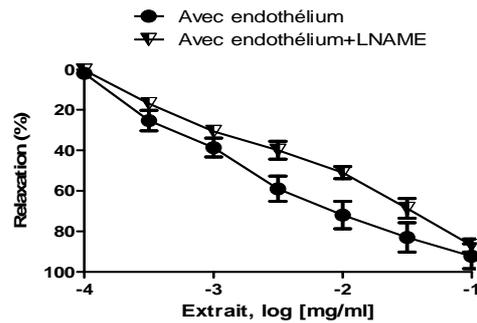
- Effet de l'inhibition des principales enzymes endothéliales sources de facteurs vasorelaxants

La présence de L-NAME, inhibiteur de la NO synthase, n'a révélé aucun effet significatif sur la vasorelaxation induite par les extraits de *Balanites aegyptiaca*, *Moringa oleifera*, *Sclerocarya birrea* et d'*Allium sativum*. Par contre, on note une diminution significative de la vasorelaxation endothélium-dépendant des extraits d'*Anacardium occidentale*, de *Parkia biglobosa* et d'*Hibiscus sabdariffa* en présence de L-NAME.

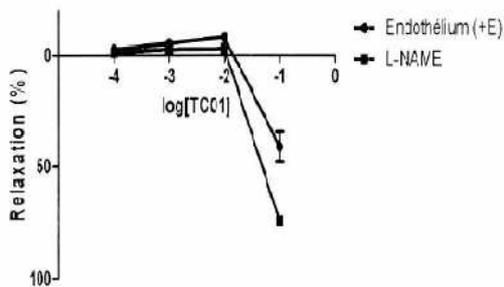
Cependant, aucune modification n'est observée lorsque les vaisseaux sont traités avec l'indométacine pour les extraits de *Parkia*, d'*Hibiscus* et d'*Anacardium*.



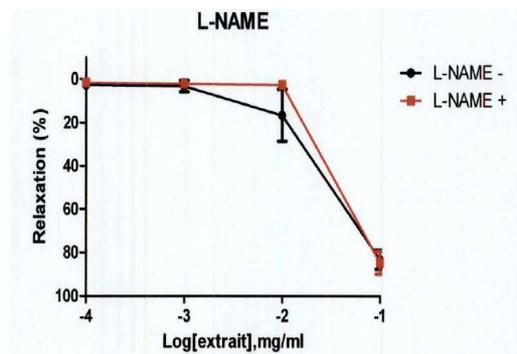
**a** : *Allium sativum*



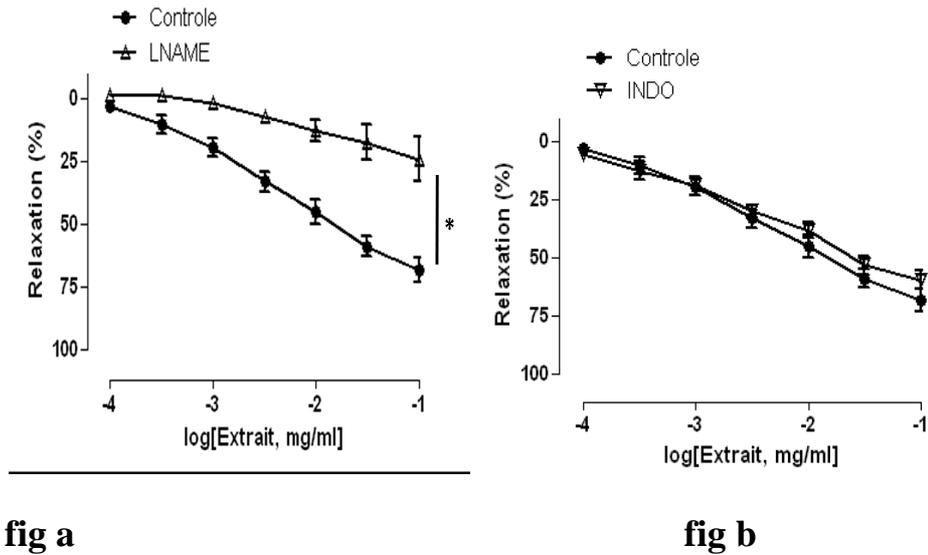
**b** : *Balanites aegyptiaca*



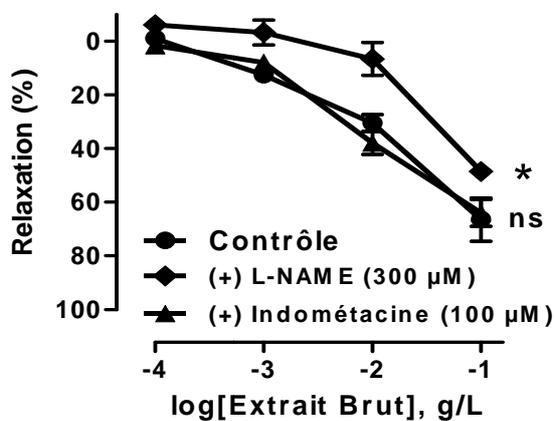
**c** : *Sclerocarya birrea* **d** : *Moringa oleifera*



**Figure 36:** Courbes effet-concentration des extraits d'*Allium sativum* (36 a), *Balanites aegyptiaca* (36 b), *Sclerocarya birrea* (36 c) et de *Moringa oleifera* (36d) au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec la L-NAME. [70][19][114][59]



**Figure 37:** Relaxation vasculaire induite par l'extrait d'*Anacardium occidentale*, inhibée en la présence de L-NAME (**fig a**) ; courbes effet-concentration de l'extrait d'*Anacardium occidentale* en présence d'indométacine (**fig b**).  $n = 4$  ;  $* = p < 0.05$ [83]



**Figure 38:** Courbes effet-concentration de la réponse relaxante de l'extrait brut d'*hibiscus sabdariffa* sur des vaisseaux traités avec un inhibiteur de la NO synthase (la L-NAME) et d'un inhibiteur de la Cyclooxygénase (l'indométacine) et d'un vaisseau non traité (le contrôle). Les résultats représentent la moyenne  $\pm$  SEM (écart-moyen standard) de 4 expériences à partir de 4 rats différents.[98]

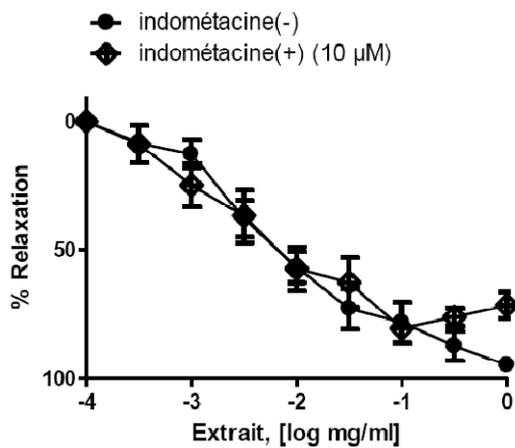


fig a

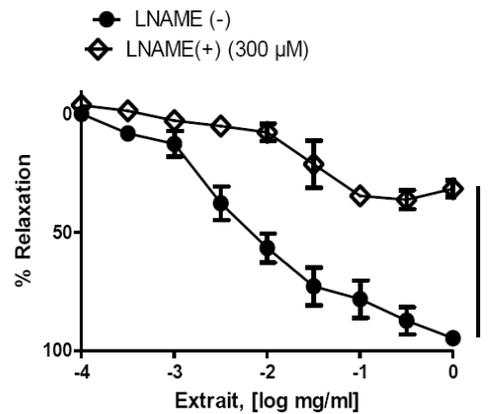


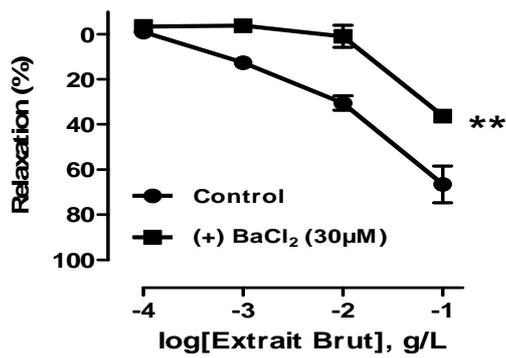
fig b

**Figure 39** : Relaxation vasculaire induit par l'extrait de *Parkia biglobosa* inhibée en présence d'indométacine (fig 39a) et en présence de L-NAME (fig 39b) [83]

