

## Table des matières

Liste des tableaux.....	14
Liste des figures .....	18
Liste des abréviations.....	22
Introduction.....	24
PREMIERE PARTIE .....	30
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	30
Chapitre I : GENERALITES SUR L'INFLAMMATION ET LA DOULEUR .....	31
I.1. Mécanismes physiopathologiques de l'inflammation .....	35
I.1.1. Facteurs inflammatoires .....	35
I.1.2. Phases de la réaction inflammatoire.....	36
I.1.3. Acteurs de la réaction inflammatoire .....	37
I.1.3.1. Cellules de l'inflammation .....	37
I.1.3.1.1. Granulocytes .....	37
I.1.3.1.2. Monocytes et Macrophages.....	38
I.1.3.1.3. Lymphocytes.....	38
I.1.3.1.4. Mastocytes .....	40
I.1.3.1.5. Cellules endothéliales vasculaires .....	40
I.1.3.2. Médiateurs de l'inflammation.....	40
I.1.3.2.1. Médiateurs d'origine cellulaire .....	40
I.1.3.2.1.1. Amines vasoactives .....	40
I.1.3.2.1.2. Médiateurs lipidiques.....	41
I.1.3.2.1.3. Cytokines .....	47
I.1.3.2.1.4. Enzymes et métabolites des polynucléaires et des macrophages .....	52
I.1.3.2.1.5. Molécules d'adhérence .....	53
I.1.3.2.1.6. Facteurs de croissance .....	54
I.1.3.2.1.7. Monoxyde d'azote (NO) .....	54
I.1.3.2.2. Médiateurs d'origine plasmatique (médiateurs circulants).....	54
I.1.3.2.2.1. Système des kinines .....	55
I.1.3.2.2.2. Système du complément.....	55
I.1.3.2.2.3. Facteurs de la coagulation/fibrinoformation/ fibrinolyse.....	56
I.2. Physiologie de la douleur.....	56

<b>I.2.1. Mécanismes périphériques impliqués dans la nociception : de la périphérie à la moelle</b> .....	<b>58</b>
I.2.1.1. Les nocicepteurs et fibres nociceptives .....	59
I.2.1.2. Médiateurs et récepteurs périphériques de la douleur .....	60
I.2.1.2.1. Médiateurs biochimiques périphériques .....	60
I.2.1.2.2. Nocicepteurs "peptidergiques" et "non peptidergiques" .....	63
I.2.1.2.3. Récepteurs élémentaires localisés sur les nocicepteurs .....	64
I.2.1.2.3.1. Les récepteurs vanilloïdes .....	64
I.2.1.2.3.2. Les récepteurs à la bradykinine B1 et B2 .....	66
I.2.1.2.3.3. Les récepteurs de l'ATP : récepteurs purinergiques .....	66
I.2.1.2.3.4. Les récepteurs à l'acidité .....	67
I.2.1.3. Transmission des influx nociceptifs .....	67
I.2.1.3.1. Canaux sodiques dépendant du voltage .....	68
I.2.1.3.2. Canaux calciques dépendant du voltage .....	69
<b>I.2.2. Mécanismes spinaux de la nociception</b> .....	<b>69</b>
I.2.2.1. Projections spinales des fibres périphériques .....	69
I.2.2.2. Neurones de la corne dorsale de la moelle .....	70
I.2.2.3. Libération de neuromédiateurs et de neuromodulateurs dans la moelle .....	71
I.2.2.3.1. Récepteurs présynaptiques .....	73
I.2.2.3.2. Effets des acides aminés excitateurs .....	73
I.2.2.3.3. Effets des peptides .....	75
I.2.2.4. Rôle des cellules gliales .....	75
<b>I.2.3. De la moelle au cerveau : mécanismes centraux</b> .....	<b>76</b>
I.2.3.1. Transfert de l'influx nociceptif vers l'encéphale .....	76
I.2.3.1.1. Faisceau spinothalamique .....	77
I.2.3.1.2. Faisceau spinoréticulaire .....	78
I.2.3.1.3. Faisceaux spino- (ponto-) mésencéphaliques .....	78
I.2.3.2. Traitement des influx nociceptifs dans l'encéphale .....	78
I.2.3.2.1. Relais thalamiques .....	79
I.2.3.2.2. Relais réticulaires .....	79
I.2.3.2.3. Relais bulbaires, pontiques et mésencéphaliques .....	79
I.2.3.2.4. Relais corticaux .....	80
<b>I.2.4. Mécanismes de contrôle physiologique de la douleur</b> .....	<b>80</b>
I.2.4.1. Contrôles segmentaires spinaux .....	80

I.2.4.2. Contrôles d'origine supraspinale.....	83
I.2.4.3. Contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN) .....	84
<b>I.2.5. Classification des différents types de douleur .....</b>	<b>85</b>
I.2.5.1. Douleur physiologique .....	85
I.2.5.2. Douleur inflammatoire.....	86
I.2.5.3. Douleur neuropathique.....	86
<b>I.3. Inflammation, douleur et maladies .....</b>	<b>88</b>
<b>I.3.1. Inflammation et douleur .....</b>	<b>88</b>
<b>I.3.2. Les pathologies inflammatoires chroniques .....</b>	<b>92</b>
I.3.2.1. La polyarthrite rhumatoïde (PR).....	92
I.3.2.1.1. Causes.....	93
I.3.2.1.2. Mécanismes cellulaires impliqués.....	94
I.3.2.2. La maladie de Crohn.....	95
I.3.2.2.1. Etiologie.....	95
I.3.2.2.2. Mécanismes mis en jeu .....	96
<b>I.3.3. Inflammation et maladies chroniques.....</b>	<b>98</b>
I.3.3.1. Inflammation chronique et athérosclérose .....	98
I.3.3.1.1. Définition.....	99
I.3.3.1.2. Formation de la plaque d'athérome .....	99
I.3.3.1.3. Médiateurs pro-inflammatoires impliqués .....	100
I.3.3.1.4. Inflammation et hypertension .....	103
I.3.3.2. Inflammation, obésité, résistance à l'insuline et diabète de type 2 .....	103
I.3.3.2.1. Définition.....	104
I.3.3.2.2. Mécanismes.....	105
I.3.3.3. Inflammation et cancer .....	107
I.3.3.3.1. Rôles des cytokines pro-inflammatoires .....	109
I.3.3.3.2. Rôles des chémokines .....	111
I.3.3.3.3. Rôles de la COX-2 et du PGE2.....	111
I.3.3.3.4. Rôles de la 5-Lipoxygénase (5-LOX).....	113
I.3.3.3.5. Rôles de la NO-synthase inductible (iNOS) et du monoxyde d'azote (NO).....	113
I.3.3.3.6. Rôles du NF-κB.....	114
I.3.3.3.7. Rôles des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives du nitrosol (ERN) .....	116
I.3.3.4. Inflammation et maladies neurodégénératives .....	116

I.3.3.4.1.	Inflammation et maladie d'Alzheimer.....	117
I.3.3.4.2.	Inflammation et maladie de Parkinson .....	118
I.3.3.4.3.	Inflammation et sclérose amyotrophique latérale .....	120
I.3.3.4.4.	Inflammation et sclérose en plaque.....	122
Chapitre II : MODELES D'ETUDE DE LA DOULEUR ET DE L'INFLAMMATION.....		124
II.1.	Evaluation de la douleur aiguë.....	125
II.1.1.	Modèles <i>in vivo</i> d'évaluation de l'activité analgésique d'origine centrale.....	125
II.1.1.1.	Test du retrait de la queue (Tail-flick test).....	125
II.1.1.1.1.	Test de retrait de la queue utilisant la chaleur radiante.....	126
II.1.1.1.2.	Test de retrait après immersion de la queue.....	127
II.1.1.2.	Test de la plaque chauffante (Hot-plate test).....	127
II.1.1.3.	Test au formol chez le rat (Formalin test on rat) .....	129
II.1.2.	Modèles <i>in vivo</i> d'évaluation de l'activité analgésique périphérique.....	131
II.1.2.1.	Test de contorsions induit par l'acide acétique chez la souris (Writhing test) .....	131
II.1.2.2.	Test de pression de la patte chez le rat (Randall-Selitto test).....	132
II.2.	Evaluation de la douleur chronique chez l'animal d'expérience .....	133
II.2.1.	L'arthrite chronique induite par l'adjuvant de Freund chez le rat .....	133
II.2.2.	Modèles animaux de douleurs neuropathiques.....	134
II.2.2.1.	Modèles chimiotoxiques .....	134
II.2.2.2.	Les modèles lésionnels.....	135
II.3.	Modèles animaux <i>in vivo</i> d'évaluation de l'activité anti- inflammatoire.....	136
II.3.1.	Erythème cutané aux UV chez le cobaye.....	137
II.3.2.	Test de perméabilité vasculaire .....	138
II.3.3.	Test de l'œdème de l'oreille à l'huile de croton chez la souris .....	139
II.3.4.	Test de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine .....	140
II.3.5.	Granulome à la laine de coton .....	140
Chapitre III : LPP-03-2017 (ANNONACEAE) : REVUE PHYTOCHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE.....		142
III.1.	Description botanique de LPP-03-2017.....	143
III.1.1.	Classification scientifique .....	143
III.1.2.	Appellations locales.....	143
III.1.3.	La plante .....	144
III.1.4.	Les feuilles .....	144

III.1.5. La fleur.....	144
III.1.6. Le fruit .....	144
III.1.7. Le cycle végétatif .....	145
<b>III.2. Utilisations.....</b>	<b>145</b>
III.2.1. Alimentaire.....	145
III.2.2. En médecine traditionnelle .....	145
III.2.3. Autres utilisations.....	147
<b>III.3. Phytochimie de LPP-03-2017.....</b>	<b>148</b>
III.3.1. Composition phytochimique de LPP-03-2017.....	148
III.3.2. Molécules isolées de LPP-03-2017 .....	149
III.4. Propriétés pharmacologiques de LPP-03-2017 .....	150
III.4.1. Activité anti-diarrhéique .....	150
III.4.2. Activité anti-convulsivante .....	150
III.4.3. Activité anti-infectieuse .....	151
III.4.3.1. Activité antibactérienne.....	151
III.4.3.2. Activité antifongique .....	152
III.4.3.3. Activité antiparasitaire .....	152
III.4.4. Activité antioxydante .....	153
III.4.5. Activité antivenimeuse.....	153
III.4.6. Activité cytotoxique .....	154
III.4.7. Activité insecticide .....	154
III.4.8. Activité anti-nociceptive.....	155
III.4.9. Activité anti-inflammatoire .....	155
III.4.10. Action sur la fertilité.....	156
<b>III.5. Toxicologie.....</b>	<b>156</b>
<b>DEUXIEME PARTIE.....</b>	<b>158</b>
<b>ETUDES EXPERIMENTALES.....</b>	<b>158</b>
<b>Matériels et méthodes .....</b>	<b>159</b>
<b>Matériels.....</b>	<b>160</b>
I.1. Matériel végétal .....	161
I.2. Matériel animal .....	161
I.3. Matériels et réactifs de laboratoire .....	161
I.3.1. Matériels et réactifs d'extraction .....	161

I.3.2. Matériels et réactifs pour le test d'inhibition de la phospholipase A <sub>2</sub> sécrétée (sPLA <sub>2</sub> ) ...	162
<b>Méthodes</b> .....	<b>164</b>
II.1. Préparation des extraits et fractions.....	165
II.2. Caractérisation des extraits et fractions par chromatographie sur couche mince (CCM) et sur tube .....	165
II.3. Etudes pharmacologiques .....	167
II.3.1. Evaluation <i>in vivo</i> des drogues .....	167
II.3.2. Evaluation <i>in vitro</i> : Test d'inhibition de la Phospholipase A <sub>2</sub> (PLA <sub>2</sub> ) .....	171
<b>Résultats</b> .....	<b>175</b>
III.1. Phytochimie des extraits et fractions de poudre de feuilles de LPP-03-2017 .....	176
III.1.1. Caractérisations par CCM de l'extrait E-101, de la fraction F-101 et des fractions F-101-1, F-101-2, F-101-3, F-101-4 et F-101-5.....	176
III.1.2. Caractérisation des fractions F-104 et F-105 de L'extrait E-102 de feuilles de LPP-03-2017 .....	176
III.1.3. Caractérisation de la fraction F-106 de feuilles de LPP-03-2017 .....	179
III.2. Etude <i>in vivo</i> de l'activité anti-inflammatoire et analgésique de feuilles de LPP-03-2017 .	181
III.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles de LPP-03- 2017 .....	181
III.2.2. Evaluation de l'activité analgésique de feuilles de LPP-03-2017 sur la douleur à l'acide acétique chez la souris .....	194
III.3. Effet de la fraction F-104 de l'extrait E-101 du MARC l'œdème inflammatoire à la carraghénine .....	196
III.4. Etude <i>in vivo</i> de l'activité anti-inflammatoire et analgésique de la fraction hydrométhanolique de E-101 de feuilles de LPP-03-2017.....	198
III.4.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	198
III.4.2. Evaluation de l'activité analgésique de la fraction F-106 de feuilles de LPP-03-2017 sur la douleur à l'acide acétique chez la souris .....	202
III.5. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire de feuilles de LPP-03-2017 : inhibition de la sPLA <sub>2</sub> .....	204
<b>Discussion</b> .....	<b>206</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>213</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>218</b>
<b>Webographie</b> .....	<b>234</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>236</b>
<b>Annexe 1 : Tableaux</b> .....	<b>237</b>
<b>Annexe 2 : Publication</b> .....	<b>266</b>

Annexe 3 : Communications .....272



## Liste des tableaux



## Liste des tableaux

Tableau I : Principaux composés phytochimiques caractérisés à partir de différentes parties de LPP-03-2017 (ANNONACEAE) .....	148
Tableau II : Solvants et témoins de caractérisation de constituants phytochimiques de feuilles de LPP-03-2017 par chromatographie sur couche mince .....	166
Tableau III : Tableau récapitulatif des différents lots et doses utilisés pour l'évaluation <i>in vivo</i> de l'activité anti-inflammatoire .....	169
Tableau IV : Tableau récapitulatif des différents lots et doses utilisés pour l'évaluation <i>in vivo</i> de l'activité analgésique .....	171
Tableau V : Tableau récapitulatif des différents lots et doses utilisés pour l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire .....	174
Tableau VI : Récapitulatif de la caractérisation des différents extraits et fractions de feuilles de LPP-03-2017 .....	181
Tableau VII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration de l'eau physiologique (10 mL/kg, per os) .....	238
Tableau VIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de l'acide acétylsalicylique (1 mg/kg) .....	238
Tableau IX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de l'acide acétylsalicylique (10 mg/kg) .....	239
Tableau X : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de l'acide acétylsalicylique (30 mg/kg) .....	239
Tableau XI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de l'acide acétylsalicylique (100 mg/kg) .....	240
Tableau XII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de bétaméthasone (300 µg/kg) .....	240
Tableau XIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de bétaméthasone (1 mg/kg) .....	241
Tableau XIV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de bétaméthasone (3 mg/kg) .....	241
Tableau XV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de E-101 (30 mg/kg) .....	242
Tableau XVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de E-101 (100 mg/kg) .....	242
Tableau XVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de E-101 (300 mg/kg) .....	243
Tableau XVIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101 (1 mg/kg) .....	243
Tableau XIX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101 (3 mg/kg) .....	244
Tableau XX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101 (10 mg/kg) .....	244
Tableau XXI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101 (30 mg/kg) .....	245
Tableau XXII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-102 (10 mg/kg) .....	245

Tableau XXIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-103 (1 mg/kg).....	246
Tableau XXIV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-103 (3 mg/kg).....	246
Tableau XXV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-103 (10 mg/kg).....	247
Tableau XXVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-103 (30 mg/kg).....	247
Tableau XXVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-1 (1 mg/kg) .....	248
Tableau XXVIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-2 (1 mg/kg) .....	248
Tableau XXIX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-3 (1 mg/kg).....	249
Tableau XXX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-4 (300 µg/kg).....	249
Tableau XXXI :Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-4 (1 mg/kg).....	250
Tableau XXXII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-4 (3 mg/kg) .....	250
Tableau XXXIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de F-101-5 (1 mg/kg) .....	251
Tableau XXXIV : Effet de l'eau physiologique (10 mL/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	252
Tableau XXXV : Effet de l'AAS (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris....	252
Tableau XXXVI : Effet de l'AAS (30 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris.	252
Tableau XXXVII Effet de l'AAS (100 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris	253
Tableau XXXVIII : Effet de la bétaméthasone (300 µg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	253
Tableau XXXIX : : Effet de F-101 (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris	253
Tableau XL : Effet de F-101 (3 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris.....	254
Tableau XLI : Effet de F-101 (10 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris....	254
Tableau XLII : Effet de F-101-4 (300 µg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris	254
Tableau XLIII Effet de F-101-4 (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique.....	255
Tableau XLIV : Effet de F-101-4 (3 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique.....	255
Tableau XLV : Variations de l'œdème inflammatoire de la patte de rat après administration <i>per os</i> de l'eau physiologique (10 ml/kg) .....	256
Tableau XLVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de l'acide acétylsalicylique (10 mg/kg) .....	256
Tableau XLVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-104 (3 mg/kg).....	257
Tableau XLVIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-104 (10 mg/kg).....	257
Tableau XLIX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-104 (30 mg/kg) .....	258

---

Tableau L : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-105 (3 mg/kg).....	258
Tableau LI: Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106 (300 µg/kg).....	259
Tableau LII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106 (1 mg/kg).....	259
Tableau LIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106 (3 mg/kg).....	260
Tableau LIV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106 (10 mg/kg).....	260
Tableau LV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106-ST.....	261
Tableau LVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106-ST.....	261
Tableau LVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration <i>per os</i> de la F-106-ST.....	262
Tableau LVIII : Effet de l'eau physiologique (10 mL/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris.....	263
Tableau LIX : Effet de l'AAS (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	263
Tableau LX Effet de l'AAS (100 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	263
Tableau LXI : Effet de la F-106 (1 mg/kg, <i>per os</i> ) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	264
Tableau LXII : Effet de la F-106 (3 mg/kg, <i>per os</i> ) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	264
Tableau LXIII : Effet de la F-106-ST 1 mg/kg, <i>per os</i> sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	264
Tableau LXIV : Effet de la F-106-ST 3 mg/kg, <i>per os</i> sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .....	265
Tableau LXV : Effet inhibiteur des fractions F-101 et F-101-4 des feuilles de LPP-03-2017 .....	265