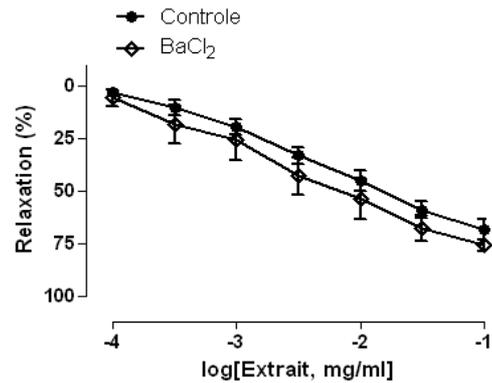
- **Effet de l'inhibition des canaux potassiques hyperpolarisants**

La présence de chlorure de baryum, un inhibiteur des EDHF, entraîne une perte de la relaxation induit par les extraits de *Moringa oleifera* et d'*Hibiscus sabdariffa* respectivement (15% pour les vaisseaux traités par le chlorure de baryum vs 78 % pour les vaisseaux non traités) et d'environ 50% comme le révèlent les figures 40a et 40c.

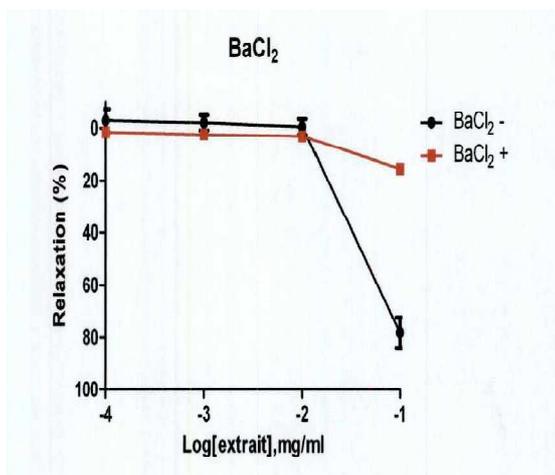
Par contre pour *Anacardium occidentale* et *Sclerocarya birrea* la présence de chlorure de baryum, n'affecte pas la vasorelaxation endothélium-dépendante induite par l'extrait. figure 40b et 40d



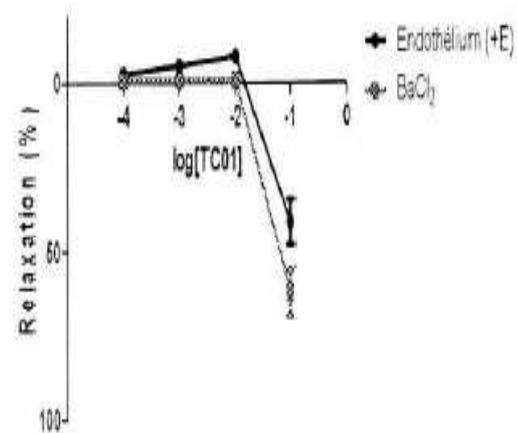
**a** : d'Hibiscus sabdariffa



**b** : Anacardium occidentale



**c** : Moringa oleifera

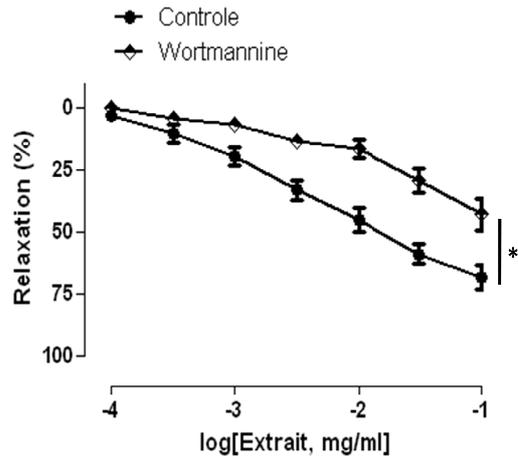


**d** : Sclerocarya birrea

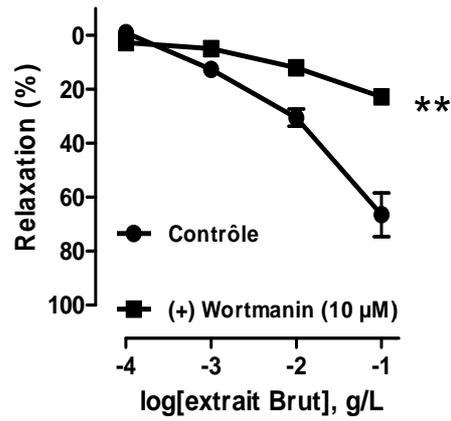
**Figure 40** : relaxations des anneaux d'aorte induite par l'extrait d'Hibiscus sabdariffa (40a), d'Anacardium occidentale (40b), de Moringa oleifera (40c) et de sclerocarya birrea (40d) en présence de BaCl<sub>2</sub>. n = 4 ; \* = p < 0.05 [98][58][59][114]

• **Effet de l'inhibition de la PI<sub>3</sub>Kinase /AKT**

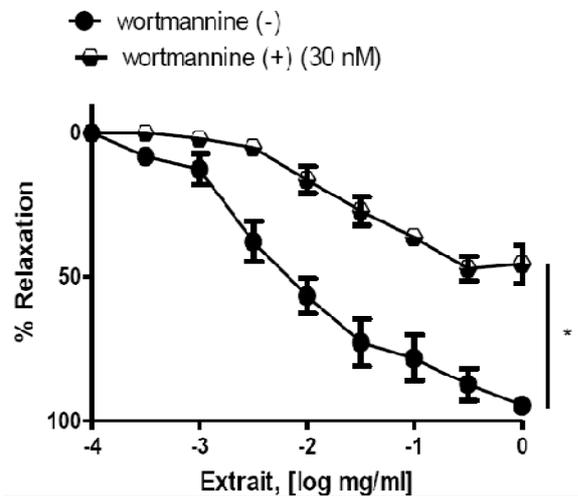
La présence de wortmannine, un inhibiteur de la PI<sub>3</sub> kinase/AKT inhibe significativement la vasorelaxation endothélium-dépendante induite par l'extrait de *Parkia biglobosa*, d'*Hibiscus abdariffa* et d'*Anacardium occidentale* démontrant le rôle important de cette voie dans le relâchement du muscle lisse vasculaire induit par ces extraits.



**a** : *Anacardium occidentale*



**b** : *Hibiscus sabdariffa*

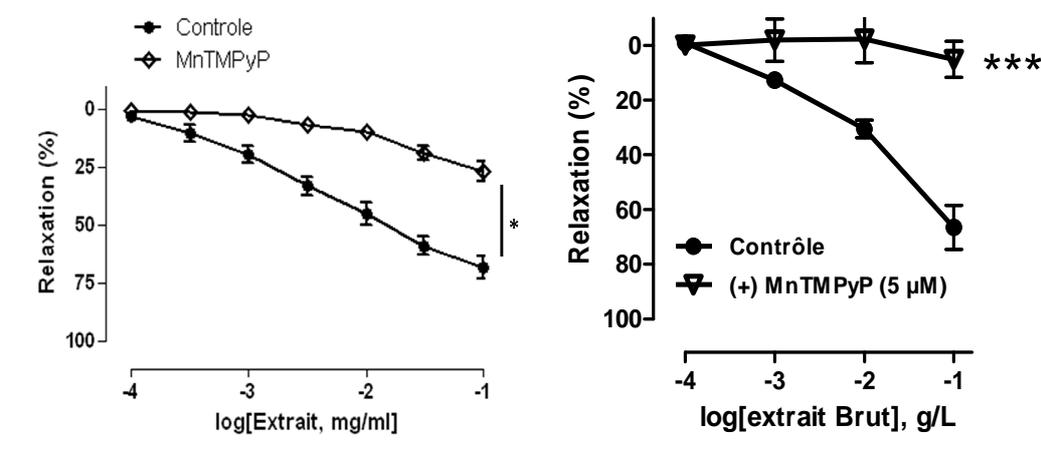


**c** : *Parkia biglobosa*

**Figure 41** : Effet de l'inhibition de la voie PI3 kinase/AKT par la wortmannine dans les relaxations vasculaires induites respectivement par l'extrait d'*Anacardium occidentale* (41a), d'*Hibiscus sabdariffa* (41b) et de *Parkia biglobosa* (41c).  $n = 4$  ;  $* = p < 0.05$  [98] [58][83]

- **Effet de l'inhibition des anions superoxydes**

La présence d'un antioxydant, le MnTMPyP inhibe de manière significative la relaxation vasculaire induite par l'extrait d'*Anacardium occidentale* et d'*Hibiscus sabdariffa*. Ceci démontre qu'un minimum de stress oxydatif, est physiologiquement nécessaire pour l'activation des voies de relaxation, impliquant la voie de la PI3K/Akt.

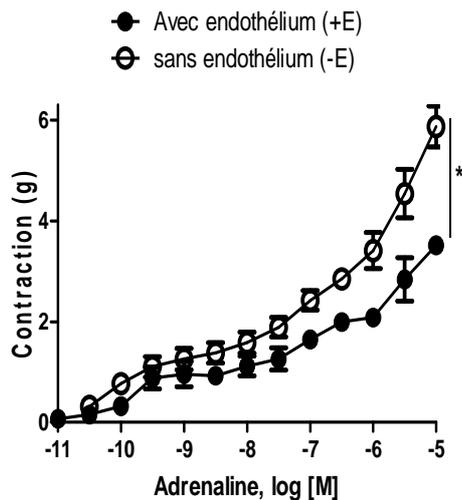


**a** :*Anacardium occidentale*    **b** :*Hibiscus sabdariffa*

**Figure 42:** Effet inhibiteur de l'antioxydant MnTMPyP sur la relaxation vasculaire induite par l'extrait d'*Anacardium occidentale*(42a) et d'*Hibiscus sabdariffa* (42b). n = 4 ; \* = p < 0.05 [98] [58]

#### **I.6.4) Rôle de l'endothélium dans la vasoconstriction induite par l'Adrénaline :**

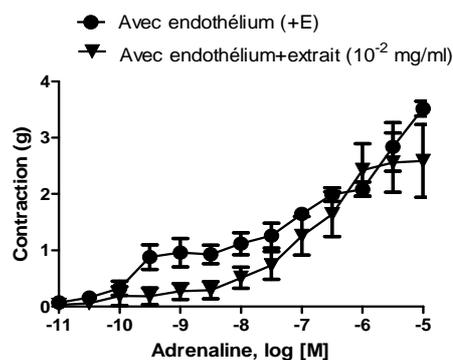
L'Adrénaline entraîne au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat une contraction dose-dépendante. La contraction est réduite en présence d'un endothélium fonctionnel (**Figure 42**).



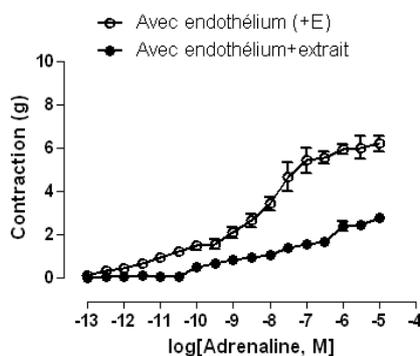
**Figure 43 :** Courbes effet-concentrations de l'Adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat en présence et en l'absence d'endothélium fonctionnel.[70]

### I.6.5) Effets préventifs des extraits sur la vasoconstriction induite par l'Adrénaline en présence d'endothélium

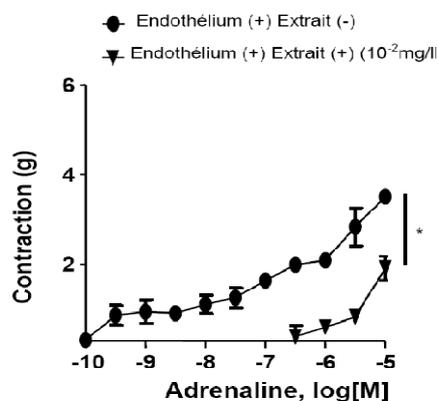
L'incubation préalable des anneaux d'aorte avec l'extrait de *Balanites aegyptiaca* en présence d'un endothélium fonctionnel n'a pas d'effet significatif sur la vasoconstriction dose-dépendante induite par l'Adrénaline. Par contre pour les extraits d'*Allium sativum* et de *Parkia biglobosa*, une diminution significative de la vasoconstriction dose-dépendante a été noté sur les anneaux d'aorte thoracique isolée rat.



**Figure 44 :** Courbes effet-concentration de l'adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* à  $10^{-2}$  mg/ml en présence d'endothélium fonctionnel.[19]



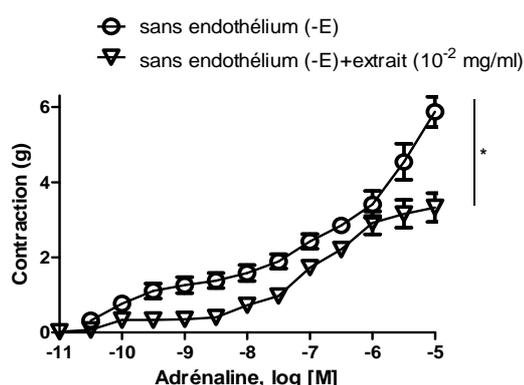
**Figure 45:** Courbes effet-concentration de l'Adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec l'extrait hydroalcoolique d'*Allium sativum* à  $10^{-2}$  mg/ml en présence d'endothélium fonctionnel. [70]