## Liste des figures

## Liste des figures

Figure 1 : Réaction inflammatoire : Origines et Conséquences (Prin, et al., 2006) .....	34
Figure 2 : Métabolisme de l'acide arachidonique par la voie des cyclooxygénases (King, 2016) .....	44
Figure 3 : Métabolisme de l'acide arachidonique par la voie des lipoxygénases (King, 2016) .....	45
Figure 4 : Structure chimique des prostanoïdes (Katzung, et al., 2012) .....	46
Figure 5 : Structure chimique des leucotriènes (Katzung, et al., 2012) .....	46
Figure 6 : Voies nerveuses sensorielles.....	57
Figure 7 : Récepteurs, nociception et inflammation (Le Bars & Adam, 2002).....	61
Figure 8 : Récepteur à la capsaïcine (VR-1) (Le Bars & Adam, 2002) .....	65
Figure 9 : Libération de neuromédiateurs et de neuromodulateurs par les terminaisons centrales des fibres afférentes primaires (Le Bars & Adam, 2002) .....	72
Figure 10 : Récepteurs glutamatergiques (Le Bars & Adam, 2002) .....	74
Figure 11 : Représentation schématique des voies somesthésiques ascendantes et des contrôles inhibiteurs descendants issus du tronc cérébral (Adam, 2014) .....	77
Figure 12 : Schéma de la "théorie du portillon" ("gate control theory") tel que proposé par Melzack et Wall en 1965.....	82
Figure 13 : Schéma révisé de la "théorie du portillon" (Wall, 1978).....	82
Figure 14 : Boucle de rétroaction négative spinobulbospinale sous-tendant un système analgésique endogène mis en jeu par des stimulations nociceptives.....	83
Figure 15 : Représentation schématique des contrôles inhibiteurs issus du tronc cérébral qui s'exercent sur la transmission spinale des messages nociceptifs .....	84
Figure 16 : Représentation schématique des évènements cellulaires intervenant au cours de la polyarthrite rhumatoïde (Hellal, 2007) .....	94
Figure 17 : Représentation schématique des évènements cellulaires intervenant au cours de la maladie de Crohn (Hellal, 2007) .....	97
Figure 18 : Représentation schématique des différentes étapes de la formation de la strie lipidique (Tedgui & Mallat, 2001).....	100
<b>Figure 19 : Rôles pro-athérogènes des cytokines pro-inflammatoires</b> (Tedgui & Mallat, 2001).....	102
Figure 20 : Interactions entre cellules inflammatoires et cellules musculaires lisses dans la chape fibreuse de la plaque d'athérosclérose (Tedgui & Mallat, 2001) .....	102
Figure 21 : Voies de signalisation inflammatoire liant l'excès de nutriments à la résistance à l'insuline (Odegaard & Chawla, 2013) .....	106
Figure 22 : Mécanismes liant obésité abdominale et syndrome métabolique (Emanuela, et al., 2012) .....	107
Figure 23 : Différents visages de l'inflammation et son rôle dans la tumorigénèse (Bharat, et al., 2006) .....	109
Figure 24 : Rôle de la COX-2 et des PGs dans la carcinogénèse induite par l'inflammation (Kundu, 2008).....	112
Figure 25 : Cancer : Inflammation comme forme motrice.....	116
Figure 26 : Inflammation dans la maladie d'Alzheimer (Glass, et al., 2010) .....	118
Figure 27 : Inflammation dans la maladie de Parkinson (Glass, et al., 2010) .....	119
Figure 28 : inflammation dans la sclérose amyotrophique latérale (Glass, et al., 2010) .....	121
Figure 29 : Inflammation dans la sclérose en plaque (Glass, et al., 2010) .....	123
Figure 30 : Modèle de test de retrait de la queue .....	125
Figure 31 : Modèle de plaque chauffante .....	128

Figure 32 : Algimètre : Modèle de Randall-Selitto .....	132
Figure 33 : Animaux de laboratoire utilisés (a : rats ; b : souris).....	163
Figure 34 : Pléthysmomètre à eau (APELEX 05-7150).....	170
Figure 35 : Pied à coulisse digital .....	170
Figure 36 : Principe de détermination du pourcentage d'inhibition de la sPLA <sub>2</sub> .....	173
Figure 37 : Plaque de CCM des tanins, alcaloïdes, flavonoïdes et stéroïdes/triterpènes des extraits et fractions de feuilles de LPP-03-2017 .....	177
Figure 38 : Plaque de CCM des tanins, des alcaloïdes et des flavonoïdes de la fraction F-104 de l'extrait E-102 de feuilles de LPP-03-2017 .....	178
Figure 39 : Caractérisation sur tube des stéroïdes et des triterpènes de la fraction F-104 de l'extrait E-102 de feuilles de LPP-03-2017 .....	178
Figure 40 : Caractérisation phytochimique de la fraction F-106.....	180
Figure 41 : Effet de l'AAS administré <i>per os</i> sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	183
Figure 42 : Effet de la Bétaméthasone administrée <i>per os</i> sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	183
Figure 43 : Effet de E-101 de feuilles de LPP-03-2017 administré <i>per os</i> sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat.....	184
Figure 44 : Effet de la F-101 de l'extrait E-101 des feuilles de LPP-03-2017 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat.....	186
Figure 45 : Comparaison des effets de F-101 (3 mg/kg) de feuilles de LPP-03-2017 à ceux de l'AAS et du E-101 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	186
Figure 46 : Effet de la fraction F-103 de feuilles de LPP-03-2017 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	188
Figure 47 : Effet des fractions filles F-101-1, F-101-2 et F-101-3 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	190
Figure 48 : Effet de la fraction F-101-4 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	191
Figure 49 : Effet de la F-101-4 (1 mg/kg) sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	192
Figure 50 : Effet de la F-101-5 (1 mg/kg) sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	193
Figure 51 : Effet de la F-101 sur la douleur induite par l'acide acétique .....	195
Figure 52 : Effet de la F-101-4 de la F-101 sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris .	196
Figure 53 : Effet de la fraction F-104 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat .....	198
Figure 54 : Effet de la fraction F-106 de l'extrait E-103 administrée <i>per os</i> sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat.....	199
Figure 55 : Effet de la F-106-ST sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat ...	200
Figure 56 : Comparaison de la prévention de l'œdème inflammatoire entre F-106 et F-106-ST à la dose de 3 mg/kg après administration de la carraghénine chez le rat.....	201
Figure 57 : Comparaison de la prévention de l'œdème inflammatoire entre F-106 et F-106-ST à la dose de 10 mg/kg après administration de la carraghénine chez le rat.....	201
Figure 58 : Effet de la F-106 sur la douleur induite par l'acide acétique .....	203
Figure 59 : Effet de la F-106-ST sur la douleur induite par l'acide acétique .....	204
Figure 60 : Inhibition de la sPLA <sub>2</sub> par F-101 et F-101-4 .....	205

Figure 61 : Mécanismes d'action possibles des composés de feuilles de LPP-03-2017 (ANNONACEAE) ..... 216

Rapport-Gratuit.com

## Liste des abréviations



## Liste des abréviations

**EGF** : Epidermal Growth Factor

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**FAS-L** : Fas Ligand

**FGF** : Fibroblast growth factor

**HIF-1 $\alpha$**  : Hypoxia-inducible factor 1-alpha

**IFN- $\gamma$**  : Interféron- $\gamma$

**IL** : Interleukine

**LT** : Leucotriène

**LTB<sub>4</sub>** : Leucotriènes B<sub>4</sub>

**MIP-1 $\alpha$**  : Macrophage Inflammatory Proteins

**PAF** : Platelet Activating Factor (facteur d'activation plaquettaire)

**PDGF** : Platelet-derived growth factor

**PG** : Prostaglandine

**PGI<sub>2</sub>** : prostacycline

**PNN** : Polynucléaires neutrophiles

**PSNI** : Partial sciatic nerve injury

**SNL** : Spinal nerve ligation

**sPLA<sub>2</sub>** : Secretory Phospholipase A<sub>2</sub>

**TGF- $\beta$**  : Transforming Growth Factor bêta

**Thp** : cellules T helper precursors

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**TXA<sub>2</sub>** : thromboxane A<sub>2</sub>

**TXB<sub>2</sub>** : thromboxane B<sub>2</sub>

**5-HPETE** : acide 5-hydroperoxyéicosatétraénoïque

# Introduction

Depuis l'antiquité, soulager les souffrances physiques et morales a toujours été la mission fondamentale de la médecine (Lazorthes, 2010).

Dans l'avant-propos de son article "Inflammation et anti-inflammatoires" Galanaud (Galanaud, 2003) se questionnait sur le nombre de patients qui a eu à s'autoprescrire un traitement anti-inflammatoire à base d'aspirine, l'un des plus anciennement connus parmi les médicaments efficaces. Il se demandait également s'il existait des étudiants ignorant les signes cardinaux de l'inflammation, inchangés depuis la médecine hippocratique.

Ces constats montrent l'importance des syndromes inflammatoire et douloureux très fréquemment rencontrés en pratique courante, 25 à 30 % des patients ambulatoires ou hospitalisés (Prin, et al., 2006).

Au XVII<sup>e</sup> siècle, Descartes réfléchissant sur les douleurs fantômes disait : "La douleur fait arriver à la conscience la vie intérieure du corps qui autrement resterait cachée au malade et au médecin" (Larsonneur, 2017). La douleur est donc considérée comme participant à une fonction protectrice, un signal d'alarme, à la suite d'une lésion ou d'un traumatisme d'un tissu périphérique de l'organisme engendrant une réaction de défense inflammatoire (Calvino, 2007).

L'inflammation constitue un processus biologique crucial pour le maintien de l'homéostasie du corps. Elle est indispensable pour lutter efficacement contre les agents pathogènes et pour la réparation des tissus endommagés (Fürst & Zündorf, 2014). Les voies de l'inflammation systémique ont été reconnues comme une composante essentielle de la pathogenèse de différentes maladies multifactorielles regroupant les rhumatismes inflammatoires chroniques, ainsi qu'une grande variété de facteurs de risque incluant le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, le cancer, l'obésité, l'asthme et le vieillissement cellulaire (Scrive, et al., 2011).

Ces syndromes, même s'ils représentent une fonction d'alarme indispensable à la survie de l'organisme agressé, peuvent se révéler dangereux (Galanaud, 2003; Le

Bars & Willer, 2004). Leur prise en charge nécessitera alors l'utilisation de médicaments classiquement appelés anti-inflammatoires et antalgiques.

La thérapeutique anti-inflammatoire, destinée à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique, utilise des anti-inflammatoires, stéroïdiens et non stéroïdiens, employés dans tous les domaines de la pathologie. Ils appartiennent à des classes chimiques différentes les unes des autres et sont souvent doués en outre d'une activité antipyrétique et antalgique (Muster, 2005; Talbert, et al., 2009; Orliaguet, et al., 2013).

De plus en plus, la prise en charge médicamenteuse des pathologies associe des méthodes alternatives provenant de pratiques ancestrales comme, la médecine traditionnelle ou médecine non conventionnelle ou encore médecine complémentaire (OMS, 2014).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), considère que la médecine traditionnelle constitue soit le mode principal de prestation de soins de santé, soit un complément à ce dernier (OMS, 2014). Les motivations peuvent différer d'une zone à une autre. En Afrique, où les services de santé qui s'appuient sur la médecine conventionnelle sont, dans l'ensemble, peu disponibles et/ou peu accessibles, la médecine traditionnelle constitue l'une des sources premières de soins de santé. On y dénombre 1 tradipraticiens pour 500 personnes, contre 1 médecin pour 40 000 personnes. En milieu rural, les tradipraticiens locaux restent donc les prestataires de santé de millions d'individus (Abdullahi, 2011). Dans des pays comme Singapour et la République de Corée, les raisons sont culturelles et historiques. Leur système de soins de santé conventionnel est relativement bien établi, malgré un recours encore courant à la médecine traditionnelle. Enfin, en Amérique du Nord et dans une grande partie de l'Europe où la structure du système de santé est en général mature, la médecine traditionnelle est utilisée comme thérapie complémentaire (OMS, 2014). Et donc quelque soit le motif, l'utilisation de la médecine traditionnelle est effective et doit être efficace et sécurisée.

Ainsi, les produits naturels jouent un rôle déterminant dans la découverte de pistes menant au développement de médicaments pour le traitement des maladies humaines. En effet, ils représentent une grande diversité structurale qui n'est pas couramment observée dans les composés synthétiques. Il a été rapporté que sur les 1184 nouvelles entités chimiques déclarées entre janvier 1981 et juin 2006, 60 % des molécules proviennent de produits naturels ou sont à base de produits naturels (Newman & Cragg, 2007). Les plantes ont été la base de nombreux systèmes de médecine traditionnelle dans le monde entier depuis des milliers d'années et continuent de fournir à l'humanité de nouveaux remèdes (Jachak & Saklani, 2007).

L'Afrique réputée pour la richesse de sa flore végétale, montre un grand intérêt pour la valorisation scientifique d'extraits de plantes présentant un intérêt en thérapeutique. Cette valorisation a suscité beaucoup de travaux de recherche universitaire sur le plan botanique, chimique, pharmacologique et toxicologique qui ont permis d'expliquer certaines utilisations traditionnelles, et a abouti dans certains pays, au développement de médicaments traditionnels améliorés (MTA) (Pousset, 2006).

Ainsi, sur le soulagement de la douleur et de l'inflammation par la médecine traditionnelle, plusieurs archives existent. Depuis très longtemps, de nombreuses personnes souffrant d'inflammation ont été traitées avec des produits phytochimiques. Ceci a été évident à partir de la découverte du premier médicament anti-inflammatoire, analgésique, l'aspirine. L'aspirine dont la découverte était basée sur les propriétés antalgique et antipyrétique connues de l'écorce du saule depuis 400 ans avant JC par les Grecs et les Romains, a été en 1899, le premier médicament puissant pour traiter les maladies rhumatismales (Vane, 1971).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de plantes de la pharmacopée africaine et porte sur les feuilles de LPP-03-2017 (ANNONNACEAE), plante très utilisée en médecine traditionnelle africaine dans la prise en charge de nombreuses pathologies. Ses différentes parties (racines, écorces de tronc, feuilles, rameaux feuillés) sont utilisées par les praticiens de la médecine traditionnelle comme

antalgique et anti-inflammatoire, anti-infectieux, cicatrisant, antidiarrhéique, antihémorragique et antipyrétique (Boullard, 2001). Le choix de cette plante est conforté par l'utilisation ancienne de son fruit et de ses feuilles comestibles, qui entrent dans certaines préparations culinaires et dans l'alimentation du bétail (Arbonnier, 2009).

Des travaux préliminaires effectués au Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université cheikh Anta DIOP (UCAD) de DAKAR avaient permis de mettre en évidence une activité anti-inflammatoire de l'extrait E-101 de feuilles de LPP-03-2017 (ANNONACEAE) dans la prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine chez le rat (Lo Fall, 2010).

La présente étude avait pour objectifs de :

- Fractionner par séparation liquide-liquide les composés de l'extrait E-101 de feuilles de LPP-03-2017 ;
- Séparer les composés de la fraction F-101 par chromatographie d'exclusion diffusion sur gel de sephadex ;
- Procéder à la caractérisation phytochimique des différents extraits et fractions obtenus ;
- Evaluer les activités anti-inflammatoire et analgésique des extraits et fractions sur des modèles animaux d'œdème inflammatoire à la carraghénine chez le rat et de douleur à l'acide acétique chez la souris ;
- Identifier *in vitro*, le mécanisme anti-inflammatoire des fractions obtenues.

Ce mémoire est subdivisé en deux parties :

- Une première partie qui portera sur une revue bibliographique de l'inflammation, de la douleur et de leurs modes d'étude mais aussi sur l'étude phytochimique et pharmacologique de LPP-03-2017 ;

- Une deuxième partie, qui est consacrée à l'étude du mécanisme d'action anti-inflammatoire et analgésique des extraits et fractions de feuilles de LPP-03-2017 par une approche *in vivo* et *in vitro*.

**PREMIERE PARTIE**

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**



**Chapitre I : GENERALITES SUR L'INFLAMMATION ET  
LA DOULEUR**

L'inflammation ou réaction inflammatoire est une réponse physiologique de défense, immédiate et transitoire des tissus vivants vascularisés, déclenchée par toute lésion cellulaire ou tissulaire, quel qu'en soit le mécanisme infectieux, chimique, traumatique, immunitaire etc. (Bannwarth, 2007; Collège Français des Pathologistes (CoPath), 2012).

La réaction inflammatoire est, le plus souvent, une réponse adaptée strictement contrôlée par de multiples systèmes régulateurs. Elle est généralement protectrice en participant aux processus de défense naturelle et à la réparation des tissus lésés. On parle de réponse inflammatoire aiguë, voire subaiguë pouvant durer quelques minutes à quelques jours. C'est l'exemple des états infectieux sévères, des pancréatites aiguës, du syndrome d'écrasement, des brûlures, des formes graves d'ischémie. La réponse inflammatoire peut persister pendant des semaines voire des années. On parle dans ce cas de réponse inflammatoire chronique. La réaction inflammatoire devient alors délétère à l'organisme et doit être contrôlée sous l'effet d'un traitement (Prin, et al., 2006; Boue, 2007; Mathieu & Guimezanes, 2011).

La réponse inflammatoire se décompose principalement en quatre phases d'événements complexes et intriqués : l'initiation, la progression ou amplification et la résolution/réparation (Raymondjean, 2007). L'initiation fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et met en jeu des effecteurs primaires, l'amplification mobilise et active des effecteurs secondaires et la résolution/réparation tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé (Prin, et al., 2006; Boue, 2007).

Ces différentes phases mettent en action différents systèmes d'adaptation résultant de mécanismes immunitaires et endocriniens et impliquent de multiples médiateurs. La nature du développement de chacune de ces phases et la nature des effecteurs primaires et secondaires impliqués (cellules résidentes et recrutées ; médiateurs préformés et néoformés) conditionnent le profil d'expression clinique et

biologique de la réponse inflammatoire, aiguë ou chronique, locale ou systémique, protectrice ou délétère.

Au plan clinique, la réaction inflammatoire peut se traduire par des signes locaux (douleur, rougeur, chaleur, œdème) ou généraux (fièvre, amaigrissement, asthénie...) (Prin, et al., 2006; Boue, 2007) (**Figure 1**).

Tout comme l'inflammation, la douleur au niveau des systèmes sensoriels est un processus physiologique remplissant d'abord une fonction d'alarme, avertissant le sujet qu'un stimulus dit "nociceptif" menace son intégrité physique (Le Bars & Willer, 2004). Ce stimulus entraîne la mise en jeu de mécanismes de défense visant à sauvegarder l'intégrité de l'organisme. Ce dernier va procéder à la localisation et à la mesure de l'intensité du stimulus (caractère sensori-discriminatif), à travers des composantes affective, cognitive (modification de l'attention, anticipation, mémorisation), des réactions motrice, verbale, végétative (tachycardie, hypertension, etc.). Il s'agit de la douleur aiguë ou "douleur-symptôme" (Guirimand, 2003; Meunier, et al., 2004). Cependant, comme toutes autres fonctions de l'organisme, ce système peut subir des dérèglements. C'est ce qui est observé lors d'un excès de nociception ou d'une lésion neurologique sur les voies nociceptives qui entraîne des modifications plus ou moins réversibles du système nociceptif. Au cours du temps, le symptôme initial "douleur aiguë" se transforme ; les mécanismes biochimiques et électrophysiologiques évoluent continuellement. Après plusieurs mois d'évolution, il peut passer à la chronicité ou "douleur-maladie" du fait de facteurs neurophysiologiques, psychologiques, comportementaux et sociaux (Guirimand, 2003; Meunier, et al., 2004).