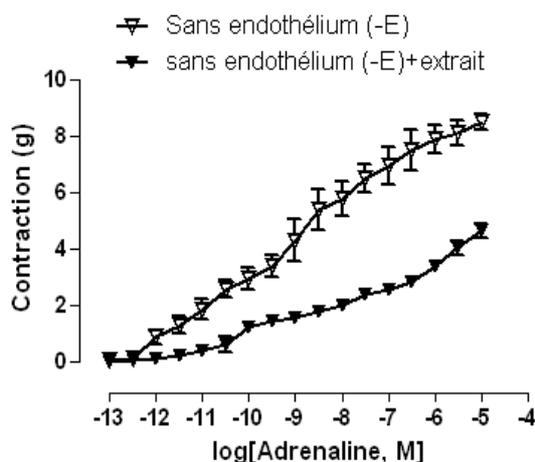
**Figure 46 :**Effet préventif de l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa* dans la vasoconstriction induite par l'adrénaline en présence d'endothélium fonctionnel. [83]

### I.6.6) Effets préventifs des extraits sur la vasoconstriction induite par l'Adrénaline en l'absence d'endothélium.

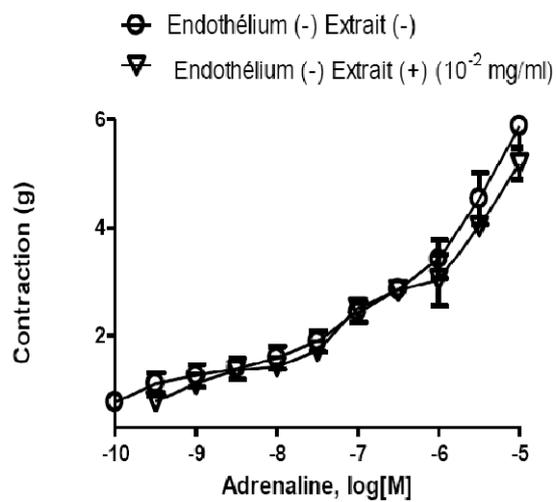
L'incubation préalable avec les extraits bruts de *Balanites aegyptiaca* et d'*Allium sativum* diminue de manière significative la vasoconstriction induite par l'Adrénaline. Par contre l'incubation préalable avec l'extrait de *Parkia biglobosa* n'a aucun effet sur la vasoconstriction induite par l'adrénaline.



**Figure 47 :** Courbes effet-concentration de l'Adrénaline sur l'aorte thoracique isolée de rat pré-incubé avec l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* à  $10^{-2}$  mg/ml en l'absence d'endothélium fonctionnel.[19]



**Figure 48 :** Courbes effet-concentration de l'Adrénaline au niveau de l'aorte thoracique isolé de rat pré-incubé avec l'extrait hydroalcoolique d'*Allium sativum* à  $10^{-2}$  mg/ml en l'absence d'endothélium fonctionnel.[70]



**Figure 49** :Effet préventif de l'extrait d'écorce de *Parkia biglobosa* dans la vasoconstriction induite par l'adrénaline en l'absence d'endothélium fonctionnel. [83]

## DISCUSSION

L'analyse de nos résultats a montré que les effets vasculaires observés sont fortement dépendants de l'endothélium pour les extraits d'*Anacardium occidentale* ; d'*Hibiscus sabdariffa* et de *Parkia biglobosa*. En effet, la comparaison des réponses relaxantes des anneaux d'aorte thoracique, avec ou sans endothélium des extraits d'*Anacardium occidentale*, d'*Hibiscus sabdariffa* et de *Parkia biglobosa* montre une différence significative entre les 2 types de vaisseaux (+E et -E). Ces résultats vont dans le même sens que ceux rapportés par de nombreuses études démontrant le rôle prédominant de l'endothélium vasculaire dans les mécanismes de la vasorelaxation induite par les polyphénols végétaux [38, 108]. Il est généralement admis que la vasorelaxation endothélium-dépendante relève de trois facteurs relaxants majeurs, à savoir le monoxyde d'azote (NO), les prostacyclines (PGI<sub>2</sub>) ainsi que le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF). Ces différents facteurs relaxants sont produits respectivement par la NO-Synthase (NOS) endothéliale, la cyclooxygénase (COX) et une source non encore déterminée pour l'EDHF.

L'inhibition de la NOS par la L-NAME entraîne une perte significative de la vasorelaxation, alors que l'inhibition des COX est sans effet, démontrant ainsi le rôle du NO dans la vasorelaxation induite par *Hibiscus sabdariffa*, *Anacardium occidentale* et *Parkia biglobosa*. Cependant, la L-Name n'annule pas totalement les réponses relaxantes de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa*, de *Parkia biglobosa* et d'*Anacardium occidentale* suggérant ainsi que d'autres voies de relaxation impliquant d'autres enzymes et/ou mécanismes et voies de signalisation seraient impliqués.

Il est admis que quelle que soit sa nature, le phénomène EDHF prend naissance avec une hyperpolarisation résultant de l'activation des canaux potassiques calcium dépendants de faible et de moyen conductance (SKca IKca) localisés

au niveau des cellules endothéliales [41]. Ces résultats suggèrent donc que les effets vasorelaxants induits par les extraits bruts d'*Hibiscus sabdariffa*, de *Parkia biglobosa* et d'*Anacardium occidentale* impliqueraient spécifiquement la voie du NO d'origine endothéliale bien qu'une composante relaxante non dépendante de l'endothélium ne peut être exclue.

La présence d'un antioxydant, le MnTMPyP montre qu'un minimum d'espèces réactives de l'oxygène, est physiologiquement nécessaire pour l'activation des voies de signalisation qui médient la relaxation induite par les extraits d'*Anacardium occidentale* et d'*Hibiscus sabdariffa*.

L'inhibition de la voie PI<sub>3</sub> kinase/Akt par la wortmannine entraîne une inhibition significative de la vasorelaxation induite par les extraits d'*Hibiscus sabdariffa*, de *Parkia biglobosa* et d'*Anacardium occidentale*. Dans la littérature il est rapporté que la voie PI<sub>3</sub> kinase/Akt est la principale voie d'activation de la NO synthase endothéliale par les polyphénols végétaux [11 ; 8 ; 81]. Hors, il a été démontré dans notre laboratoire d'accueil qu'*Hibiscus sabdariffa* était riche en polyphénols suggérant leur rôle dans l'activation de cette voie (Cissé M. et al 2008 ; Sakaly L. et al 2008). Ces résultats laissent penser également que ces composés polyphénoliques pourraient en partie être responsable de ces propriétés vasorelaxantes endothélium-dépendantes observés avec les extraits de *Parkia biglobosa* et d'*Anacardium occidentale* encore faudrait-il procéder à l'étude phytochimique de ces extraits pour en savoir un peu plus.

L'analyse de nos résultats a montré également que les extraits d'*Allium sativum*, de *Balanites aegyptiaca*, de *Moringa oleifera* et de *Sclérocarya birrea* possèdent des effets vasorelaxants mais que ces effets ne nécessitent pas la présence d'un endothélium fonctionnel. Le caractère endothélium-indépendant de l'effet de ces extraits est confirmé par l'utilisation d'inhibiteur de la production du NO, la L-NAME qui n'a montré aucune inhibition significative sur la relaxation induite par ces extraits.

Plusieurs travaux ont démontré des propriétés vasodilatatrices d'extrait de végétaux sur le même modèle animal, mais dans la majorité des cas, ces propriétés ne sont observées qu'en présence d'un endothélium fonctionnel [11 ; 30 ; 66]. Dans la plupart de ces travaux, les propriétés vasodilatatrices observées ont été attribuées à des composés appelés polyphénols. Cependant, ces derniers sont connus pour leurs actions qui nécessitent un endothélium fonctionnel [66 ; 62]. En effet, ces polyphénols agissent en favorisant la libération de facteurs relaxants dérivés de l'endothélium comme le monoxyde d'azote [109].