L'Association internationale pour l'étude de la douleur communément appelée IASP (International Association Study of Pain) la définit comme "une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à un dommage tissulaire réel ou potentiel, ou décrite en termes d'un tel dommage" (Vuillet-A-Ciles & Billet, 2013). Elle représente plus de 90 % des causes de consultations. Ce qui fait dire à certains

auteurs que comprendre, prévenir, guérir la maladie mais aussi comprendre, prévenir et soulager la douleur constituent les deux fondements de la médecine (Le Bars & Willer, 2004).

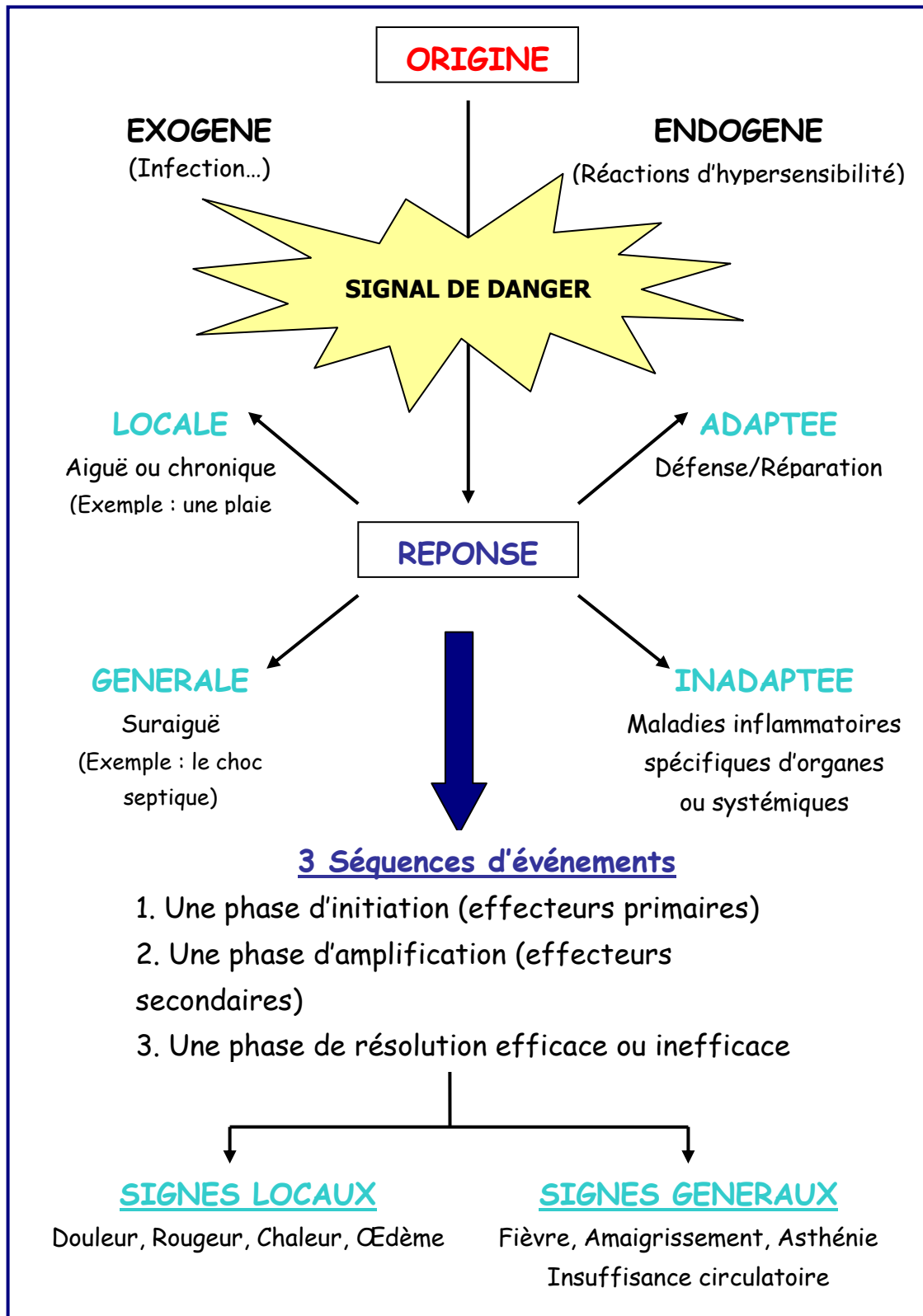


Figure 1 : Réaction inflammatoire : Origines et Conséquences (Prin, et al., 2006)

L'inflammation et donc la douleur jouent un rôle dans un grand nombre d'états pathologiques allant de l'anémie à l'allergie, en passant par les maladies cardiovasculaires, les maladies neuro-dégénératives ou les accidents cérébro-vasculaires, sans oublier les pathologies articulaires et les maladies métaboliques, infectieuses et cancéreuses (Nutranews, 2003; Dandona, et al., 2004; Karin, et al., 2006).

La suite du chapitre sera essentiellement axée sur les mécanismes physiopathologiques de l'inflammation, de la douleur et des interactions entre ces mécanismes.

### I.1. Mécanismes physiopathologiques de l'inflammation

#### I.1.1. Facteurs inflammatoires

L'inflammation peut résulter d'étiologies multiples. Il peut s'agir d'agents pathogènes exogènes et endogènes, dont le mode d'action n'est pas univoque (Rousselet, et al., 2005).

- **Agents pathogènes exogènes :**
  - Agents physiques : traumatismes, chaleur, froid, radiations ionisantes, brûlures, choc électrique ;
  - Agents chimiques : caustiques, toxiques, histamine, médicaments ;
  - Agents biochimiques : allergènes ou toutes substances antigéniques notamment alimentaires ;
  - Agents infectieux : ce sont les agents pathogènes vivants, pouvant agir localement ou à distance par l'intermédiaire de toxines. Il s'agit de virus, de bactéries, de champignons, ou de parasites.
- **Agents pathogènes endogènes :**
  - Les causes trophiques : troubles de la vascularisation, de l'innervation ;
  - Les lésions dégénératives : toute nécrose tissulaire telle que la nécrose ischémique d'un infarctus du myocarde ;

- Perturbations métaboliques : urée, goutte ;
- Conflit immunitaire (c'est-à-dire auto-immunité, déficit immunitaire, dysimmunité), complexes antigènes anticorps.

### **I.1.2. Phases de la réaction inflammatoire**

On distingue plusieurs étapes dans le processus inflammatoire :

- **La phase d'initiation ou réactions vasculo-sanguines ou vasculo-exsudatives**

Cette phase se traduit cliniquement par les signes cardinaux classiques de l'inflammation aiguë : rougeur, chaleur, tuméfaction et douleur. Elle comporte trois phénomènes : une congestion active, un œdème inflammatoire (l'exsudat), une diapédèse leucocytaire. Son but est de « donner l'alerte » et de recruter les cellules de l'immunité naturelle (Rousselet, et al., 2005).

- **La phase d'amplification ou étape cellulaire**

La réaction inflammatoire se développe avec la migration et la domiciliation (mobilisation, margination, diapédèse) de différents types de cellules au sein du foyer inflammatoire. Ce phénomène est lié à l'action coordonnée, d'une part de facteurs chimiotactiques, d'autre part de molécules d'adhérence exprimées à la surface des cellules sanguines circulantes et sur les autres surfaces de contact (endothélium, matrice extracellulaire) (Prin, et al., 2006).

- **La détersion**

Elle succède progressivement à la phase vasculo-exsudative, et est contemporaine de la phase cellulaire. La détersion peut être comparée à un nettoyage du foyer lésionnel. C'est l'élimination des tissus nécrosés, issus de l'agression initiale ou du processus inflammatoire lui-même, des agents pathogènes et du liquide de l'exsudat. La détersion prépare obligatoirement la phase terminale de réparation-cicatrisation. Si la détersion est incomplète, l'inflammation aiguë va évoluer en inflammation chronique (Rousselet, et al., 2005).

- **La phase de résolution de l'inflammation et de réparation tissulaire**

La réparation tissulaire suit une détersion complète. Elle aboutit à une cicatrice si le tissu lésé ne peut régénérer (neurones ou cellules musculaires myocardiques) ou lorsque la destruction tissulaire a été très importante et/ou prolongée (Rousselet, et al., 2005).

### **I.1.3. Acteurs de la réaction inflammatoire**

L'inflammation fait intervenir des cellules et de nombreux médiateurs chimiques qui peuvent être pro- ou anti-inflammatoires et qui peuvent modifier ou entretenir la réponse inflammatoire.

#### **I.1.3.1. Cellules de l'inflammation**

##### **I.1.3.1.1. Granulocytes**

Les granulocytes sont les cellules les plus nombreuses dans le sang périphérique. Ils regroupent les polynucléaires neutrophiles (PNN), éosinophiles et basophiles.

Les PNN jouent essentiellement un rôle de phagocytose des éléments étrangers, de dégranulation et d'explosion oxydative (Gougerot-Pocidallo, et al., 2011). Les PNN sont également capables de synthétiser un grand nombre de médiateurs inflammatoires lipidiques [leucotriènes (LT) et prostaglandines (PG)], et cytokiniques [les interleukines IL-1 $\beta$  et IL-6 ou le Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ )]. Les PNN sont les cellules pivots de l'inflammation aiguë.

Les polynucléaires éosinophiles résident essentiellement au niveau tissulaire. Ils libèrent différents médiateurs inflammatoires comme le facteur d'activation plaquettaire communément appelé PAF (Platelet Activating Factor) et les leucotriènes B4 (LTB4), une grande variété de cytokines pro-inflammatoires [IL-1, IL-6, Interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ ] ainsi que des chimiokines comme l'IL-8. Du point de vue pathologique, les polynucléaires éosinophiles ont été impliqués dans les lésions tissulaires liées à l'asthme allergique.

Les polynucléaires basophiles sont impliqués dans l'initiation du phénomène inflammatoire et le recrutement des cellules immunes. Plus tardivement, ils constituent également une source de cytokines, essentiellement des cytokines régulatrices (IL-4 et IL-13).

### **I.1.3.1.2. Monocytes et Macrophages**

Les monocytes représentent 2 à 10 % des leucocytes. Ce sont des cellules jeunes qui possèdent toutes les activités migratoires, chimiotactiques, phagocytaires et sécrétoires nécessaires à leur fonction. A terme, ils migrent dans les tissus où ils se différencient en macrophages tissulaires multifonctionnels.

Les monocytes et macrophages sont des cellules phagocytaires. Ils libèrent des espèces réactives de l'oxygène (ERO), des enzymes hydrolytiques ou des protéases qui contribuent à la destruction d'éléments étrangers. Ils interviennent particulièrement dans l'amplification de l'inflammation par une libération massive de cytokines inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12), de facteurs chimiotactiques (IL-8), de prostaglandines ou de leucotriènes essentiellement de types PGE2 et LTB4 qui contribuent au recrutement et à l'activation d'autres cellules immunitaires. Par une libération plus tardive de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10, ils contribuent à rétablir l'homéostasie au niveau du foyer inflammatoire.

Les monocytes sont considérés comme les cellules pivots de l'inflammation chronique. Ils jouent un rôle prépondérant dans la destruction tissulaire et l'entretien du processus inflammatoire.

### **I.1.3.1.3. Lymphocytes**

Il existe deux populations de lymphocytes (B et T) dont les rôles sont fondamentalement différents. Les lymphocytes B sont essentiellement impliqués dans la synthèse d'anticorps et dans l'immunité spécifique.



Les précurseurs des lymphocytes T donnent naissance à des lymphocytes CD4 (régulateurs) et CD8 (cytotoxiques ou suppresseurs). Les lymphocytes CD8 exercent des fonctions cytotoxiques qui leur permettent d'éliminer les cellules infectées par les pathogènes intracellulaires. Ils libèrent essentiellement de l'IFN- $\gamma$  et du TNF- $\alpha$ . Leur implication dans les maladies inflammatoires est mal connue. Cependant il a été montré que les lymphocytes CD8 jouaient un rôle important dans la prévention des maladies inflammatoires intestinales chez la souris, du fait de l'expression du facteur de transcription "AIRE" qui active l'expression des antigènes des tissus (intestin, pancréas, foie...) dans le thymus, lieu de développement et de différenciation des lymphocytes T (Ménager–Marcq, et al., 2006). En absence d'AIRE, les lymphocytes T régulateurs censés reconnaître spécifiquement les antigènes intestinaux et réguler par conséquent l'inflammation dans le tube digestif, ne se développent pas dans le thymus (Pomié, et al., 2011).

Les lymphocytes CD4 jouent en revanche un rôle régulateur majeur dans la réponse immunitaire et inflammatoire par la libération de cytokines spécifiques. Différentes sous populations de lymphocytes T ont été identifiées : les cellules T "helper precursors" (Thp) qui se différencient, selon l'environnement cytokinique, en cellules de type Th1 avec un profil de sécrétion pro-inflammatoire (IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), ou de type Th2 avec un profil anti-inflammatoire (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) ou de type Th3, libérant un facteur de croissance appelé TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ) et de l'IL-10.

Les cellules Th1 et Th2 produisent des cytokines qui inhibent mutuellement l'activité et la prolifération de l'autre type cellulaire, définissant une "balance Th1/Th2". Au niveau pathologique, un déséquilibre orienté vers un type cellulaire Th1 ou Th2 a été mis en évidence dans la plupart des maladies inflammatoires chroniques (Hellal, 2007). La balance lymphocytaire pourrait constituer l'une des cibles d'intervention thérapeutique.

#### **I.1.3.1.4. Mastocytes**

Les mastocytes sont impliqués dans l'initiation du phénomène inflammatoire et le recrutement des cellules immunes. Les mastocytes libèrent des cytokines pro-inflammatoires (IL-1- $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ,). Dans l'asthme, les mastocytes présents dans le muscle lisse bronchique peuvent facilement dégranuler et libérer de nombreux médiateurs qui entraînent une bronchoconstriction et la prolifération de cellules musculaires lisses bronchiques (Berger & Tunon de Lara, 2007).

#### **I.1.3.1.5. Cellules endothéliales vasculaires**

L'appareil cardiovasculaire est tapissé d'une monocouche de cellules endothéliales (endothélium), régulant l'ensemble des étapes impliquées dans le transport transendothélial des leucocytes au niveau du foyer inflammatoire (Hellal, 2007).

### **I.1.3.2. Médiateurs de l'inflammation**

De multiples médiateurs chimiques, provenant des **cellules** ou du **plasma**, déclenchent le processus inflammatoire et interviennent à tous les stades de l'inflammation.

Les **médiateurs d'origine cellulaire** sont soit préformés et séquestrés dans des granules intracellulaires soit synthétisés de *novo* en réponse à un stimulus. Le stimulus inflammatoire induit une dégranulation et une libération des médiateurs préformés. Les **médiateurs d'origine plasmatique** sont présents dans le plasma sous la forme de précurseurs qui doivent être activés, généralement par protéolyse pour acquérir leurs propriétés (Rousselet, et al., 2005).

#### **I.1.3.2.1. Médiateurs d'origine cellulaire**

##### **I.1.3.2.1.1. Amines vasoactives**

Ce sont des substances présentes dans tous les tissus à des concentrations dépendantes de la richesse en mastocytes (Russo-Marie, 1998). Elles sont formées

avant l'inflammation et stockées sous la forme de granules cytoplasmiques. Les amines vasoactives sont parmi les premiers médiateurs libérés lors du déclenchement de l'inflammation, dans la phase initiale vasculo-exsudative. Il s'agit de la 5-Hydroxytryptamine (**5-HT**) communément appelée **sérotonine** et de l'histamine (Rousselet, et al., 2005).

La **sérotonine (5-HT)** est une substance très largement répandue dans le monde animal et végétal, sécrétée essentiellement par les mastocytes et les plaquettes lors de leur agrégation et présente dans les cellules entérochromaffines (Russo-Marie, 1998; Rousselet, et al., 2005). Elle a une action vasodilatatrice marquée.

**L'histamine** est largement présente dans les tissus, au sein des mastocytes du tissu conjonctif, des polynucléaires basophiles et des plaquettes. La dégranulation de l'histamine mastocytaire est déclenchée par des facteurs multiples tels que le traumatisme, le choc thermique, le complexe antigène-anticorps (hypersensibilité de type I allergique médiée par les IgE), les fractions du complément (anaphylotoxines), les enzymes lysosomiales des polynucléaires, les cytokines IL1 et IL8. Son action est rapide et fugace. Il s'agit de l'augmentation précoce de la perméabilité vasculaire lors de la phase aiguë exsudative (vasodilatation artériolaire et contraction des cellules endothéliales des veinules), de la contraction des fibres musculaires lisses (bronchoconstriction) et l'attraction des polynucléaires éosinophiles dont elle augmente les capacités d'ingestion (Russo-Marie, 1998; Rousselet, et al., 2005).

### **I.1.3.2.1.2. Médiateurs lipidiques**

Ils sont synthétisés à partir des phospholipides des membranes cellulaires. Ils comprennent les métabolites de l'acide arachidonique qui sont les éicosanoïdes (prostanoïdes et leucotriènes) et le facteur d'activation plaquettaire (PAF-acether).

### I.1.3.2.1.2.1. Eicosanoïdes

Les éicosanoïdes sont des dérivés d'acides gras classés en prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes et leucotriènes (Cohen & Jacquot, 2008).

Les éicosanoïdes proviennent du métabolisme de l'acide arachidonique, acide gras formé par dénaturation des phospholipides des membranes cellulaires, sous l'influence de la phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), activée par l'agression initiale (stimulus mécanique ou chimique) et par divers médiateurs (C5a). Le métabolisme de l'acide arachidonique est complexe et les métabolites intermédiaires et terminaux ont des effets variables et parfois antagonistes au cours de l'inflammation (Rousselet, et al., 2005).

Il existe deux principales voies métaboliques de l'acide arachidonique :

- **La voie de la cyclo-oxygénase (Figure 2 et 4)** qui conduit aux principaux médiateurs suivants :
  - **Les prostaglandines (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>)** présentes de façon ubiquitaire dans de nombreux tissus dont l'iris, l'intestin, le cerveau. Ils ont des effets très variables selon la dose pharmacologique et le type de prostaglandine. Ils entraînent le plus souvent une vasodilatation, une hyperperméabilité vasculaire, un chimiotactisme, la douleur et la fièvre. Leurs effets sont moins rapides et plus prolongés que ceux de l'histamine (Cohen & Jacquot, 2008).
  - **La prostacycline (PGI<sub>2</sub>)** est retrouvée dans la paroi des vaisseaux de différentes espèces dont l'homme. Elle dérive de l'endopéroxyde et possède une demi-vie égale à 5 min. Elle est antiagrégante plaquettaire, par inhibition de la synthèse de la thromboxane et vasodilatatrice. (Rousselet, et al., 2005; Cohen & Jacquot, 2008).
  - **Les thromboxanes** formées à partir des endopéroxydes par une thromboxane synthétase surtout présente dans les plaquettes et absente

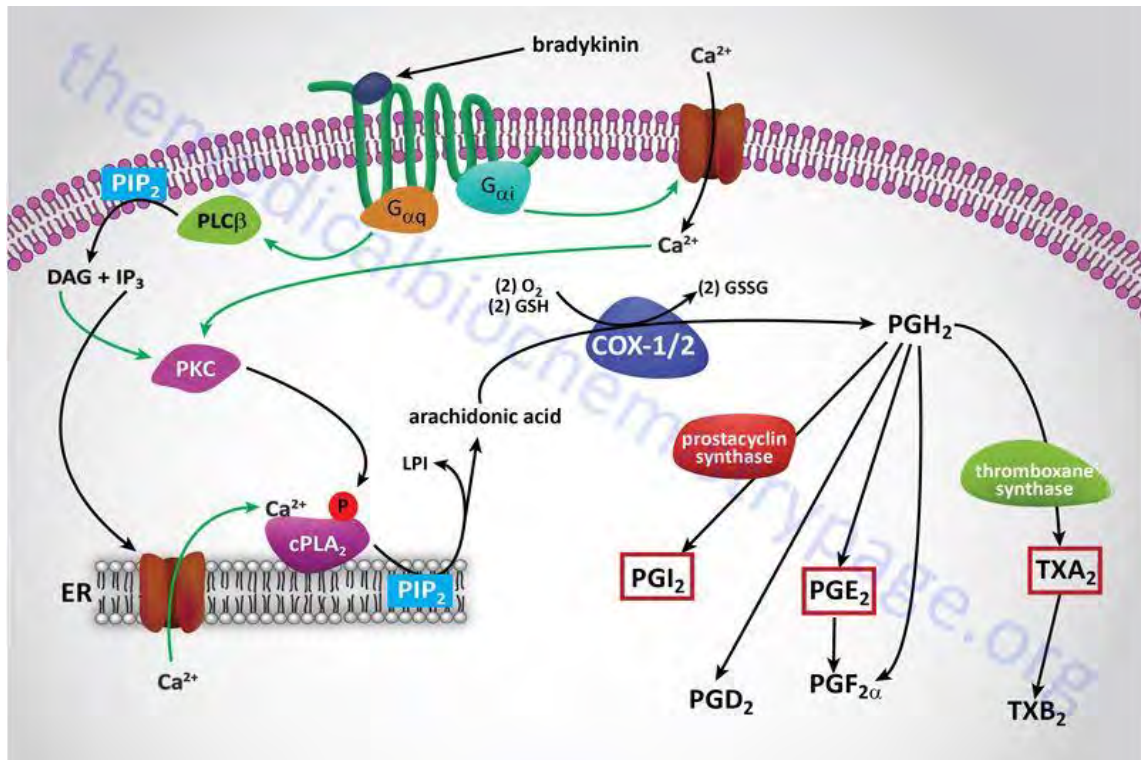
dans l'endothélium. Il s'agit de la **thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)**, à demi-vie courte, environ 30 s, qui est transformée en **thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>)**, plus stable. La TXA<sub>2</sub> est un puissant agrégant plaquettaire, et vasoconstricteur des muscles lisses vasculaires et bronchiques. La TXB<sub>2</sub> ne favorise pas l'agrégation des plaquettes sanguines, elle n'est pas contracturante des fibres lisses, elle joue un rôle dans le chimiotactisme (Cohen & Jacquot, 2008).

- **Voie de la lipo-oxygénase (Figure 3 et 5)** forme les leucotriènes (LT), à partir de l'acide 5-hydroperoxyéicosatétraénoïque (5-HPETE) qui donnent successivement les leucotriènes (LT) A<sub>4</sub>, B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> et E<sub>4</sub>. Ils sont tous des agents contracturants et stimulent la libération de prostaglandines et de thromboxanes par le poumon. Le LTB<sub>4</sub> est un puissant facteur chimiotactique des polynucléaires et des monocytes. Les LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub> et LTD<sub>4</sub> augmentent la perméabilité cellulaire, produisent une hypertension, suivie d'une hypotension, modifient la fréquence et le rythme cardiaques. Les LTC<sub>4</sub> et LTD<sub>4</sub> (cystéinyl-leucotriènes) activent la synthèse des prostaglandines, produisent une vasoconstriction de la microcirculation pulmonaire et entraînant une constriction des bronches et de la trachée (Cohen & Jacquot, 2008).

#### **I.1.3.2.1.2.2. Facteur d'activation plaquettaire (PAF-acether)**

C'est un puissant médiateur synthétisé à partir des phospholipides membranaires par activation de la phospholipase A<sub>2</sub>, par de nombreuses cellules de la réaction inflammatoire (polynucléaires neutrophiles et basophiles, mastocytes, monocytes-macrophages, endothélium, plaquettes). Ses effets sont nombreux et passent par l'activation des neutrophiles, des macrophages, des éosinophiles et des lymphocytes *via* une action sur des récepteurs spécifiques ou par induction d'autres médiateurs : augmentation de la perméabilité vasculaire, agrégation des plaquettes, stimulation de l'attraction des leucocytes et de leur adhésion à l'endothélium. Il est

plus actif que l'histamine et stimule également la synthèse des métabolites de l'acide arachidonique (Van de Weerd, et al., 1995; Stevens & Lowe, 2001; Rousselet, et al., 2005).



**Figure 2 : Métabolisme de l'acide arachidonique par la voie des cyclooxygénases (King, 2016)**

De nombreux stimuli (épinéphrine, thrombine et bradykinine...) peuvent activer la **cPLA<sub>2</sub> (phospholipase A<sub>2</sub> cytosolique)**, laquelle hydrolyse l'**acide arachidonique (AA)** provenant des phospholipides de la membrane cellulaire.

Le récepteur de la bradykinine (BDKR2) est couplé à la fois à une protéine Gi/o et Gq dont l'activation entraîne une augmentation intracellulaire de Ca<sup>++</sup> et l'activation de la PKC (protéine kinase C) qui est phosphorylée. Ces derniers activent la cPLA<sub>2</sub> membranaire qui hydrolyse la PIP<sub>2</sub> (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) en **acide arachidonique** et LPI (LysoPhosphatidylinositol).

L'A.A. est ensuite converti en PGH<sub>2</sub> (prostaglandine H<sub>2</sub>) via l'action des COX1/2 (cyclooxygénases 1 et 2) encore appelées (Prostaglandine GH Synthase, PGS ou Prostaglandine Endoperoxyde Synthétase).

Le PGH<sub>2</sub> donnera ensuite le **PGI<sub>2</sub> (Prostacycline)** par action de la PGI<sub>2</sub> Synthase ; **PGE<sub>2</sub> (Prostaglandine E<sub>2</sub>)** par action de la PGE<sub>2</sub> Synthase.

La Prostaglandine F Synthase (PDFS) catalyse la formation de 9α,11β-PGF<sub>2α,β</sub> à partir de la **PGD<sub>2</sub> (Prostaglandine D<sub>2</sub>)** et de **PGF<sub>2α</sub>** à partir de PGH<sub>2</sub>.

La TXAS (Thromboxane Synthase) convertit la PGH<sub>2</sub> en **TXA<sub>2</sub> (Thromboxane A<sub>2</sub>)** puis **TXB<sub>2</sub> (Thromboxane B<sub>2</sub>)** (King, 2016).

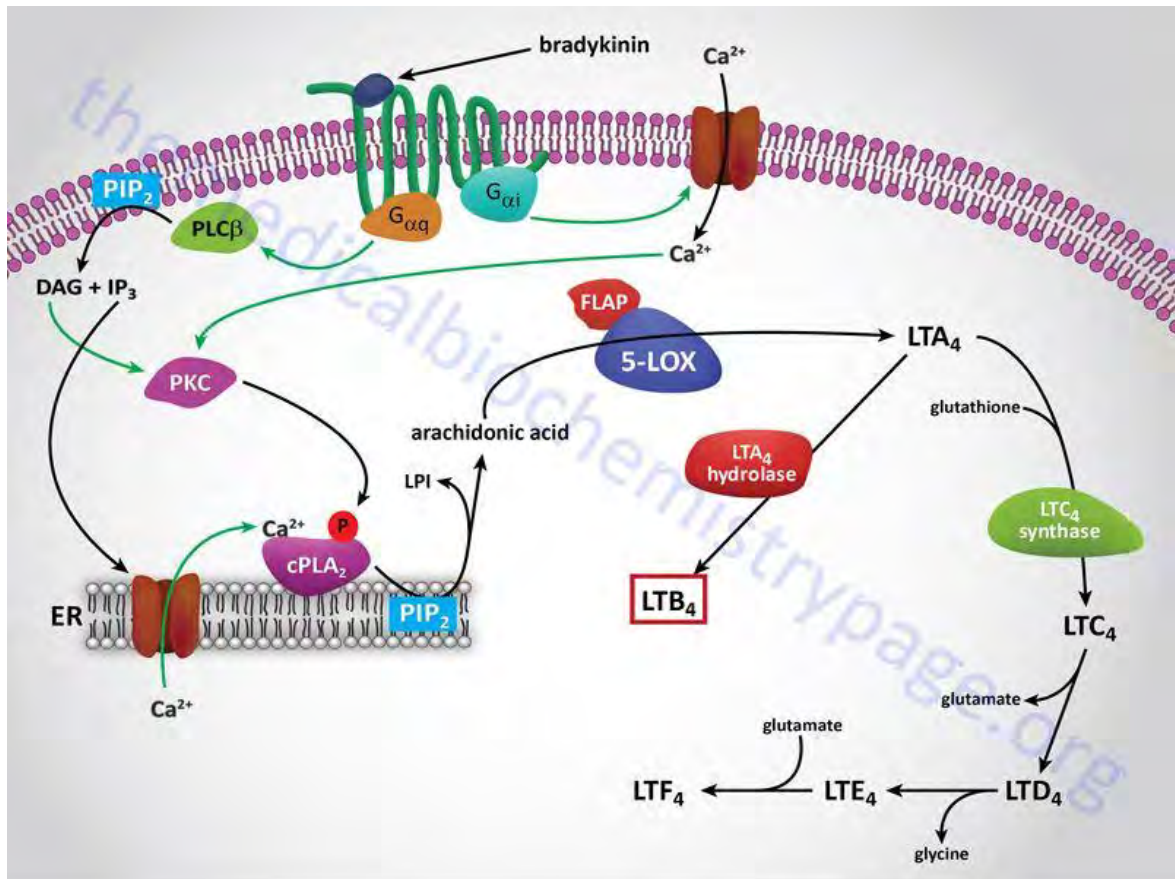


Figure 3 : Métabolisme de l'acide arachidonique par la voie des lipoxygénases (King, 2016)

L'enzyme **5-Lipoxygénase (5-LOX)** associée à une protéine **FLAP (5-LOX Activating Protein)** catalyse la conversion de l'A.A. d'abord en **5-HydroPéroxyEicosaTetraEnoïque (5-HPETE)**, laquelle molécule est spontanément réduite en **5-HydroxyEicosaTétraEnoïque (5-HETE)** puis en **LTA4 (Leucotriène A4)**.

LTA4 instable, est converti en LTB4 dans les neutrophiles et monocytes contenant l'enzyme LTA4 Hydrolase.

Dans les mastocytes et éosinophiles contenant LTC4 synthase, LTA4 est converti en LTC4. (King, 2016)



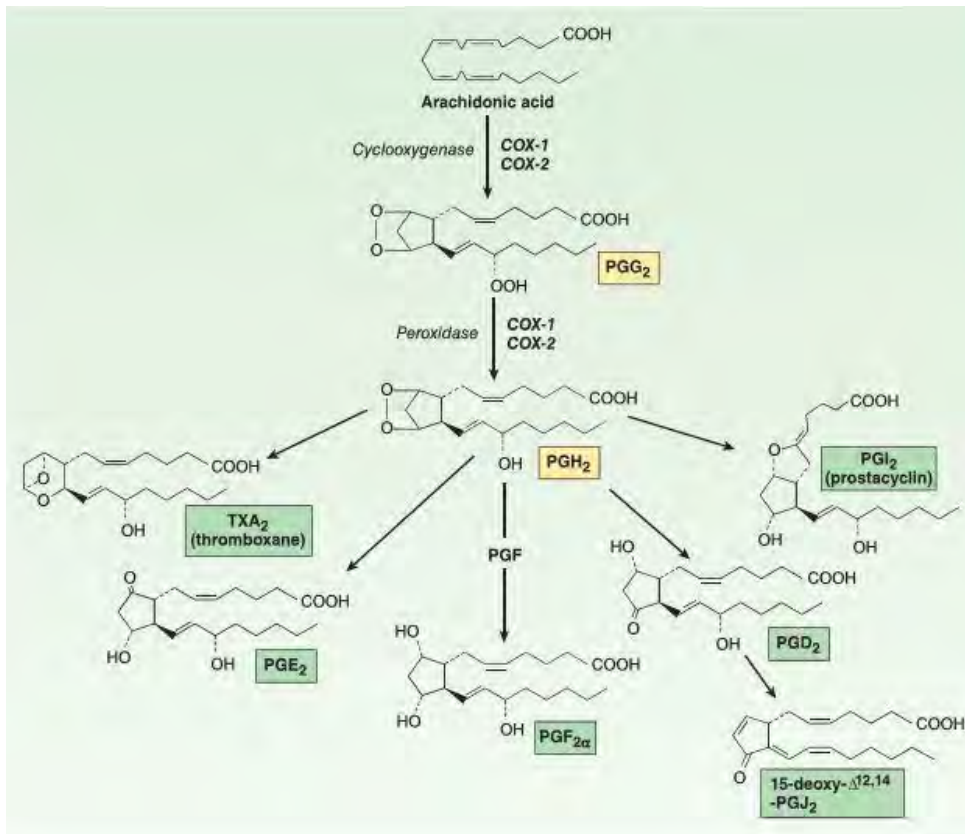


Figure 4 : Structure chimique des prostanoides (Katzung, et al., 2012)

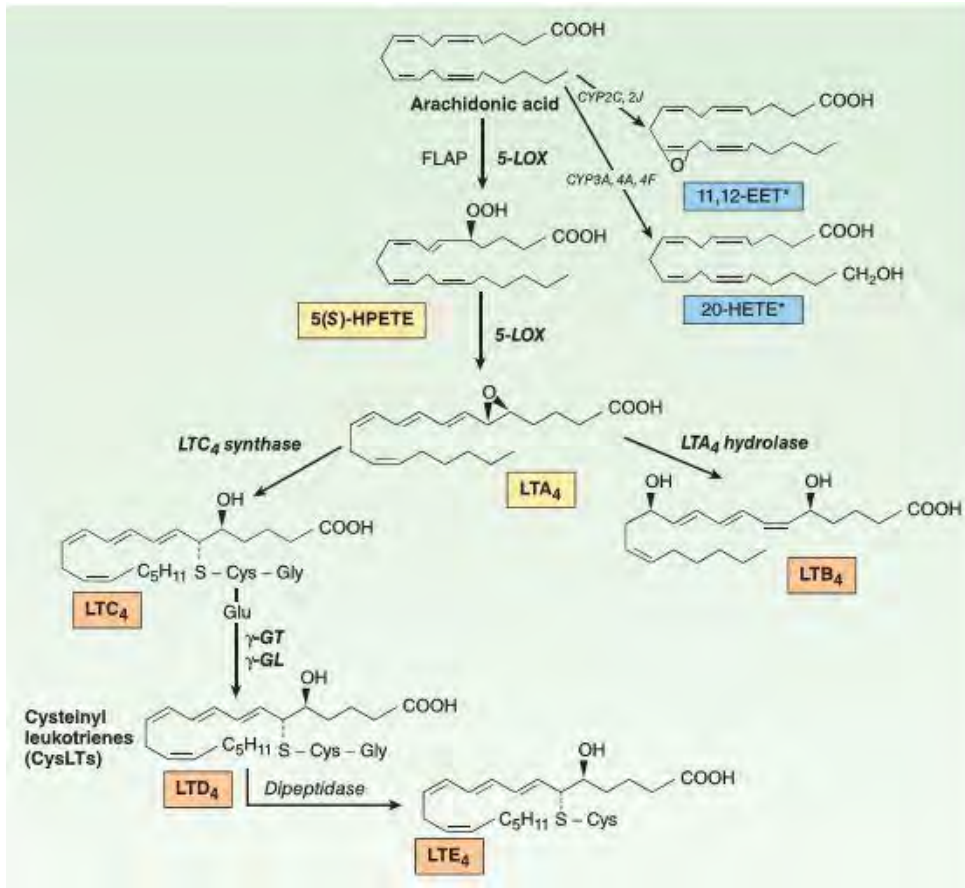


Figure 5 : Structure chimique des leucotriènes (Katzung, et al., 2012)



### **I.1.3.2.1.3. Cytokines**

Les cytokines sont des médiateurs solubles, produites par un grand nombre de cellules leucocytaires (lymphocytes et monocytes-macrophages activés) et non leucocytaires, intervenant dans la communication intercellulaire (Cavaillon, 1996; Fradelizi, 2002; Rousselet, et al., 2005). Elles agissent à faible concentration, généralement localement, à proximité de leur lieu de synthèse, sur les cellules qui les ont synthétisées (action autocrine) ou sur des cellules voisines (action paracrine), par l'intermédiaire d'une fixation à des récepteurs membranaires de haute affinité (Rousselet, et al., 2005). Elles sont impliquées dans l'inflammation, la réponse immunitaire innée et spécifique et l'hématopoïèse.

Parmi les cytokines, certaines jouent un rôle important dans les mécanismes de mise en place de la réponse inflammatoire, il s'agit de cytokines pro-inflammatoires, principalement les interleukines (IL-1, IL-6, IL-8) et le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor) (Henrotin, et al., 2001). Ces cytokines peuvent agir soit directement, soit être à l'origine d'une production en cascades d'autres médiateurs essentiels à l'enclenchement et à l'entretien d'un état inflammatoire. D'autres cytokines constituent des agents anti-inflammatoires qui participent à limiter la production de cytokines dites pro-inflammatoires ou empêcher leurs actions. Il s'agit de l'IL-1ra, l'IL-10, l'IL-4, l'IL-13, du Transforming Growth Factor bêta (TGF- $\beta$ ) et l'interféron alpha (IFN- $\alpha$ ) (Cavaillon, 1995).

#### **I.1.3.2.1.3.1. Cytokines pro-inflammatoires**

- **L'IL-1 et TNF- $\alpha$**

Parmi les cytokines à activité pro-inflammatoire, l'IL-1 et le TNF- $\alpha$  jouent un rôle primordial dans l'initiation et la chronicité de la réaction inflammatoire (Henrotin, et al., 2001).