L'effet préventif de l'extrait de *Balanites aegyptiaca*, d'*Allium sativum* et de *Parkia biglobosa* a été également testé sur la vasoconstriction induite par l'adrénaline sur l'aorte thoracique isolée de rat. Au préalable, le rôle de l'endothélium dans la vasoconstriction induite par l'adrénaline a été mis en évidence. Une diminution significative de la vasoconstriction est observée sur les vaisseaux pourvus d'un endothélium fonctionnel comparés à ceux qui en sont dépourvus. Cette différence peut s'expliquer par l'effet des facteurs vasorelaxants d'origine endothéliale (NO, prostacyclines, facteurs hyperpolarisants d'origine endothéliale) qui inhibent la vasoconstriction induite par l'adrénaline. Ces résultats sont en parfaite conformité avec les travaux réalisés sur le rôle de l'endothélium dans la régulation de la pression artérielle [84, 73, 9, 104,96].

L'incubation préalable des anneaux d'aorte pourvus d'un endothélium fonctionnel, avec l'extrait brut de *Balanites aegyptiaca* à la concentration de  $10^{-2}$  mg/ml n'a pas d'effet sur la vasoconstriction induite par l'adrénaline. Ces résultats sont en contradiction avec beaucoup de travaux, où l'effet préventif vasculaire passe par une potentialisation de l'effet relaxant d'origine endothéliale, donc nécessite la présence d'un endothélium fonctionnel [30, 86]. Par contre, en l'absence d'endothélium, l'incubation avec l'extrait inhibe de manière significative la vasoconstriction induite par l'adrénaline. Ce résultat

surprenant pourrait s'expliquer par le fait que l'endothélium incubé avec l'Adrénaline puis avec l'extrait de *Balanites* entraînerait une diminution ou une inhibition de toutes les sources de relaxations.

L'incubation préalable des anneaux d'aorte en présence d'un endothélium fonctionnel avec l'extrait brut de *Allium sativum* à la concentration de  $10^{-2}$  mg/ml montre une réduction de la vasoconstriction induite par l'adrénaline. Ces résultats suggèrent que l'extrait entraîne une potentialisation des facteurs relaxants d'origine endothéliale [59]. Par ailleurs, le même effet est observé en l'absence d'endothélium fonctionnel. Ceci peut s'expliquer par la propriété de l'extrait à entraîner une réduction de la réactivité des vaisseaux à l'adrénaline. L'autre hypothèse est la propriété de l'extrait d'apporter des facteurs vasorelaxants qui inhibent la vasoconstriction induite par l'adrénaline. En d'autres termes, l'extrait d'*Allium sativum* est capable de suppléer fonctionnellement l'endothélium en apportant des facteurs relaxants, réduisant de manière significative la vasoconstriction induite par l'adrénaline.

Cependant, il apparaît que la propriété protectrice de *Parkia biglobosa* nécessite la présence d'un endothélium fonctionnel car dans les mêmes conditions expérimentales mais après destruction de l'endothélium, on observe que l'extrait n'a aucun effet significatif sur la vasoconstriction induite par l'adrénaline. Ces données sont en parfaite conformité avec celles obtenues avec les relaxations à l'extrait, confirmant le rôle crucial joué par l'endothélium dans les effets vasculaires du *Parkia biglobosa*.

## CONCLUSION

L'hypertension artérielle reste un véritable problème de santé publique dans le monde. Sa prise en charge reste un réel enjeu dans les pays en voie de développement, car si l'efficacité des traitements existants a été largement prouvée, leur accessibilité financière reste problématique. Dès lors, la phytothérapie semble effectivement être une alternative intéressante pour la prise en charge des maladies cardiovasculaires.

Les travaux réalisés au cours de ces dernières années chez l'homme et sur divers modèles animaux ont permis d'établir que les principales pathologies cardiovasculaires (Hypertension artérielle, insuffisance cardiaque, athérosclérose...) sont associées à l'apparition d'une dysfonction endothéliale c'est-à-dire la perte d'un équilibre entre facteurs vasodilatateurs et facteurs vasoconstricteurs d'origine endothéliale.

Nos résultats ont montré que les extraits d'*Hibiscus sabdariffa*, de *Parkia biglobosa* et d'*Anacardium occidentale* sont capables d'induire une relaxation vasculaire majoritairement dépendante de l'endothélium. La principale enzyme impliquée dans la vasorelaxation reste la NO-Synthase endothéliale. Les extraits activent la NO-Synthase endothéliale par la voie de la Pi3K/Akt. L'activation de cette voie nécessite la présence d'espèces radicalaires dérivées de l'oxygène.

Avec l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa*, une composante relaxante non dépendante de l'endothélium a également été observée, mais d'amplitude plus faible que celle dépendante de l'endothélium. Les canaux potassiques hyperpolarisants, activateurs directs du muscle lisse, seraient responsables de ces effets relaxants indépendants de l'endothélium.

La caractérisation des effets endothélium-dépendants montre le rôle primordial joué par le NO mais semble exclure une implication des prostacyclines.

Les extraits de *Balanites aegyptiaca* et d'*Allium sativum* présentent des vasorelaxations de 100% en présence comme en absence d'endothélium. Cependant en présence d'endothélium, les extraits de *Moringa oleifera* et de *Sclerocarya birrea* présentent respectivement des vasorelaxations de (78,28% vs 50%) alors qu'en absence d'endothélium on observe une relaxation de l'ordre de 55,99% avec l'extrait de *Moringa* et 75% avec celui de *Sclerocarya*.

Globalement, les résultats enregistrés montrent que les extraits d'*Anacardium occidentale*, d'*Hibiscus sabdariffa* et de *Parkia biglobosa* possèdent des propriétés vasorelaxantes dont l'effet nécessite la présence d'un endothélium fonctionnel alors que les extraits de *Balanites aegyptiaca*, d'*Allium sativum*, de *Moringa oleifera* et de *Sclerocarya birrea* possèdent ces mêmes propriétés mais que l'effet n'est pas dépendant d'un endothélium fonctionnel.

De nos résultats, il ressort que l'effet préventif vasculaire de la pulpe de *Balanites aegyptiaca* n'est observé qu'en absence d'endothélium fonctionnel alors que pour l'extrait d'*Allium sativum* l'effet préventif vasculaire est observé aussi bien en présence qu'en absence d'endothélium.

Cependant il est nécessaire de compléter ces travaux par d'autres études notamment physico-chimiques, pharmacodynamiques et surtout toxicologiques afin de garantir l'efficacité et l'innocuité de ces plantes, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans la prise en charge de l'hypertension artérielle.

Pour cela il est nécessaire de :

– Confirmer l'effet préventif vasculaire des extraits dans un modèle in vivo chez l'animal.

- Déterminer les autres mécanismes impliqués dans la relaxation induite par les différents extraits bruts de plante.
- D'identifier par des méthodes de fractionnement les composés responsables de cette vasorelaxation.