**L'IL-1** est une protéine (17 kDa) se présentant sous deux isoformes  $\alpha$  (159 acides aminés) et  $\beta$  (153 acides aminés). Sa synthèse se fait sous forme d'un précurseur par clivage protéolytique grâce à l'enzyme de conversion l'IL-1 communément appelée ICE (IL-1 Converting Enzyme). Cette synthèse peut être induite par les endotoxines bactériennes et par d'autres cytokines comme le TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  mais aussi par l'IL-1 lui-même. L'IL-1 est essentiellement libérée par les mononucléaires phagocytaires stimulés, les PNN, mais aussi par d'autres cellules telles les cellules endothéliales, les lymphocytes B et T, les fibroblastes ou encore les ostéoclastes. L'isoforme IL-1 $\beta$  constitue la forme prédominante chez l'homme. Son action passe par la fixation à deux récepteurs membranaires de la superfamille des immunoglobulines IL1-R1 et IL1-R2. L'activation de IL1-R1 entraîne les mêmes effets biologiques que celle des récepteurs au TNF (Hellal, 2007).

**Le TNF** existe aussi sous deux isoformes,  $\alpha$  et  $\beta$ . L'isoforme  $\beta$  est moins actif et est essentiellement sécrété par les lymphocytes T activés. TNF- $\alpha$  (157 acides aminés) est quant à lui sécrété par une grande variété de cellules, essentiellement les monocytes et les macrophages, les PNN et moins par les lymphocytes T, les mastocytes et les fibroblastes. Sa maturation est assurée par clivage protéolytique d'une protéine transmembranaire via une métalloprotéase, l'enzyme de conversion du TNF Alpha communément appelée TNF Alpha Converting Enzyme (TACE). TNF- $\alpha$  agit par fixation sur deux récepteurs membranaires TNF-R1 (p55 ou CD120a) et TNF-R2 (p75 ou CD120b) (Hellal, 2007).

L'IL-1 et le TNF- $\alpha$  partagent de nombreuses activités et agissent souvent en synergie au niveau du foyer inflammatoire. Ils possèdent des activités cytotoxiques et sont à l'origine d'une réponse hémorragique. Des cellules comme les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et l'endothélium vasculaire participent à cette toxicité (Cavaillon, 1995).

En effet, sous l'effet du TNF- $\alpha$ , ces cellules sont capables de libérer des enzymes hydrolytiques et espèces réactives de l'oxygène (EROs) ayant un pouvoir lésionnel considérable. Aussi, l'association de produits bactériens, de l'anaphylatoxine C5a et du TNF- $\alpha$  contribue à la nécrose hémorragique des tissus normaux. Elle entraîne une protéolyse musculaire et diminue la synthèse des chaînes protéiques de la myosine. L'IL-1 a la capacité de participer à la dégradation du cartilage contribuant donc activement aux mécanismes érosifs observés lors des pathologies articulaires inflammatoires (Cavaillon, 1995).

IL-1 et TNF- $\alpha$  sont à la base de l'ostéolyse, résorption osseuse fruit de l'activation des ostéoclastes par ces cytokines et également la conséquence de la production de prostaglandines (Cavaillon, 1995). Ils induisent les effets systémiques de la phase aiguë tels que la fièvre qui a un effet inhibiteur sur la prolifération de la plupart des micro-organismes et augmentent l'intensité des réponses immunes, le sommeil, la perte d'appétit, la libération sanguine de polynucléaires neutrophiles à partir de la moelle osseuse, la synthèse hépatique des protéines de phase aiguë, dont la protéine C-réactive qui joue un rôle d'opsonine et d'activation du complément. L'IL-1 et le TNF- $\alpha$  stimulent l'adhérence des leucocytes à l'endothélium en augmentant l'expression des molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales (E-sélectine et ICAM-1). Ils favorisent la thrombose, la synthèse endothéliale de IL1, IL8, IL6, PDGF et stimulent la prolifération des fibroblastes, la synthèse de collagène et celle d'enzymes dégradant la matrice extra-cellulaire (collagénase) (Rousselet, et al., 2005).

L'IL-1 et le TNF- $\alpha$  peuvent limiter l'oxygénation des tissus en favorisant la coagulation et en interférant avec la fibrinolyse. Ces cytokines sont capables d'induire la production de nombreux facteurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines, les thromboxanes, les leucotriènes, le PAF, les protéases et les radicaux libres (anion superoxyde, monoxyde d'azote). Ces derniers, en retour, peuvent moduler la production des cytokines pro-inflammatoires (Cavaillon, 1995).

- **L'IL-6 et l'IL-8**

**L'IL-6** est une protéine de 185 acides aminés. Elle est synthétisée par les lymphocytes T, les fibroblastes, les mastocytes, les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles. Cependant les phagocytes mononucléaires représentent la source la plus importante. La libération d'IL-6 est principalement induite par les endotoxines bactériennes, le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ . L'IL-6 peut également induire ou inhiber sa propre synthèse en fonction des types cellulaires considérés. L'IL-6 agit en se fixant à un récepteur spécifique (IL-6R), et est impliquée dans la prolifération des lymphocytes T. En revanche, l'IL-6 possède des propriétés anti-inflammatoires. En effet, au niveau systémique, l'IL-6 induit la synthèse des glucocorticoïdes endogènes. Enfin, certains des effets de l'IL-6 impliquent une inhibition de la production du TNF- $\alpha$ , sous la forme d'un rétrocontrôle négatif afin de limiter la réponse inflammatoire aiguë. Des travaux ont mis en évidence le rôle pro-inflammatoire de l'IL-6 en démontrant l'effet protecteur de sa délétion ou de la neutralisation de son récepteur dans des modèles animaux d'arthrite induite (Hellal, 2007).

**L'IL-8** appartient à la famille des chimiokines, qui sont des cytokines impliquées dans le recrutement des cellules immunes sur le site inflammatoire par chimiotactisme. L'IL-8 appartient au groupe des CXC, nommé ainsi en raison de la présence d'un acide aminé entre deux résidus cystéines. C'est une protéine de 72 acides aminés, essentiellement libérée par les monocytes, les lymphocytes T, les fibroblastes, les cellules endothéliales et les chondrocytes. L'IL-8 exerce son activité en se liant à des récepteurs couplés aux protéines G, essentiellement CXCR1 et CXCR2. Ses effets incluent une augmentation du chimiotactisme, l'expression de molécules d'adhésion, la dégranulation et l'augmentation du métabolisme oxydatif des PNN (Hellal, 2007).

L'IL-8 est exprimée à des taux anormalement élevés sur les sites inflammatoires au cours de la Maladie de Crohn et de la Polyarthrite rhumatoïde (Endo, et al., 1991; Reimund, et al., 1997; Furuzawa-Carballeda & Alcocer-Varela, 1999). Des taux élevés

d'IL-6 et d'IL-8 sont retrouvés précocement durant le sepsis humain, corrélés au décès des patients (Cavaillon, 2005).

#### **I.1.3.2.1.3.2. Cytokines anti-inflammatoires**

L'IL-4, l'IL-10, l'IL-13, le TGF- $\beta$  et l'interféron alpha (IFN- $\alpha$ ) constituent les cytokines anti-inflammatoires. Elles sont classées en fonction de leur capacité à inhiber la production d'IL-1, de TNF, d'IL-6, d'IL-8 et des autres chémokines par les monocytes/macrophages activés. De plus, elles favorisent la production de l'antagoniste naturel du récepteur de l'IL-1 (IL-1ra) qui vient occuper le récepteur spécifique de celui-ci. De même, elles augmentent la libération à la surface des cellules des deux formes solubles du récepteur du TNF. Enfin, les cytokines anti-inflammatoires peuvent s'opposer à l'induction de certaines des activités pro-inflammatoires générées par l'IL-1 et le TNF (Cavaillon, 2005).

- **IL-4**

L'IL-4 peut empêcher certaines activités des cytokines de l'inflammation, telle l'induction des molécules ELAM-1 à la surface des cellules endothéliales ou la résorption osseuse (Cavaillon, 2005).

- **IL-10**

L'IL-10 est produit par une variété de cellules types incluant les TCD4+, les TCD8+ activées et les cellules  $\beta$  activées (Shaikh, et al., 2011).

Il a été montré que les souris déficientes du gène de l'IL-10 développent des foyers inflammatoires importants au niveau du tube digestif. Aussi, un traitement par des anticorps anti-IL-10 dès le plus jeune âge chez la souris accroît leur sensibilité lors de choc endotoxinique (Cavaillon, 2005).

L'IL-10, non seulement bloque la production des cytokines pro-inflammatoires dont le TNF- $\alpha$ , mais aussi réduit l'expression des récepteurs pour le TNF à la surface des monocytes et accroît le relargage des formes solubles des récepteurs du TNF (Cavaillon, 2005).

- **IL-13**

Son activité anti-inflammatoire passe par l'inhibition de la production de cytokines inflammatoires telles que l'IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-6 et MIP-1 $\alpha$  par les monocytes (Cavaillon, 2005; Shaikh, et al., 2011).

- **TGF- $\beta$**

Il a été démontré que les souris déficientes en TGF- $\beta$ 1 mouraient en trois semaines avec une inflammation tissulaire généralisée, apportant ainsi la preuve de la contribution anti-inflammatoire du TGF- $\beta$ 1 (Shull, et al., 1992). En plus de son action inhibitrice sur la production de cytokines pro-inflammatoires, le TGF- $\beta$  diminue la production d'anion superoxyde et de monoxyde d'azote. L'activité anti-inflammatoire du TGF- $\beta$  peut également refléter sa capacité de diminuer le nombre de récepteurs pour l'IL-1 (Cavaillon, 2005).

- **IFN- $\alpha$**

Au cours du processus inflammatoire, l'IFN- $\alpha$  possède la capacité d'inhiber la production des cytokines de l'inflammation et d'accroître les taux de formes solubles du récepteur du TNF (Cavaillon, 2005).

#### **I.1.3.2.1.4. Enzymes et métabolites des polynucléaires et des macrophages**

##### **I.1.3.2.1.4.1. Enzymes lysosomiaux**

Les enzymes lysosomiaux sont déversés dans les vacuoles de phagocytose et interviennent dans la digestion des produits de phagocytose ou sont déversés dans le milieu extérieur par la lyse des polynucléaires. Les polynucléaires contiennent deux types de granules. Dans les granules primaires (granules azurophiles) sont contenus la myéloperoxydase, le lysozyme (hydrolyse des parois bactériennes), la cathepsine G, la phospholipase A<sub>2</sub>, des hydrolases acides et des protéases neutres (élastase, collagénase). Dans les granules secondaires, on note la présence de lysozyme, lactoferrine, de gélatinase, d'activateur du plasminogène, collagénase de type IV, histaminase et phosphatase alcaline. Les monocytes et macrophages contiennent des

hydrolases acides, des collagénases, une élastase, un activateur du plasminogène, toutes ces enzymes contribuant à remodeler la matrice extra-cellulaire. Les granules de polynucléaires éosinophiles contiennent le major basic protein, protéine toxique pour les parasites et les épithéliums (Rousselet, et al., 2005).

Les polynucléaires et les macrophages ont donc une activité de bactéricidie et de dégradation du tissu conjonctif dans le foyer inflammatoire (lyse de la fibrine, du tissu élastique et collagène, des membranes basales). Des protéases neutres activent directement le C3 et le C5.

Afin de limiter les effets pro-inflammatoires de ces enzymes quand elles sont déversées dans le milieu extra-cellulaire et donc de limiter les lésions tissulaires qui en sont directement issues, le sérum et les liquides extra-cellulaires contiennent des anti-protéases telles la  $\beta$ -2 macroglobuline et l' $\alpha$ -1-antitrypsine, synthétisées par le foie et inhibitrices de l'élastase neutrophilique.

### **I.1.3.2.1.4.2. Radicaux libres dérivés de l'oxygène**

Ils sont formés lors de la phagocytose. Ils ont une action nécrosante locale, notamment endommagent les cellules endothéliales, inactivent des anti-protéases dont l' $\alpha$ -1-antitrypsine, activent la phospholipase  $A_2$ , ce qui entraîne la synthèse de  $LTB_4$ , chimio-attractant des polynucléaires. Leurs effets potentiellement dangereux sont contrebalancés par des anti-oxydants présents dans le sérum, les milieux intra et extra-cellulaires.

### **I.1.3.2.1.5. Molécules d'adhérence**

Les cellules du foyer inflammatoire sont concentrées à l'endroit précis de l'organisme où l'agression a eu lieu. Ce ciblage est le résultat d'interactions complexes de molécules d'adhérence et de leurs ligands cellulaires, qui, par exemple, augmentent ou diminuent l'adhérence au tissu interstitiel. Les vaisseaux du foyer expriment des molécules d'adhérence pour retenir les cellules sanguines qui portent le ligand correspondant.

Une grande variété de molécules d'adhérence a été identifiée (sélectines, intégrines, superfamille des immunoglobulines). Elles interviennent dans chacune des séquences de la migration des leucocytes (Prin, et al., 2006).

### **I.1.3.2.1.6. Facteurs de croissance**

Ce sont des facteurs peptidiques proches des cytokines influençant la prolifération, la différenciation, la mobilité cellulaire, par des actions endocrines, paracrines ou autocrines. Dans la réaction inflammatoire, ils interviennent surtout à la phase du bourgeon charnu (prolifération fibroblastique et endothéliale), de la fibrinogénèse cicatricielle et de la régénération épithéliale. Les macrophages activés produisent notamment des facteurs comme le PDGF, l'EGF, le FGF et le TGF $\beta$  (Rousselet, et al., 2005).

### **I.1.3.2.1.7. Monoxyde d'azote (NO)**

C'est un gaz soluble produit par les macrophages, les cellules endothéliales, et certains neurones cérébraux. Il a une action paracrine à proximité de son site de production et des effets variés au cours de l'inflammation. C'est un puissant vasodilatateur, relaxant les cellules musculaires lisses des vaisseaux, diminuant l'agrégation plaquettaire, régulant le recrutement leucocytaire, participant à une action anti-microbienne. Les radicaux libres de NO sont cytotoxiques (Rousselet, et al., 2005).

### **I.1.3.2.2. Médiateurs d'origine plasmatique (médiateurs circulants)**

Ce sont des médiateurs qui ne sont actifs qu'à la suite d'une cascade de réactions qui permet d'en réguler la production. Il s'agit du **système des kinines, du complément, de la coagulation et de la fibrinolyse.**



#### **I.1.3.2.2.1. Système des kinines**

Les kinines sont de petits peptides dérivés des précurseurs du plasma par clivage protéique dont la plus importante est la bradykinine (Rousselet, et al., 2005). Le système est activé par une des protéines de la coagulation, le facteur de Hageman (facteur XII) qui clive l'enzyme polypeptidique prékallicroïne en kallicroïne. La kallicroïne stimule un kininogène de poids moléculaire élevé pour former la bradykinine. Celle-ci est un puissant médiateur de l'augmentation de la perméabilité vasculaire, elle provoque la douleur et active le système du complément (Stevens & Lowe, 2001).

#### **I.1.3.2.2.2. Système du complément**

Le système du complément regroupe un ensemble de neuf protéines plasmatiques ou facteurs du complément (C1 à C9) s'activant selon une réaction en cascade déclenchée soit par la fixation d'un complexe Ag-Ac sur la fraction C1 (voie classique), soit par des substances variées telles que les endotoxines, la lyse cellulaire, les enzymes lysosomiales libérées par les polynucléaires (voie alterne).

Certaines fractions du complément, essentiellement C3 et C5, jouent un rôle dans la perméabilité vasculaire, le chimiotactisme et l'opsonisation. C3a et C5a, également appelés anaphylatoxines, stimulent la libération de l'histamine mastocytaire. C5a est chimiotactique pour les polynucléaires et les monocytes et active dans ces cellules la voie de la lipo-oxygénase du métabolisme de l'acide arachidonique, aboutissant à la libération de médiateurs lipidiques. C5a stimule l'adhésion des polynucléaires neutrophiles à l'endothélium. C3b et C3bi favorisent la phagocytose en se fixant à la paroi des bactéries (opsonisation).

C3 et C5 peuvent être directement activés par des protéines présentes dans l'exsudat, comme la plasmine et les enzymes lysosomiaux des polynucléaires neutrophiles, ce qui contribue à un auto-entretien de la migration des polynucléaires neutrophiles (Rousselet, et al., 2005).

### **I.1.3.2.2.3. Facteurs de la coagulation/fibrinof ormation/ fibrinolyse**

Les relations sont complexes entre inflammation et système de la coagulation. La présence de dépôts de fibrine intra et extra vasculaire est quasi constante dans l'inflammation. La mise en jeu du système de la coagulation aboutit à la formation de thrombine qui déclenche la formation de fibrine à partir du fibrinogène plasmatique. L'activation du système de la fibrinolyse conduit à la formation de plasmine, à partir de son précurseur plasmatique, le plasminogène. La plasmine formée détruit la fibrine par protéolyse. L'inflammation active la fibrinof ormation et par voie de conséquence la fibrinolyse. La fibrinof ormation/fibrinolyse contribue à amplifier l'inflammation.

On peut citer plus particulièrement :

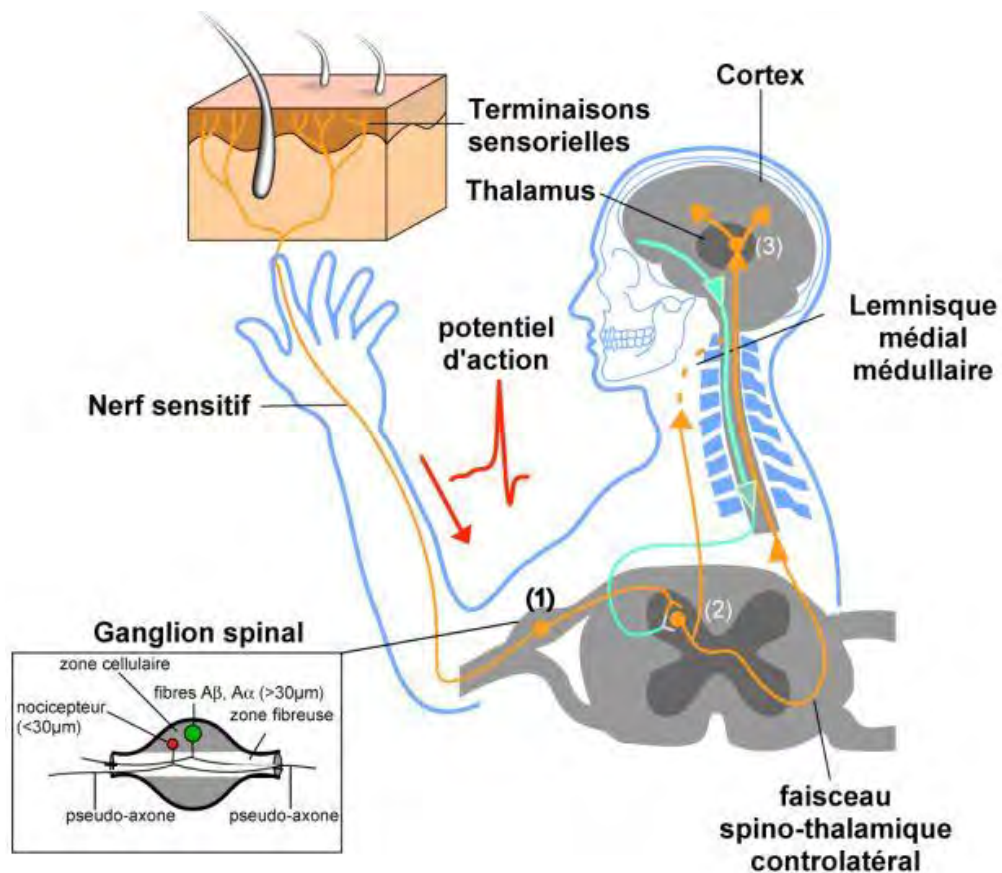
- ✓ Facteur XII (Hageman) : active les kinines, le système du complément, la coagulation et la fibrinolyse. C'est une enzyme sérique qui est activée par les complexes Ag-Ac, les fragments du collagène issus de protéolyse et les corps insolubles (cristaux).
- ✓ Produits de dégradation de la fibrine (PDF) : vasodilatateurs et chimiotactiques pour les polynucléaires.
- ✓ Thrombine : active les plaquettes et les cellules endothéliales ; chimiotactique pour les polynucléaires et les monocytes-macrophages (Rousselet, et al., 2005).