Dans tous les cas, ces résultats nous édifient un peu plus sur les propriétés anti-hypertensives de ces extraits et nous donnent en outre des raisons valables de nourrir des espoirs dans la recherche de traitements efficaces et à un moindre coût, de l'hypertension artérielle.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **Abraham endrias**, Bio-raffinage de plantes aromatique et médicinales appliqués à l'Hibiscus sabdarriffa L. et à l'artemisia annua. Thèse soutenue le 26 Mai 2006 ; 2340 : 42,43,47
- 2- **Adelstein RS, Hathaway DR**. Role of calcium and cyclic adenosine 3': 5'-monophosphate in regulating smooth muscle contraction. Mecanisme of excitation contraction coupling in smooth mucle. *Am J cardiol*.1979;44:783-7
- 3- **Akbari CM, Logerfo FW** 1999. Diabetes and peripheral vascular disease. *J Vasc Surg.*; 30: 373-84
- 4- **Alderton WK, Cooper CE, Knowels RG**. Nitric oxide synthase: Structure, function and inhibition. *Biochem J*. 2001
- 5- **Alexander H**. tullo ( Septembre,8 2008) « A nutty chemical » Chemical and Engineering News 86(36) : 26-27.
- 6- **Amarteifio JO, Mosase MO** (2006). The chemical composition of selected indigenous fruits of Botswana. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt* 10(2) 43-47
- 7- **Androli SP, Mallet CP, Bergtein JM** (1986). Role of glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury. *J lab clin med.*; 108(3): 190-8
- 8- **Anselm E, Socorro VF, Dal-Ros S, Schott C, Bronner C, Schini-KerthVB** (2009). Crataegus special extract WS 1442 causes endothelium-dependent relaxation via a redox-sensitive Src- and Akt-dependent activation of endothelial NO synthase but not via activation of estrogen receptors *J Cardiovasc Pharmacol.*;53(3):253-60.

- 9- **Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J.** Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology. *Cell Mol life Sci.*1999; 55: 1078-1087.
- 10- **Aubin MC, Carrier M, Shi YF, Tardif JC Perrault LP.** Role of probucol on endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries associated with left ventricular hypertrophy. *J Cardivas pharmacol* 2006; 47: 702-10
- 11- **Benito S, Lopez D, Sáiz MP, Buxaderas S, Sánchez J, Puig-Parellada P, Mitjavila MT.**JA flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta.*Pharmacol.* 2002; 135(4):910-6;
- 12- **Beny JL, Von der Weid PY.** Hydrogen peroxide: An endogenous smooth muscle cell hyperpolarizing factor: *Biochem biophys Res commun.* 1991;176: 378-384
- 13- **Berge, Diallo, et Hveen** les plantes sauvages du sahel malien. *KARTHALA Editions, 2006 P. 92*
- 14- **Butting S, Gryglewski R, Moncada S, Vane JR(1976).** Arterial Walls generate from prostaglandin endoperoxides a substances (prostaglandins x) which relaxes strips of mesenteric and celiac arteries and inhibits platelet aggreation.*Prostaglandins.; 12: 897-913*
- 15- **Busse R, Edwards G, Félétou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH.** EDHF: Bringing the concepts to gether. *Trends pharmacol Sci.* 2002; 23: 374-380
- 16- **Busse R, Fleming I.** Regulation of endothelium derived vasoactive autocue production by hemodynamic forces. *Trends pharmacol Sci.* 2004; 24: 24-29
- 17- **Cai H, Harrisson DG.** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress. *Cir Res;* 2000; 87: 804-844

- 18- **Cook et al.** (1998) Nutrient content of two indigenous plants foods of the western Sahel : *Balanites aegyptiaca* and *Maerua crassifolia*. *Journal of food composition and analysis* 11: 221-230.
- 19- **Diaw M.** Etude in vitro des propriétés vasoactives d'un extrait de pulpe de fruit de *Balanites aegyptiaca*(Balanitaceae). 2010; Thèse d'exercice N°8 UCAD. P: 73-77
- 20- **Dickel ML, Rates SMK, Ritter MR,** Plantes populary used for losing weight purposes in porto Alegre south Brazil, *J. Ethnopharmacol.* 109(2007) 60-71.
- 21- **Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Herman C, Busse R and Zeiher AM.** Activation of nitic oxid synthase in endothelium cells by AKT-dependent phosphorylation. *Nature.* 1999; 399: 601-605
- 22- **Dora KA, Doyle MP, Dubling BR.** Elevation of intracellular calcium is smooth muscle causes endothelial cell generation of NO in arterioles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94: 6529-6534
- 23- **Doughty JM, Plane F, Laughton PD.** Charybdotoxin and apamin block EDHF in rat mesenteric artery if selectively applied to the endothelium. *Am J physiol* 1999; 276: H1107-H1112.
- 24- **Ducroq C, Servy C, Cudic M and Blanchard BB** (2001). Intervention by nitric oxide NO, and its oxide derivatives particulary in mammals.*Can J physiol pharmacol.*; 79: 95-102
- 25- **Edwards G, Dora KA, Gardener MJ, Garland CJ, Weston AH.** K<sup>+</sup> is and endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries. *Nature.* 1998; 396: 269-272
- 26- **Edwards G, Weston AH.** Potassium and potassium clouds in endothelium-dependent hyperpolarizations. *Pharmacol Res.* 2004; 49: 535-541

- 27- **Eizawa H, Yui Y, Inoue R, Kosuga K, Hattori R, Aoyama T, Sasayama S.** Lysophosphatidylcholine inhibits endothelium-dependent hyperpolarisation and N omega-nitro-L-arginine/ indomethacin-resistant endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery. *Circulation.* 1995; 92: 3520-3526
- 28- **Feletou M, Vanhoutte PM.** Endothelium-derived relaxing factor hyperpolarization coronary smooth muscle. *The physiologist.* 1985; 48: 325
- 29- **Félétou M, Vanhoutte PM.** Endothélium dysfunction: a Multifaceted disorder. *Am J physiol.* 2006
- 30- **Fitzpatrick D.F., Hirschfield S.L., Coffey R.G.,** Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiology.*1993; 265; H774-778.
- 31- **Fleming I, Bara AT, Busse R.** Calcium signaling and autacoids production in endothelial cells are modulated by changes in tyrosine kinase and phosphate activity. *J Vasc Res* 1996; 33: 225-234
- 32- **Fleming I, Busse R.** Molecular mechanism involed in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr comp physiol.* 2003; 284:R1-R12.
- 33- **Fleming Iet Busse R.** Signal transduction of eNOS activation cardiovasc *Res.* 1999; 43: 532-541.
- 34- **Fortin D, Lo , Maynard G.** Plantes médicinales du sahel. P 164-165-166, Dakar CECI/ENDA édition 1990- 1997
- 35- **Fulton D, Fontana J, Sowa G, Gratton JP, Lin M, Li KX, Michell B, Kemp BE, Rodman D, Sessa W.** Localization of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylated on serine 1179 and nitric oxide in Golgi and plasma membrane defines the existence of two pools of active enzyme. *J Biol Chem;* 2000; 277: 4277-4284

- 36- **Fulton D, Mogiff JC, Quilley J.** pharmacological evaluation of an epoxide as the putative hyperpolarizing factor mediating the nitric oxide-independent vasodilator effect of bradykin in the rat heart. *J. Pharmacol exp ther*: 1998; 287: 497-503
- 37- **Furchgott RF, Vanhoutte PM.** Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *Fasb J* 1989; 3; 2007-2018
- 38- **Furchgott RF, Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980
- 39- **Giffard PL:** L'arbre dans le paysage sénégalais. Sylviculture en zone tropical sèche. *Dakar-1974. P 431 : 95-137*
- 40- **Girgio P, Turner T.** (1972). Lesser Known Nigerian edible oils and fats.III Fatty acid composition as determined by Gas-liquid chromatography. *J. Sci Food Agric*. 23, P. 259-262
- 41- **Gluais P, Lonchamp M, Morrow JD, Vanhoutte PM, Félétou M.** Acetylcholine-induced endothelium dependent contractions in the SHR aorta: The Janus face of prostacyclin. *Br J pharmacol*. 2005; 146: 834-845
- 42- **Gluais P, Paysant J, Badier-commander C, Verbeuren T, Vanhoutte PM, Félétou M.** In SRH aorta, calcium ionophore A-23187 releases prostacyclin and thromboxane A<sub>2</sub> as endothelium-derived contractions factors. *Am J physiol Heart cir physiol*. 2006
- 43- **Griendling KK, Fitzgerald GA.** Oxidative stress and cardiovascular injury part II: Animal and humans studies. *Circulation* 2003 b; 108: 2034-2040
- 44- **Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M.** Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler thromb vacs Biol*; 2000 a; 20:2175- 2183

- 45- **Griffith OW, Stuchr DJ.** Nitric oxid synthase: propertie and catalytic mechanism. *Annu Rev physiol.* 1995
- 46- **Gutterman DD.** Adventitia-dependent influences on vascular function. *Am J Physiol* 1999, 277: H1265-1272
- 47- **Haji Faradji M, Hadji Tarkhani A.** The effect of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) ou essential hypertension. *J Ethnopharmacol* 1999; 65-3: 231-6
- 48- **Hall JB, 2002.** *Sclerocarya birrea* (A. Rich.)Hochst.[Online].Record from protabase.Oyen LPA and Lemmens RHMJ, editors.Prota (plant resources of tropical Africa/ Ressources vegetales de l’Afrique tropical), Wageningen, Netherlands. Available at: [http:// database. Prota. Orga/ Search.htm](http://database.Prota.Orga/Search.htm). Accessed 20 December 2009.
- 49- **Harold McGee (2004).** Sur la nourriture et la cuisine (Voir noix et autres riche en pétrole, le chapitre sur les semences/. Scribner. ISBN 978-0-684-8001-1
- 50- **Hecker et Ullrich V.** On the mechanism of prostacyclin and thromboxane A<sub>2</sub> Biosynthesis. *J Biol Chem.* 1989
- 51- **Helene Paul**“ *Hibiscus sabdariffa*” L These 1995
- 52- **Hodgson JM, Marshall JJ.** Direct vasoconstriction and endothelium dependent vasodilatation. Mechanism of acetylcholine effects on coronary flow and arterial diameter in patients with nous tenotic coronary arteries. *Circulation.* 1989; 79: 1043-1059
- 53- **Huang PL, Huang Z Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC.** Hypertension in mice lacking the gene for endothelium nitric oxide synthase. *Nature.* 1995; 377: 239-242

- 54- **ICRAF. N.D.** Agroforestry database [Online]. Available at: <http://www.Worltagroforestrycentre.Org/Site/Streedsbs/aft.Asp>. Accessed 17 December 2009.
- 55- **Irvine JC, Favalaro JL, Widdop RE, Kemp-Harper BK.** Nitroxyl anion donor, Angeli's salt, does not develop tolerance in rat isolated aortae. *Hypertension*. 2007; 49: 885-892
- 56- **Kama B.** Effets relaxants vasculaires d'un extrait d'Anacardium occidentale sur un modèle d'aorte de rat : Mise en évidence et mécanismes impliqués. 2011 ;Thèse d'exercice N°119 UCAD. P : 29, 30, 58, 62
- 57- **Kambanck E.** Caractérisation invitro des effets vasorelaxants et étude phytochimique d'extrait brut de Moringa oleifera (Moringaceae). 2008 ; These d'exercice N° 112 UCAD. P: 115, 116
- 58- **Katsuki S, Arnold W, Mittal C and Murad F.** Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparaison to the effects of sodium azide and hydroxylamine. *J cyclic nucleotide Res*. 1997.
- 59- **Kane MO, Anselm E, Rattmann YD, Auger C, Schini-Kerth VB.** Role of gender and estrogen receptors in the rat aorta endothelium-dependent relaxation to red wine polyphenols. *Vascul Pharmacol*. 2009; 51(2-3): 140-6.
- 60- **Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J** Global Burden of hypertension : analysis of worldwide data. *The Lancet*, 15 janvier 2005, Vol. 365, No 9455, 217-23.
- 61- **Kedzeirski RM, Yanagisawa M.** Endothelin system: The double-edged sword in health and diseases. *Annu Rev Pharmacol toxicol*; 2001; 41: 851-876

- 62- **Kleschyov AL, Muller B, Keravis T, Stoeckel JC.** Adventitia derived nitric oxide in rat aortas exposed to endotoxin: Cell origin and functional consequences. *Am J physiol heart circ physiol.* 2000 b; 279: H2743-2751
- 63- **Kleschyov AL, Muller B, Schott JC.** Role of adventitial nitric oxide in vascular hyporeactivity induced by lipopolysaccharide in rat aorta. *Br J pharmacol* 1998; 124: 623-626
- 64- La lettre du réseau : arbres tropicaux. *Avril 1990 N° 15.P23 : 5, 6, 7*
- 65- **Lamontagne D, Koning A, Bassenge E, Busse R.** Prostacyclin and nitric oxide contribute to the vasodilator action of acetylcholine and bradykinin in the intact rabbit coronary bed. *J cardiovasc pharmacol.*1992; 20:652-7.
- 66- **Leikert J.F., Rathel T.R., Wohlfart P., Cheynier V., Vollmar A.M., Dirsch V.M.** Red wine polyphenols enhances endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation.* 2002; 106; 1614-1617.
- 67- **Leye M**(2011). Etude in vitro des propriétés vasoactives d'un extrait de gousse d'*Allium sativum*. Thèse d'exercice n° 118 UCAD.P : 34,61- 64
- 68- **Lockett et al.** Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought, Study of rural fulari, Northeastern Nigeria. *International journal of Food science and nutrition* 51: 195-208, 2000
- 69- **Luckhoff A, Pohl U, Muslsch A, Busse R.** Differential role of extra-and intracellular calcium in the release of EDRF and prostacyclin from cultured endothelial cells. *Br J pharmacol.*1988; 95: 189-196.
- 70- **Maiga A, Diallo D, Bye R, Paulsen BS,** Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. *J. Agric. Food chem.* 53(2005) 2316-2321.

71- **Mc Clintock NC, EL Tahir IM**, Hibiscus sabdariffa L, in : Grubben GJH, Denton OA. (ED), PROTA2 (Plant Ressources of tropical).

72- **Mombouli JV, Vanhoutte PM**. Endothelial dysfunction: From physiology to therapy. *J Moll Cell Cardiol* 1999; 13: 61-74.

73- **Moncada S**. Nitric oxide in the vasculature: Physiology and pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci*. 1997.

74- **Moncada S, Vane JR**. Pharmacology and endogenous roles OG prostaglandin endoperoxides thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1979; 30: 293-331

75- **Mounnissamy VM, Gunasegaran R, Gopal V, Saraswathy A**, Diuretic activity of gossypetin isolated from hibiscus sabdariffa in rats, *Hamdard medicus* 45(2)(2002) 68-70.