## **I.2. Physiologie de la douleur**

La douleur est un symptôme quasi universel de tout traumatisme, qui est à l'origine de multiples plaintes rencontrées en médecine générale, en médecine d'urgence, en rhumatologie et en neurologie (Vuillet-A-Ciles & Billet, 2013).

Le processus sensoriel qui génère un message nerveux à l'origine d'une sensation douloureuse est qualifié de "nociception". La nociception est définie

comme une fonction défensive et d'alarme pour notre organisme correspondant à un ensemble de phénomènes permettant l'intégration au niveau du système nerveux central d'un stimulus douloureux via l'activation des nocicepteurs cutanés, musculaires et articulaires. Le transfert de l'information sensorielle se fait par les nerfs, du lieu du ressenti de la douleur jusqu'à la moelle épinière, puis au cerveau. Ce sont les **voies de conduction de la douleur** qui assurent la transmission d'un stimulus des récepteurs périphériques, nocicepteurs, jusqu'au cortex cérébral (**Figure 6**) (Talbert, et al., 2009; Vuillet-A-Ciles & Billet, 2013).



**Figure 6 : Voies nerveuses sensorielles**

Les corps cellulaires des neurones sensoriels se logent dans les ganglions spinaux. Ils émettent un pseudo-axone vers la périphérie (peau, muscle, viscères) pour former les nerfs sensitifs et mixtes. Les stimuli sensoriels y sont captés puis transmis électriquement au ganglion spinal (1). L'information est conduite à la corne dorsale de la moelle épinière via un deuxième pseudo-axone. L'information sensorielle est ainsi traitée localement (2) et conduite au thalamus (3) par le faisceau spino-thalamique ventral controlatéral pour les voies nociceptives ou par le lemniisque médial de la moelle épinière pour les voies somatiques. L'information est alors perçue par le thalamus et distribuée au cortex où elle est intégrée, provoquant des réactions complexes d'ordre émotionnel et comportemental (Mazzuca, 2007).

Le cheminement de l'influx douloureux emprunte trois neurones :

- Le **protoneurone** conduit l'influx des nocicepteurs jusqu'à la corne postérieure de la moelle. Il fait synapse sur un deutoneurone de la substance grise spinale.
- Le **deutoneurone** assure la transmission spino-thalamique (voies ascendantes).
- Le **troisième neurone** assure la transmission thalamocorticale.

Après les lames médullaires, le message nociceptif emprunte des voies ascendantes jusqu'au thalamus. On distingue 2 voies principales :

- La voie de la composante sensorielle discriminative de la douleur (emplacement, intensité, nature de la douleur) correspond au faisceau spino-thalamique
- La voie de la composante émotionnelle, affective (caractère désagréable, déclenche la fuite, la défense) correspond à la voie spino-réticulaire (Mann, 2012).

### **I.2.1. Mécanismes périphériques impliqués dans la nociception : de la périphérie à la moelle**

Les messages nociceptifs sont générés au niveau des terminaisons libres amyéliniques, constituant des arborisations plexiformes dans les tissus cutanés, musculaires et articulaires. Les messages sont ensuite véhiculés par des fibres nerveuses périphériques qui, rassemblées au sein des nerfs, envoient leurs messages vers la moelle épinière où s'effectue le premier relais. Ces protoneurones à terminaisons libres dont les fibres sont faiblement myélinisées (fibres A $\delta$ ) ou amyéliniques (fibres C), sont appelés nocicepteurs lorsqu'ils encodent préférentiellement des stimulus nocifs (Le Bars & Willer, 2004; Adam, 2014).

### I.2.1.1. Les nocicepteurs et fibres nociceptives

Les nocicepteurs sont traditionnellement décrits comme les récepteurs chargés de détecter tout phénomène physique, thermique ou chimique dangereux. Ils sont principalement constitués par des terminaisons nerveuses libres, qui sont distribuées sur l'ensemble de la surface du corps ainsi que dans les muscles, les tendons ou encore les viscères. Chacune de ces fibres se spécialise dans la transmission d'un message nociceptif spécifique (Vuillet-A-Ciles & Billet, 2013).

Les messages nociceptifs sont générés au niveau des terminaisons libres de fibres sensibles **A $\delta$**  et **C**, par des mécanismes de transduction (transformation d'une énergie en potentiel de récepteur) multiples et adaptables en fonction du type et de la durée de la stimulation. Les fibres **A $\delta$**  de calibre fin (1 - 5  $\mu\text{m}$ ), sont faiblement myélinisées avec une vitesse de conduction de 4 à 30 m/s. Les fibres **C**, de calibre très fin (0,3 - 1,5  $\mu\text{m}$ ), sont dépourvues de myéline et sont à conduction lente (0,4 - 2 m/s) (Guirimand, 2003; Adam, 2014). Il existe aussi des fibres de gros diamètre (6 - 12  $\mu\text{m}$ ) **A $\beta$**  myélinisées avec une vitesse de conduction de 35 à 75 m/s, impliquées dans la perception des stimuli tactiles non douloureux, mais participent également à la modulation des messages nociceptifs (Vuillet-A-Ciles & Billet, 2013). L'activation des fibres **A $\delta$**  serait responsable de la douleur rapide, bien localisée à type de piqûre, alors que les fibres **C** induiraient une douleur tardive, diffuse, à type de brûlure (Adam, 2014).

Les fibres **C** constituent 60 à 90 % de l'ensemble des fibres afférentes cutanées et la quasi-totalité des fibres afférentes viscérales. Parmi les divers types de fibres afférentes qui sont caractérisés, le groupe le plus important est celui des nocicepteurs polymodaux **C**. Ces derniers répondent à des stimulations nociceptives de différentes natures (thermique, mécaniques et chimique). Ils sont très sensibles au phénomène de sensibilisation ou abaissement du seuil d'activation du nocicepteur après répétition d'un stimulus nociceptif (Adam, 2014).

La peau est l'une des structures possédant la plus forte densité d'innervation avec en moyenne 200 terminaisons libres par cm<sup>2</sup> dont une majorité de fibres C de type polymodal. Les muscles, les articulations et les viscères contiennent aussi des récepteurs polymodaux A $\delta$  et C mais leur caractère spécifiquement nociceptif n'est pas démontré, certaines fibres jouant un rôle dans l'adaptation circulatoire ou respiratoire au cours de l'exercice musculaire. En dehors d'une inflammation, les viscères semblent insensibles aux stimulations mécaniques ou thermiques et les fibres C viscérales ne sont pas spécifiques de la nociception mais participent à de multiples régulations. Par exemple, certaines fibres pleurales ou pulmonaires sont activées par des substances irritantes et seraient impliquées dans la survenue d'une dyspnée (Guirimand, 2003).

### I.2.1.2. Médiateurs et récepteurs périphériques de la douleur

#### I.2.1.2.1. Médiateurs biochimiques périphériques

Les nocicepteurs sont directement activés par des stimulations thermiques et mécaniques. Cependant, les lésions traumatiques, inflammatoires ou ischémiques vont provoquer la libération par les tissus lésés de substances chimiques. Ces substances pourront, soit activer directement les nocicepteurs et sont dites algogènes, soit sensibiliser les nocicepteurs à d'autres stimuli (Mann, 2012).

Les facteurs susceptibles d'activer et/ou de sensibiliser les nocicepteurs à la suite d'une lésion tissulaire appartiennent à trois groupes (**Figure 7**) :

- **Les premiers**, protons H<sup>+</sup>, adénosine triphosphate (ATP), sont directement liés à la lésion tissulaire et activent les nocicepteurs, déjà excités directement par le stimulus causal lui-même ;
- **Les seconds**, bradykinine, histamine, sérotonine (5-HT), prostaglandines (PG), leucotriènes, cytokines pro-inflammatoires, facteur de croissance (NGF), sont liés aux processus inflammatoires. Ils sensibilisent les nocicepteurs aux stimuli physiques et à l'action des autres substances ;

- Les derniers sont des peptides, substance P (SP), neurokinine A, peptide associé au gène de la calcitonine (CGRP), libérés par les nocicepteurs eux-mêmes.

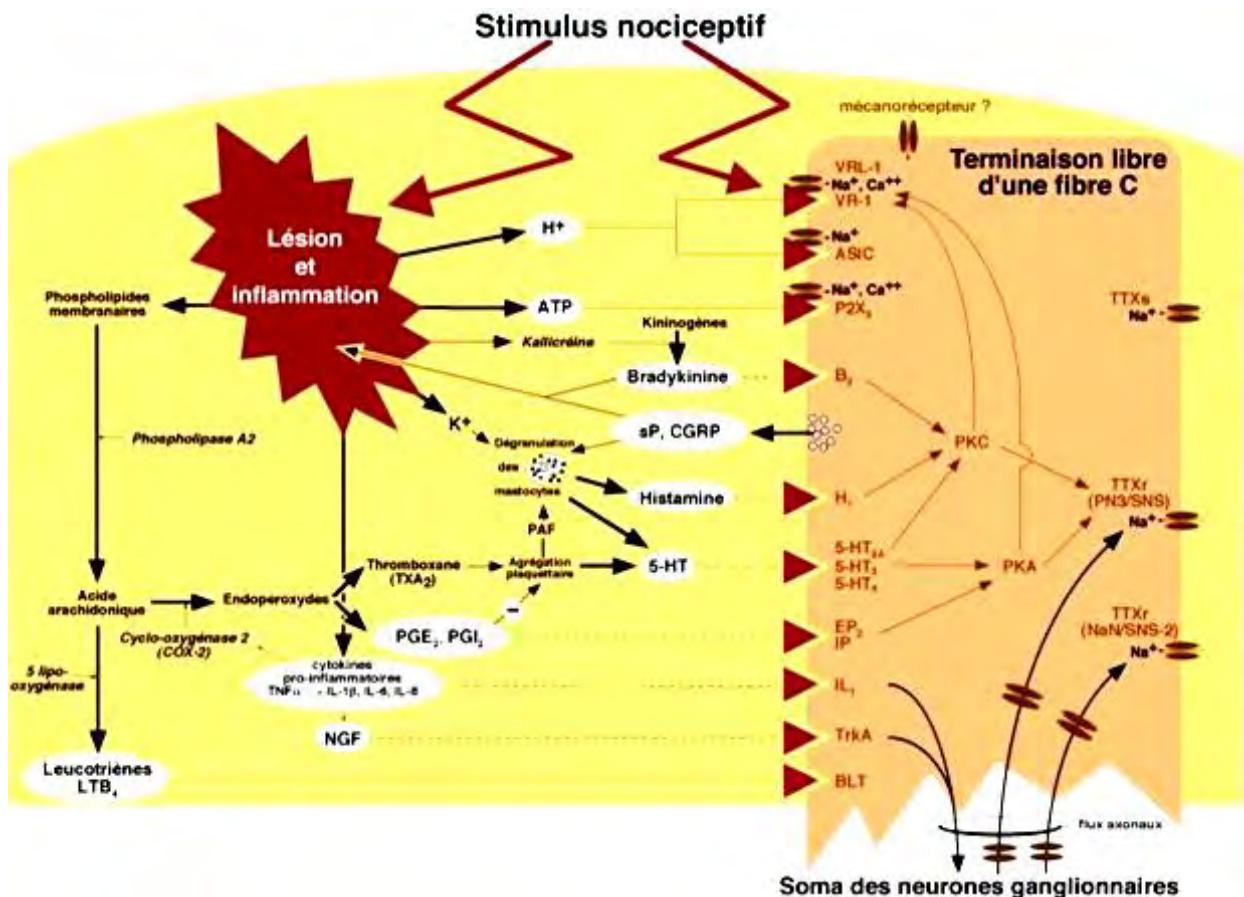


Figure 7 : Récepteurs, nociception et inflammation (Le Bars & Adam, 2002)

La figure représente les facteurs susceptibles d'activer (—>) et/ou de sensibiliser (- ->) les nocicepteurs à la suite d'une lésion tissulaire

**ATP** : adénosine triphosphate ; **5-HT** : sérotonine ; **PG** : prostaglandines ; **NGF** : nerve growth factor (facteur de croissance) ; **sP** : substance P ; **CGRP** : peptide associé au gène de la calcitonine ; **TNF** : tumor necrosis factor (Facteur nécrosant tissulaire) ; **IL** : interleukine ; **PAF** : platelet activating factor (Facteur d'activation plaquettaire) ; **VRL** : vanilloid receptor-like ; **ASIC** : acid-sensing ionic channel ; **EP** : récepteur de la prostaglandine E ; **IP** : récepteur de la prostaglandine I ; **TTXr** : tetrodotoxine-résistant ; **TTXs** : tetrodotoxine-sensible ; **SNS** : canal sodique sensoryneurone specific.

Les mastocystes libèrent de **l'histamine**, substance habituellement prurigineuse, qui devient douloureuse à concentration élevée. L'agrégation plaquettaire est source de sérotonine. **L'ATP**, présent dans toutes les cellules de l'organisme, est libéré au cours de processus actifs (libération vésiculaire) lors de stimulations douloureuses ou passivement lors d'une lyse cellulaire. Les plaquettes étant riches en ATP, leur agrégation provoque aussi une libération importante de ce neurotransmetteur. La **substance P (SP)** est abondante dans les fibres fines périphériques et intervient dans la transmission des messages nociceptifs vers les neurones spinaux. Cependant ce peptide joue aussi un rôle essentiel dans les mécanismes périphériques de la nociception (Le Bars & Willer, 2004).

Les terminaisons libres des nocicepteurs libèrent des agents vasodilatateurs capables d'augmenter la perméabilité vasculaire et, par conséquent, la fuite plasmatique. Après stimulation nociceptive, l'influx nerveux se propage non seulement vers la moelle mais aussi vers les autres terminaisons libres de la même fibre qui vont à leur tour libérer des peptides dont la substance P ou le gène de la calcitonine (CGRP). Il en résulte une vasodilatation, une dégranulation des mastocytes. Cette inflammation neurogène est à l'origine de l'amplification de l'hyperalgésie connue sous le nom de réflexe d'axones. Le peptide associé au gène de la calcitonine (CGRP), la sérotonine et la neurokinine A, participent aussi à ces processus. L'ensemble de ces réactions dépend des conditions physicochimiques locales qui sont modulées par le système sympathique. Après lésion nerveuse périphérique, les nocicepteurs C développent une autre forme de sensibilisation, associée à une libération accrue de noradrénaline à partir des terminaisons sympathiques. L'ATP est aussi un co-neurotransmetteur de la noradrénaline dans les neurones du système sympathique. Ceci pourrait faire le lien entre la douleur entretenue par le système sympathique et la stimulation de récepteurs aux purines par libération d'ATP ; d'où la notion de couplage anormal entre efférences sympathiques et neurones afférents primaires. Les prostaglandines et probablement les leucotriènes sont peu algogènes mais jouent un rôle essentiel puisqu'elles



sensibilisent les récepteurs à l'action d'autres substances. Ces phénomènes de sensibilisation, c'est-à-dire d'abaissement du seuil d'activation des nocicepteurs, participent à l'hyperalgésie primaire observés dans les états inflammatoires. Les macrophages libèrent des neurotrophines (NGF) et les cytokines qui déclenchent la cascade de l'inflammation. L'activation de la phospholipase A2 provoque la libération à partir des phospholipides membranaires d'un précurseur, l'acide arachidonique, à l'origine de la formation de thromboxanes, de prostacyclines et de prostaglandines (Guirimand, 2003).