76- **Mungrue IN, Husain M, Stewart DJ**. The role of NOS in heart failure lessons from murine genetic models. *Heart fail Rev*. 2002; 7: 407-422

77- **Murthy KN, Yadava RBR** :indian. *J Agr Sci*, 1972; 42(10):960-961

78- **Naganawa R, Iwata N, Ishikawa K**, inhibition of microbiol growth by ajoene, a sulfure containing compound derived from garlic applied and environmental. *Microbiology* 2(1996) 4238-4167

79- **Nathan C, Xie QW**. Nitric oxide synthases: Roles, Tolls and controls cells 1994 Sep 23; 78(6): 915-8

80- **Ndiaye CAB**. Etude invitro des propriétés vasorelaxantes d'un extrait d'écorce de Parkia biglobosa. 2009 ; Thèse d'exercice à l'UCAD. P : 84-89

- 81- **Ndiaye M, Chataigneau M, Lobysheva I, Chataigneau T, Schini-Kerth VB. FASEB J.** (2005). Red wine polyphenol-induced, endothelium-dependent NO-mediated relaxation is due to the redox-sensitive PI3-kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NO-synthase in the isolated porcine coronary artery. 19(3):455-7. Epub 2004 Dec 28.
- 82- **Newby AC, Henderson AH.** Stimulus secretion coupling in vascular endothelial cells. *Annu Rev physiol.* 1990; 52: 661-74
- 83- **Orij G.** Endothelium-induced prostacyclin production in rat aortic endothelium cells: role of calcium. *Prostaglandins Luck Essent Fatty Acids.* 1999; 61: 45-49
- 84- **Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S.** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. 1987; 327:524-526.
- 85- **Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, Moncada S.** L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988b; 153: 1251-1256
- 86- **Patricia K. MD, Megan W. BS, Kristi R., Paul M., Paul K. W. MD, Jiang HeMD.** Global burden of hypertension: *analysis of worldwide (2007)* 63-65.
- 87- **Pogano PJ, Clark JK, Cifuentes-pogano ME, Clark SM, Callis GM, Quinn MT.** Localization of a constitutively active, phagocyte-like NADPH oxidase in Rabbit aortic adventitia: enhancement by angiotensin II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 14483-8
- 88- **Price DT, Vita JA, Keangy JF JR.** Redox control of vascular nitric oxide bio-availability. *Antioxid.Redox signal.* 2000; 919-935

- 89- **Prior HM, Webster N, Quinn K, Beech DJ, Yates MS.** K-induced dilation of a small renal artery: no role for inward rectifier K channels. *Cardiovasc.Res.* 1998; 37: 780-790.
- 90- **Ross R,** Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138: 419-20.
- 91- **Rubanyi GM, Vanhoutte PM.** Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor(s). *Am J physiol.* 1986.
- 92- **Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T.** Molecular characterization of endothelium receptors. *Trends pharmacol Sci;* 1992; 13: 103-8.
- 93- **Sandow, Hill.** Heterogeneity in the distribution of vascular gap junctions and connexions implication for function. Clinical and exp. *Pharmacol and and physio.* 2002; 29: 620-625.
- 94- **Sandow, Hill.** The incidence of myoendothelial gap junction in the proximal and distal mesenteric arteries of the rat is suggestive of a role in EDHF-mediated responses. *En Res,* 2000; 86: 341-346.
- 95- **Sarr B.** Etude des mécanismes impliqués dans la vasorelaxation induite par l'extrait brut d'Hibiscus sabdariffa. 2010 ; Thèse d'exercice N° 43 UCAD. P : 69-74
- 96- **Sarr M., Ngom S., Kane MO., Wellé A., Diop D., Sarr B., Guèye L., Andriantsitohaina R, Diallo AS.** In vitro mechanisms of bioactive compounds extracted from Hibiscus sabdariffa on thoracic aorta. *Nutr Metab.* 2009. 6-45.
- 97- **Schini VB, Boulanger C, Regoli D, Vanhoutte PM.** Bradykinin stimulates the production of cyclic GMP via activation of B<sub>2</sub> kinin receptors in cultured porcine aortic endothelial cells. *J pharmacol exp ther* 1990; 252: 581-585.

- 98- **Schini-Kerth VB**. Dual effects of insulin-like growth factor-I on the constitutive and inducible nitric oxide NO synthase dependent formation of NO in vascular cells. *J Endocrinol Invest*. 1999a; 22:82-88
- 99- **Schini VB, Vanhoutte PM**, Endothelin-1: a potent vasoactive peptide. *pharmacol toxicol* 1991.
- 100- **Shaul PW**. Regulation of endothelial nitric oxide synthase: location, location, location. *Annu Rev physiol*. 2002; 64: 749-74.
- 101- **Shimokawa H, Mataba T**. Hydrogene peroxide as an endothelium derived hyperpolarizing factor. *Pharmacol Res*, 2004; 49: 543-549
- 102- **Silagy Ch, Neil ha**. A Meta analysis of the effect garlic on blood plessure. *Journal of hypertension* (1994)12436-8.
- 103- **Smyth EM, Fitzgerald GA**. Human prostacyclin receptor. *Vitam horm* 2002.
- 104- **Sowa G, Lui J, Papapetropoulos A, Rex-Haffner M, Hughes TE, Sessa WC**. Trafficking of endothelial nitric oxide synthase in living cells. Quantitative evidence supporting the role of palmitaylation as a kinetic trapping mechanism limiting membrane diffusion. *J Biol chem*. 1999; 274: 22524-31.
- 105- **Touseau J** : les arbres fourragers de la zone sahelienne de l’afrique. These de doctorat vétérinaire. *Université Paul-sabatier de Toulouse*. (1973). P 125: 35, 36.
- 106- **Vanhoutte PM**, Endothelium and control of vascular function. Starte of the Art lecture. *Hypertension*, 1989; 13: 658-67
- 107- **Vanhoutte PM**. Endothelium-derived free radicals: For worse and for better. *J Clin Invers*, 2001; 107: 23-25

- 108- **Vanhoutte PM, Rimele TJ.** Role of endothelium in the control of vascular smooth muscle function. *J physiol(Paris)* 1982; 78: 681-686.
- 109- **Vanhoutte P.M.,** *Vascular Nitric Oxide*; American Heart Association, Thorac. *Cardiovasc. Surg.* 2003; 126(1): 208 - 215.
- 110- **Wong PK, Yusuf S, Ghazali HM, Che Man YB,** physicochemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L). *Nutr. Food Sci.* 32(2002) 68-73.
- 111- **Wora IVSE.** Effets vasorelaxants de l'extrait brut de *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae), Etude et mécanismes impliqués. 2008 ; these d'exercice N° 94 UCAD. P: 98, 99
- 112- [www.africa\\_plants.com/1\\_Sclerocarya\\_birrea%20.htm](http://www.africa_plants.com/1_Sclerocarya_birrea%20.htm) consulté le 20/12/13
- 113- WWW.Phytomania. Com consulté le 12/04/13
- 114- **Yamamoto Y, Fukuta H, Nakahira Y, Suzuki H.** Blockade by 18 glycyrrhetic acid of intercellular electrical coupling in guinea-pig arterioles. *J physiol.* 1998; 511:501-518
- 115- **Yamamoto Y, Imaeda K, Suzuki H.** Endo hyperpolarization and intercellular electrical coupling in guinea-pig mesenteric arteriol. *J physiol.* 1999; 514: 501-518
- 116- **Zhao G, Adebisi A, Blaskova E, Xi Q, Jaggar JH.** Type 1 inositol 1, 4, 5 triphosphate receptors mediate UTP-induced cation currents,  $Ca^{2+}$  signals, and vasoconstriction in cerebral arteries. *Am J physiol cell physiol*, 2008 Nov ; 295(5) : c 1376-84

## **SERMENT DE GALIEN**

*Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples*

*D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

*D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.*

*De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes Confrères si j'y manque.*

## **PERMIS D'IMPRIMER**

Vu :

Le président du jury

Vu :

Le Doyen.....

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, le Président de l'assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et par  
délégation

Le Doyen