### **I.2.1.2.2. Nocicepteurs "peptidergiques" et "non peptidergiques"**

Les fibres sensorielles amyéliniques peuvent être classées en fonction de leur profil neurochimique. On distingue ainsi deux sous-populations de fibres C nociceptives sensibles à la capsaïcine. Les premières, dites « peptidergiques », synthétisent notamment la substance P et le gène codant pour la calcitonine (CGRP) et sont sensibles au facteur de croissance NGF dont elles expriment les récepteurs spécifiques. Ce sont ces fibres qui sont à l'origine de l'inflammation neurogène. Les secondes, dites « non peptidergiques » car elles n'expriment ni la substance P ni le CGRP, sont également définies par la présence du protooncogène tyrosine-kinase (Trk) RET, récepteur d'une autre famille de facteurs de croissance, celui du facteur neurotrophique dérivant de la cellule gliale (GDNF), et d'une sous-classe de récepteurs purinergiques (P2X3). Ces deux sous-populations de fibres nociceptives cutanées se projettent différemment dans la corne postérieure de la moelle, dans les couches les plus superficielles I et Ilo pour ce qui est des fibres peptidergiques, et exclusivement dans la couche Ili pour les fibres non peptidergiques. Les couches I et Ilo contiennent des neurones qui expriment le récepteur à la substance P, appelé NK1. La couche Ili ne contient que des interneurones dont les caractéristiques principales sont de répondre uniquement aux stimuli mécaniques non nociceptifs et d'exprimer la protéine-kinase C $\gamma$  (PKC $\gamma$ ) dont la synthèse est augmentée par l'injection sous-cutanée d'un agent inflammatoire (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.1.2.3. Récepteurs élémentaires localisés sur les nocicepteurs**

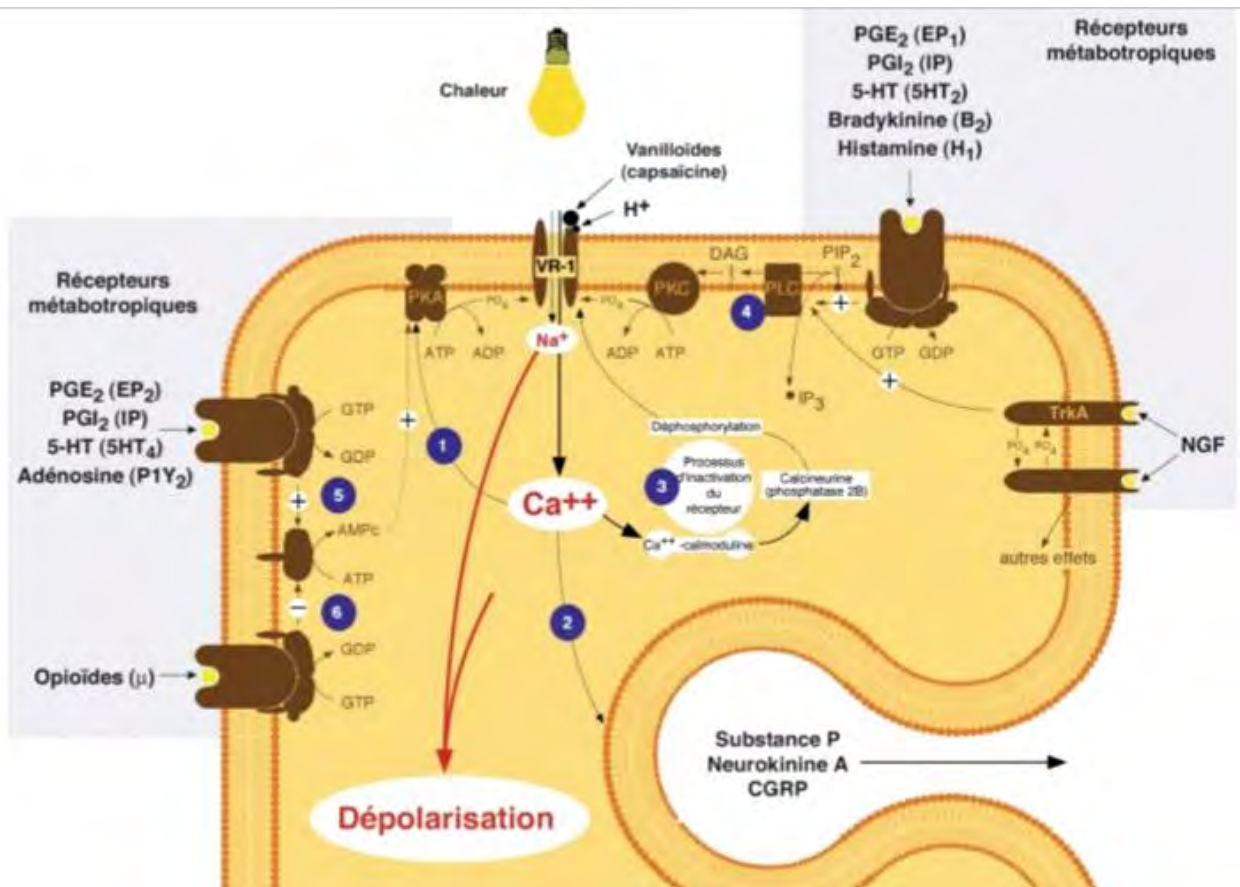
Un certain nombre de récepteurs biochimiques sont présents sur la membrane des fibres afférentes primaires. Certains d'entre eux sont des transducteurs, c'est-à-dire qu'ils sont capables de transformer un stimulus physique en un courant transmembranaire dépolarisant. C'est la mosaïque de récepteurs biochimiques spécialisés tapissant leur membrane qui est à l'origine de la "plasticité" des nocicepteurs polymodaux (Coutaux, et al., 2005).

#### **I.2.1.2.3.1. Les récepteurs vanilloïdes**

Les vanilloïdes constituent une famille naturelle d'irritants, responsables de la saveur "piquante" des épices. C'est par exemple la capsaïcine (la plus connue), la pipérine ou le zingéron extraits respectivement du piment, du poivre noir et du gingembre. L'application de capsaïcine sur la peau provoque chez l'homme une sensation de brûlure. Cette dernière est abolie par le refroidissement et exacerbée par le réchauffement. La capsaïcine active les fibres C polymodales par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique, le récepteur ionotropique vanilloïde "VR-1". Physiologiquement, VR-1 se comporte comme un récepteur à la chaleur intense. Le récepteur VR-1 est une protéine-canal non sélectif laissant passer tous les cations, avec cependant une préférence pour le calcium. Les protons ou la capsaïcine n'activent pas directement le récepteur VR-1, mais abaissent considérablement son seuil de déclenchement. Il sera alors activé par la chaleur ambiante et participe au phénomène d'allodynie (Coutaux, et al., 2005).

Le canal s'ouvre sous l'action de la chaleur. Le seuil de cette ouverture est déterminé par son environnement biochimique. Le récepteur est directement sensibilisé par le pH extracellulaire et les vanilloïdes, et indirectement par diverses substances inflammatoires. Lorsqu'il est sensibilisé, le récepteur peut ainsi répondre à la chaleur ambiante. Cette propriété permet d'expliquer les effets bénéfiques du froid pour soulager certaines douleurs. L'entrée de calcium provoque une chaîne de

réactions qui n'a rien de spécifique aux nocicepteurs (**Figure 8**) (Le Bars & Willer, 2004).



**Figure 8 : Récepteur à la capsaïcine (VR-1) (Le Bars & Adam, 2002)**

PG : prostaglandine ; 5-HT : 5-hydroxytryptamine ; GDP : guanosine diphosphate ; GTP : guanosine triphosphate ; ATP : adénosine triphosphate ; DAG : diacylglycérol ; PIP<sub>2</sub> : phosphatidylinositol biphosphate ; IP<sub>3</sub> : inositol triphosphate.

L'entrée du Ca<sup>2+</sup> initie une chaîne de réactions : (1) amplification du phénomène par phosphorylation du récepteur au travers de protéines-kinases, (2) exocytose, notamment de peptides puis (3) inactivation par sa déphosphorylation déclenchée par la calcineurine, elle-même sous la dépendance du complexe Ca<sup>2+</sup>-calmoduline. Une propriété est plus caractéristique des nocicepteurs : le calcium cytosolique est essentiellement d'origine extracellulaire car il n'existe pas de réticulum endoplasmique dans les terminaisons libres. Les protéines-kinases C (PKC) sont activées par une phospholipase C (PLC) (4), elle-même sous la dépendance d'un récepteur métabotropique (partie supérieure droite de la figure) et de tyrosines-kinases, tel TrkA, récepteur à haute affinité du facteur de croissance NGF (partie droite de la figure). Quant aux protéines-kinases A (PKA), elles sont couplées à des récepteurs métabotropiques liés à des protéines G stimulatrices « Gs » (5) ou inhibitrices « Gi » (6) par l'intermédiaire de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) (partie gauche de la figure).

#### **I.2.1.2.3.2. Les récepteurs à la bradykinine B1 et B2**

Les kinines (bradykinine et kallidine) sont des peptides aux rôles multiples dans l'hyperalgésie. Ils interviennent dans la cascade de l'inflammation en stimulant la production de cytokines (interleukines, TNF- $\alpha$ , etc.), la libération d'acide arachidonique et la dégranulation des mastocystes. La bradykinine active et sensibilise les nocicepteurs via des récepteurs de type B2, déclenchant ainsi la libération de peptides (substance P, CGRP). Les tissus normaux sont dépourvus de récepteurs de type B1 qui ne sont synthétisés qu'en présence d'une inflammation par intervention du facteur nucléaire NF- $\kappa$ B. Le récepteur B1 est donc dit «inductible», à l'opposé du récepteur B2, «constitutif» (Guirimand, 2003).

#### **I.2.1.2.3.3. Les récepteurs de l'ATP : récepteurs purinergiques**

L'adénosine triphosphate (ATP) au delà d'une réserve énergétique de la cellule est aussi un neurotransmetteur important impliqué dans l'initiation et la transmission des processus douloureux. L'ATP interviendrait particulièrement dans les douleurs en relation avec des phénomènes ischémiques ou vasculaires (angine de poitrine, migraine, dysménorrhée, etc.). Après chirurgie, l'importance des lyses cellulaires provoquerait de fortes libérations d'ATP qui vont contribuer au processus douloureux. Les douleurs engendrées par des phénomènes de nécroses (comme au cours des pathologies malignes) pourraient aussi relever d'une action prépondérante de l'ATP. L'ATP agit via des récepteurs purinergiques ionotropes (P2X) qui sont des récepteurs de type canaux ioniques et des récepteurs métabotropiques (P2Y) qui sont des récepteurs liés à une protéine G. Sept récepteurs P2X (classés de 1 à 7) sont identifiés. Le plus intéressant est le récepteur P2X3 que les nocicepteurs périphériques non peptidergiques expriment plus spécifiquement. A noter que ce récepteur est exprimé aux deux extrémités du neurone, à la fois en périphérie (au niveau de la peau, de la langue, des viscères, de la vessie et de la pulpe dentaire, etc.) et à l'extrémité spinale. Il semble bien que dans un tissu normal, la concentration d'ATP requise pour stimuler un nocicepteur soit très élevée. Le même effet est obtenu avec des concentrations

bien moindres en présence d'une inflammation. Après application de capsaïcine pour déclencher une hyperalgésie, l'effet algogène de l'ATP est considérablement renforcé. Il en est de même après exposition de la peau aux ultraviolets (Guirimand, 2003; Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.1.2.3.4. Les récepteurs à l'acidité**

Il s'agit de la superfamille des canaux sodiques bloqués par l'amiloride et dénommée acid-sensing ionic channel (ASIC). Six sous-types de récepteurs ASIC ont été décrits, dont cinq sont exprimés dans les fibres afférentes primaires de petit diamètre. Ils sont activés à un pH de 6,9, proche du pH physiologique. Le pH des tissus enflammés pouvant baisser jusqu'à 5,5, il en résulte que le moindre phénomène inflammatoire ou lésionnel s'accompagnera d'une activation de ces récepteurs. Il est probable que la douleur déclenchée par un exercice musculaire violent et prolongé résulte des effets des acides carbonique et lactique sur ces récepteurs ASIC (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.1.3. Transmission des influx nociceptifs**

La transmission de l'influx nociceptif est le résultat d'un long processus nerveux qui implique le système nerveux périphérique (SNP) et le système nerveux central (SNC). Cette douleur est initiée par les neurones afférents primaires du SNP et sera relayé au SNC, via le corps cellulaire des neurones afférents primaires se trouvant dans les ganglions de la racine dorsale (DRG) (Thériault, 2014).

Le processus de la perception de la douleur peut se diviser en quatre processus principaux : la transduction, la conduction, la transmission et l'interprétation. Les neurones afférents primaires détecteront un signal potentiellement nocif de la périphérie vers la moelle épinière à l'aide de récepteurs spécifiques et permettront la transduction du signal nociceptif en un signal électrique (transduction). Le courant ainsi généré permettra le déclenchement du potentiel d'action (PA), *via* l'activation de canaux sodiques dépendant du voltage, dans le neurone afférent primaire

(conduction). Le potentiel d'action ainsi créé sera conduit jusqu'à l'extrémité présynaptique où il déclenchera la libération des neurotransmetteurs sous la dépendance d'un influx de  $Ca^{++}$  par les canaux calciques. Cette libération de neurotransmetteurs, principalement du glutamate, permettra la transmission du signal aux neurones de deuxième ordre de la moelle épinière. Finalement, il y aura transmission du signal au niveau des aires supérieures, où plusieurs régions sont impliquées dans l'intégration et l'interprétation du signal (Raouf, et al., 2010; Thériault, 2014).

### **I.2.1.3.1. Canaux sodiques dépendant du voltage**

L'activation des récepteurs membranaires dépolarise les fibres sensorielles et ainsi active les canaux sodiques dépendant du voltage ( $Na_v$ ) responsables du déclenchement des potentiels d'action qui seront transmis aux neurones centraux (Mazzuca, 2007). Ils ont un rôle crucial dans le contrôle de l'excitabilité des neurones et la transmission du potentiel d'action mais aussi dans de nombreuses neuropathies chroniques douloureuses observées après des lésions des nerfs périphériques (Adam, 2014; Mazzuca, 2007). Sur le plan pharmacologique, il s'agit en général de canaux à bas seuil dont la cinétique d'inactivation est rapide et que l'on peut bloquer par la tétrodotoxine (tétrodotoxine-sensible, TTXs). Ils sont présents sur la membrane des terminaisons des fibres afférentes primaires, qu'elles soient ou non myélinisées. Les anti-arythmiques, les anti-convulsivants et les anesthésiques locaux bloquent principalement les canaux sodiques TTXs responsables du déclenchement du potentiel d'action. Les anesthésiques locaux sont couramment employés en anesthésie pour inhiber la transmission des influx nociceptifs durant l'intervention chirurgicale et réduire la douleur postopératoire (blocs nerveux). Les fibres nociceptives amyéliniques possèdent en outre la singularité de présenter au sein de leurs membranes des canaux sodiques insensibles à la tétrodotoxine (tétrodotoxine-résistant, TTXr). A la différence des canaux TTXs, leur seuil est élevé et leur cinétique d'inactivation est lente. Les courants TTXr sont augmentés par plusieurs médiateurs

"hyperalgésiques" par l'intermédiaire de protéines-kinases A (prostaglandine, sérotonine) ou de protéines-kinases C (bradykinine, histamine). La synthèse de canaux TTXr est augmentée au cours de l'inflammation (Le Bars & Willer, 2004).

#### **I.2.1.3.2. Canaux calciques dépendant du voltage**

Ces canaux calciques sont exprimés au niveau des nocicepteurs, plus particulièrement au niveau des terminaisons présynaptiques spinales des neurones des ganglions spinaux où ils contrôlent le relargage des neurotransmetteurs ainsi qu'au niveau des terminaisons nerveuses périphériques (Mazzuca, 2007).

La libération des neuromédiateurs et neuromodulateurs est avant tout déterminée par la concentration du calcium présynaptique, elle-même sous la dépendance de courants calciques qui parcourent des canaux spécifiques (Le Bars & Willer, 2004).

Parmi les différents types de canaux calciques dépendant du voltage mis en évidence, deux sont très impliqués dans la nociception, il s'agit des types N et T. Les canaux calciques de type N ( $Ca_v2.2$ ) sont présents sur les fibres afférentes primaires et au niveau des terminaisons nerveuses. Ils jouent un rôle primordial dans l'excitabilité et la libération des neuromédiateurs au niveau spinal. Sur le plan pharmacologique, ils sont bloqués par la  $\omega$ -conotoxine dont un des analogues synthétiques utilisables chez l'homme est le ziconotide. Les canaux calciques de type T  $Ca_v3$  ( $Ca_v3.1-3.3$ ) sont présents sur les fibres afférentes primaires et au niveau des fibres post-synaptiques où ils agissent conjointement avec le récepteur de la substance P pour activer le récepteur NMDA. Ce récepteur a un rôle majeur dans la sensibilisation centrale, à ce titre, il représente une cible analgésique à fort potentiel thérapeutique (Adam, 2014).

### **I.2.2. Mécanismes spinaux de la nociception**

#### **I.2.2.1. Projections spinales des fibres périphériques**

Sur le plan anatomique, les fibres fines  $A\delta$  et C s'étalent sur un à six segments dans la substance blanche dorso-latérale pour se terminer dans les couches

superficielles (I et II) de la corne dorsale. Cette diffusion sur plusieurs étages réduit la netteté du message douloureux en le mélangeant à d'autres informations non nociceptives et issues d'autres territoires. L'information est ensuite divulguée soit vers le cerveau (neurones ascendants), soit vers d'autres étages de la moelle ou vers la partie antérieure de la moelle qui contient les motoneurones commandant les activités réflexes. Exemple : retirer sa main d'un endroit brûlant.

### I.2.2.2. Neurones de la corne dorsale de la moelle

Dans la moelle, les fibres périphériques font synapses avec deux catégories principales de neurones qui répondent à des stimuli nociceptifs. Les premiers sont spécifiquement activés par ces stimuli (neurones nociceptifs spécifiques), les seconds y répondent de façon préférentielle mais non exclusive (neurone à convergence ou "wide dynamic range") (Adam, 2014).

- les **neurones nociceptifs dits spécifiques** reçoivent exclusivement des fibres A $\delta$  et C. Certains répondent exclusivement à un type de stimulus nociceptif, thermique ou mécanique par exemple (Adam, 2014). Ils sont localisés en plus grand nombre dans les couches les plus superficielles de la moelle (couches I et II). Ces neurones expliquent le rapprochement entre des sensations thermiques et douloureuses, deux sensations importantes pour l'homéostasie (Guirimand, 2003).
- les **neurones nociceptifs dits non spécifiques** encore appelés neurones à convergence, ou encore neurones à large gamme réceptive car ils répondent aussi à des stimulations non nociceptives. Ils sont situés dans les couches profondes de la corne dorsale de la moelle (couche V de Rexed). Leur fréquence de décharge et la durée d'émission des signaux codent l'intensité de la stimulation. Des fibres afférentes primaires, provenant de territoires cutané ou viscéral peuvent faire synapse avec un même neurone de projection. Cette convergence viscéro-somatique sert de base physiologique à l'explication des douleurs projetées : une stimulation d'origine viscérale sera intégrée au niveau des centres supérieurs comme provenant d'un territoire cutané. Exemples : douleur dans l'épaule droite



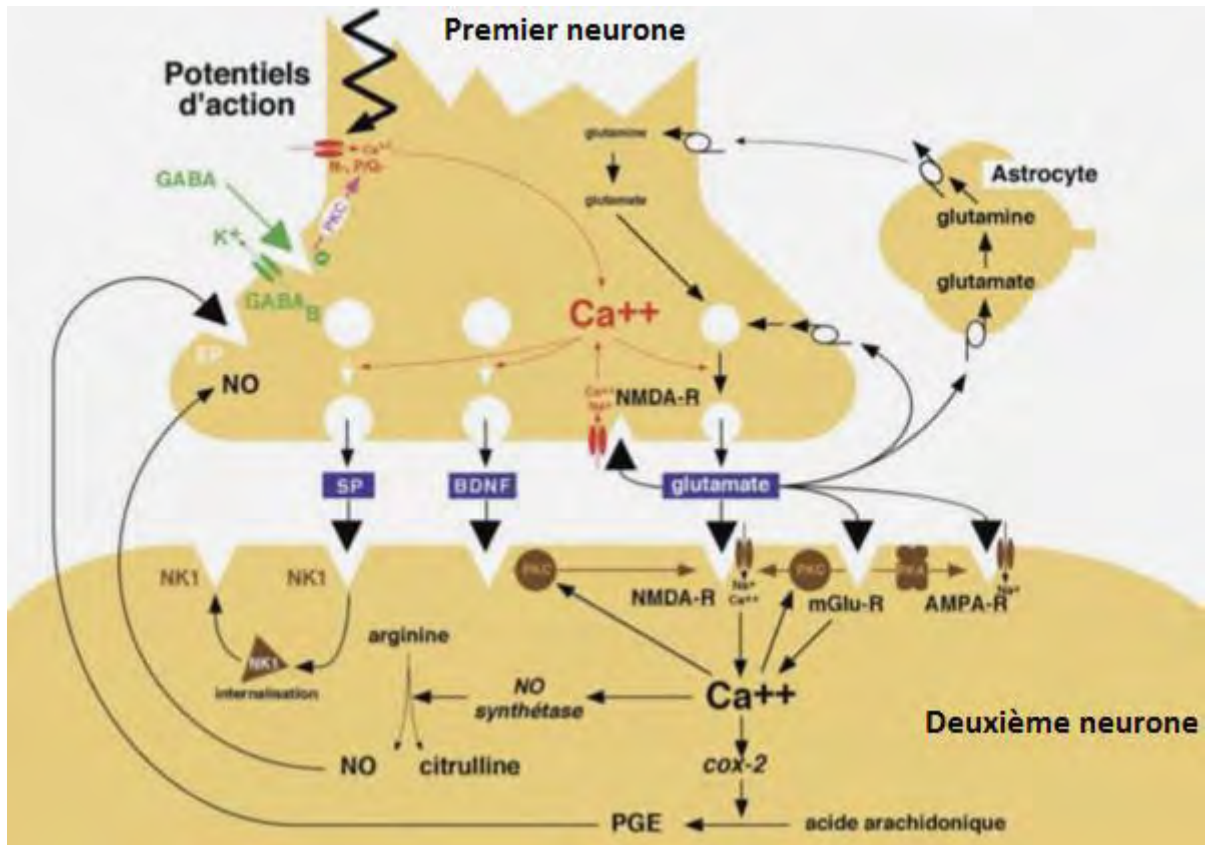
de la colique hépatique ; infarctus du myocarde, douleur au niveau de la poitrine ainsi qu'au niveau du bras gauche (Guirimand, 2003; Mann, 2012).

### **I.2.2.3. Libération de neuromédiateurs et de neuromodulateurs dans la moelle**

Dans la moelle sont libérés des neuromédiateurs et neuromodulateurs responsables de la transmission des messages nociceptifs périphériques vers les neurones spinaux. Il s'agit de deux groupes principaux de substances, les **acides aminés excitateurs comme le glutamate** qui sont les neurotransmetteurs à proprement parler et des **neuropeptides** qui modulent les effets des premiers. Leur libération, par exocytose des vésicules synaptiques, est déclenchée par le calcium cytosolique des terminaisons des fibres afférentes primaires. Les neuropeptides sont très nombreux (substance P, somatostatine, CGRP, cholécystokinine, neurokinine A, ...) et pourraient jouer le rôle de neuromodulateurs, c'est-à-dire de substances endogènes qui, sans avoir d'effets propres, modulent les effets excitateurs ou inhibiteurs des neurotransmetteurs (acides aminés excitateurs et inhibiteurs) (**Figure 9**).

La survenue de potentiels d'action au niveau des membranes des terminaisons provoque l'ouverture de canaux calciques dépendant du voltage. L'augmentation de la concentration calcique va déclencher la libération d'un certain nombre de médiateurs dont le glutamate. Ce dernier va interagir avec trois types de récepteurs postsynaptiques :

- ✓ récepteur ionotropique acide-2-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxalone (AMPA)/kaïnate (AMPA-R) qui ouvre un canal sodique ;
- ✓ récepteur métabotrope (mGlu-R) qui sensibilise le récepteur AMPA/kaïnate par une protéine-kinase A (PKA) ;
- ✓ le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA) par une protéine-kinase C (PKC) ; qui ouvre un canal cationique, préférentiellement calcique.



**Figure 9 : Libération de neuromédiateurs et de neuromodulateurs par les terminaisons centrales des fibres afférentes primaires (Le Bars & Adam, 2002)**

En outre, le glutamate libéré dans la fente synaptique va se fixer sur des récepteurs présynaptiques pour favoriser sa propre libération ou être capturé par des transporteurs actifs situés sur les membranes de la terminaison et des astrocytes qui l'entourent.

Les peptides, notamment la substance P (SP), sont également libérés. Le complexe ligand-récepteur SP/NK1 s'internalise rapidement pour être recyclé ultérieurement.

Sous l'influence du NGF, le facteur neurotrophique cérébral (BDNF) est surexprimé par les phénomènes inflammatoires périphériques. Il se lie au récepteur à forte affinité tyrosine-kinase B (TrkB) pour phosphoryler le récepteur NMDA par l'intermédiaire d'une PKC.

L'ensemble de ces phénomènes déterminés avant tout par la concentration de calcium présynaptique, se trouve sous la dépendance de nombreux mécanismes qui vont favoriser ou inhiber la libération des neuromédiateurs et neuromodulateurs. C'est le cas du récepteur acide gamma-amino-butyrique (GABA-A).

Enfin, le calcium cytosolique de l'élément postsynaptique active la production d'oxyde nitrique et de cyclo-oxygénase (COX-2). De concert avec les récepteurs NMDA présynaptiques, prostaglandines (PG) E et monoxyde d'azote (NO) favorisent l'entrée de calcium dans l'élément présynaptique (**Figure 9**).

### **I.2.2.3.1. Récepteurs présynaptiques**

La concentration de calcium cytosolique présynaptique est régulée par un certain nombre de mécanismes qui vont favoriser ou inhiber la libération des neuromédiateurs et neuromodulateurs. Ces mécanismes, pour la plupart connus de longue date, sont déclenchés par des récepteurs spécifiques. Parmi les premiers, "pronociceptifs", il y a l'ATP (récepteurs P2X), la sérotonine (récepteurs 5-HT<sub>3</sub>) et les prostaglandines (récepteurs EP). Parmi les seconds, "antinociceptifs", on distingue l'acide gamma amino butyrique (GABA) (récepteurs GABA-B), la noradrénaline (récepteurs  $\alpha_2$ ), la sérotonine (récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et 5-HT<sub>1B</sub>) et les opioïdes ( $\mu$ ,  $\delta$  et  $\kappa$ ). Ces récepteurs agissent par divers mécanismes.

### **I.2.2.3.2. Effets des acides aminés excitateurs**

Les récepteurs du glutamate et de l'aspartate sont répartis en trois grandes familles (**Figure 10**). Les deux premiers comprennent un canal ionique qui règle l'entrée des cations dans la cellule. On distingue, selon leurs ligands, les récepteurs AMPA/kainate et les récepteurs NMDA. Les troisièmes sont des récepteurs "métabotropiques".

On attribue au récepteur NMDA un rôle central dans l'hyperalgésie d'origine centrale et dans l'évolution de la douleur vers la chronicité, d'autant que sa

stimulation provoque des modifications à long terme de l'excitabilité des neurones de la corne postérieure de la moelle.

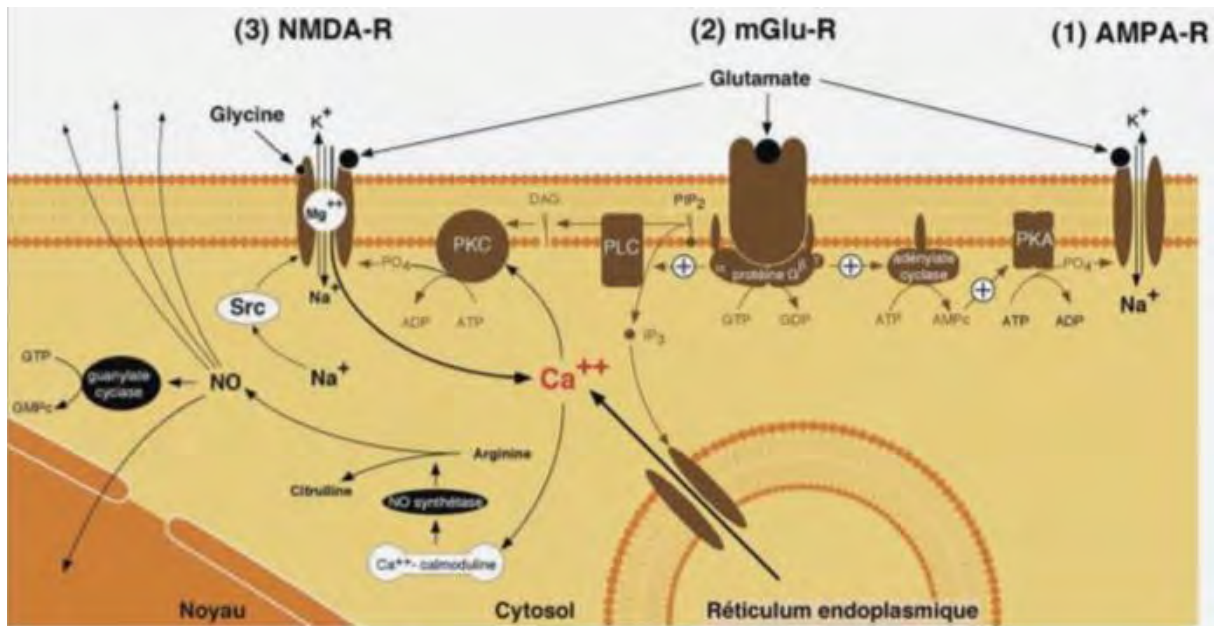


Figure 10 : Récepteurs glutamatergiques (Le Bars & Adam, 2002)

Il existe plusieurs sous-familles de récepteurs "métabotropiques" liés à une protéine G. Certains (mGluR1 et mGluR5) sont localisés sur les membranes pré et postsynaptiques et sont couplés à une chaîne de réactions excitatrices intracellulaires. Il s'agit soit de l'activation d'une phospholipase C, activation d'une PKC puis phosphorylation du récepteur NMDA ou production d'AMP cyclique, activation d'une protéine-kinase A puis phosphorylation du récepteur AMPA/kaïnate. Au total, ces récepteurs métabotropiques sont à l'origine d'une augmentation de calcium cytosolique et d'une amplification des effets des récepteurs ionotropiques du glutamate. Ces seconds messagers intracellulaires, qui ne sont du reste nullement spécifiques de la nociception, entraînent un ensemble d'événements cellulaires, notamment la production NO et de COX-2, cette dernière, constitutive dans la moelle, provoquant la synthèse de prostaglandines. Après diffusion vers l'élément présynaptique, NO et prostaglandines y favorisent l'entrée de calcium. Il s'agit là typiquement de rétrocontrôles positifs qui, de concert avec les récepteurs NMDA présynaptiques, forment un nouveau "cercle vicieux" par lequel le glutamate favorise

sa propre libération, ce qui pourrait provoquer des phénomènes de sensibilisation à long terme. Le paracétamol est capable de rompre ce cercle vicieux en inhibant au niveau central la synthèse de prostaglandines et de NO.

Le processus d'inactivation du glutamate est simple. En effet, libéré dans la fente synaptique, il est capturé par des transporteurs actifs situés sur les membranes de la terminaison de la fibre afférente primaire et des astrocytes qui l'entourent. Ces derniers le transforment en glutamine qui est libérée puis recapturée de façon active par les fibres afférentes primaires, elles-mêmes la retransformant en glutamate (**Figure 10**).

### **I.2.2.3.3. Effets des peptides**

Le rôle de neuromédiateur de la substance P au niveau des terminaisons centrales des fibres afférentes primaires fines n'est pas élucidé. Il est vraisemblable cependant qu'elle module la transmission synaptique au travers d'une PKC en phosphorylant les récepteurs NMDA. Mais comme le complexe ligand-récepteur SP/NK1 s'internalise très rapidement, on ne peut être surpris par la fugacité de ses effets. Il est à noter par ailleurs que les souris transgéniques n'exprimant pas la substance P ou son récepteur NK1 sont à l'origine de résultats confus et contradictoires pour ce qui est de la nociception mais en revanche convergents et homogènes en ce qui concerne l'abolition de l'inflammation neurogène. Le rôle de la substance P "périphérique" est donc, quant à lui, bien confirmé (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.2.4. Rôle des cellules gliales**

Des données expérimentales suggèrent que les cellules gliales joueraient un rôle primordial dans les mécanismes impliqués dans la sensibilisation centrale (Milligan & Watkins, 2009).

Les cellules gliales sont des cellules non neuronales qui représentent plus de 70 % des cellules du système nerveux central. Parmi les différentes lignées, deux

apparaissent jouer un rôle primordial dans la modulation des influx nociceptifs, il s'agit de la microglie et des astrocytes. En cas de douleur pathologique, ces cellules sont activées par les neurotransmetteurs libérés au niveau de la fente synaptique par le premier neurone (acides aminés excitateurs, ATP, SP) mais également par le second neurone (NO, prostaglandines). En retour, les cellules gliales libèrent de l'ATP, du glutamate et des cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , interleukines 1 $\beta$  et 6) qui activent les cellules gliales avoisinantes et potentialisent la libération de neurotransmetteurs par les fibres nociceptives. L'ensemble de ces événements constitue des boucles rétroactives positives auto-entretenues entre les cellules nerveuses d'une part et les cellules gliales d'autre part, responsables d'une pérennisation de la douleur (Adam, 2014).

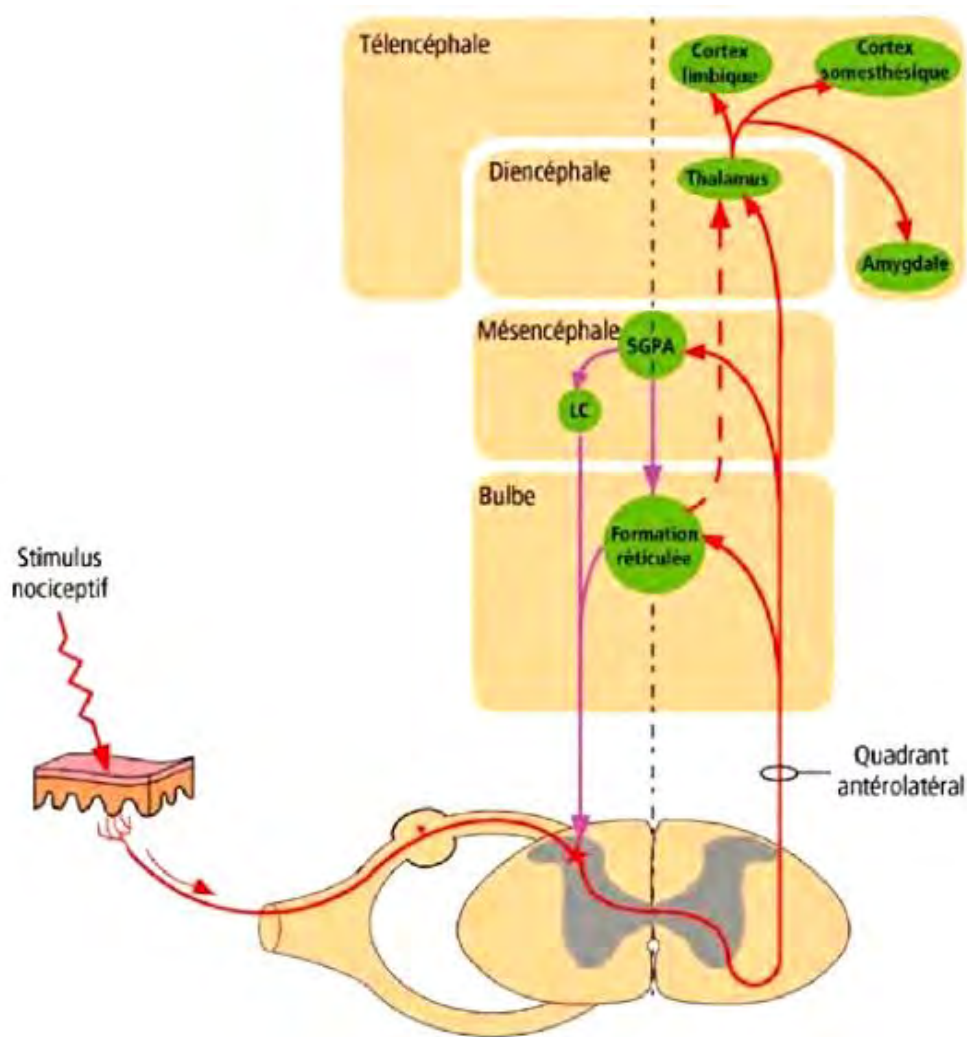
### **I.2.3. De la moelle au cerveau : mécanismes centraux**

#### **I.2.3.1. Transfert de l'influx nociceptif vers l'encéphale**

La majeure partie des messages nociceptifs croise la ligne médiane au niveau de la commissure grise antérieure, puis emprunte les voies ascendantes ventrolatérales (**Figure 11**).

Schématiquement, les neurones nociceptifs se projettent principalement vers la formation réticulée, le mésencéphale et le thalamus latéral (Guirimand, 2003). La projection se fait aussi vers le noyau du faisceau solitaire et le bulbe ventrolatéral. Bien que ces derniers ne participent pas directement à la perception douloureuse, ils interviennent dans les réactions neurovégétatives qui l'accompagnent, notamment l'augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle. L'organisation de ces projections concerne de nombreuses structures étagées à tous les niveaux hiérarchiques du système nerveux central, de telle sorte que c'est le cerveau dans son ensemble, depuis le bulbe jusqu'au cortex cérébral, qui est informé de la survenue d'un événement nociceptif. Plusieurs faisceaux ont ainsi été décrits dont trois

principalement : le faisceau spinothalamique, le faisceau spinoréticulaire et le faisceau spino- (ponto-) mésencéphalique (Adam, 2014).



**Figure 11 : Représentation schématique des voies somesthésiques ascendantes et des contrôles inhibiteurs descendants issus du tronc cérébral (Adam, 2014)**

#### **I.2.3.1.1. Faisceau spinothalamique**

Le faisceau spinothalamique rassemble des neurones qui cheminent dans le quadrant antérolatéral de la moelle, du côté controlatéral à leur site d'origine. Les neurones issus de la corne postérieure se projettent sur le thalamus latéral (noyau ventro-postéro-latéral et groupe postérieur). Les neurones issus des couches VII et VIII de la corne antérieure se terminent dans les régions médianes du thalamus (noyau central latéral). Il existe cependant un certain recouvrement entre ces deux

populations puisque certains neurones projettent à la fois sur les parties latérale et médiane du thalamus. Un contingent particulier issu de la couche I se projette vers le nucleus submedius et la partie postérieure du noyau ventromédian (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.3.1.2. Faisceau spinoréticulaire**

Les mêmes régions de la substance grise médullaire donnent naissance à des neurones spinoréticulaires dont les axones cheminent également dans le quadrant antérolatéral. Les régions cibles du faisceau spinoréticulaire ont les noyaux gigantocellulaire et réticulaire latéral, qui reçoivent des fibres issues de la corne antérieure, et une région très caudale, dénommée subnucleus reticularis dorsalis, qui reçoit des fibres issues des couches I et V-VII. La mise en évidence de fibres ascendantes se projetant à la fois aux niveaux réticulaire et thalamique est une preuve anatomique supplémentaire de la complémentarité de ces deux systèmes (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.3.1.3. Faisceaux spino- (ponto-) mésencéphaliques**

Les faisceaux spino-(ponto-) mésencéphaliques projettent essentiellement sur deux structures du tronc cérébral : la substance grise péri-aqueducule et l'aire parabrachiale, située dans la région dorsolatérale du pont. L'aire parabrachiale reçoit des informations en provenance de la couche I de la moelle par des fibres qui cheminent dans le funicule postérolatéral (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.2.3.2. Traitement des influx nociceptifs dans l'encéphale**

Plusieurs voies ascendantes sont susceptibles de faire parvenir les messages nociceptifs au cerveau. Il s'agit du thalamus où se trouvent les relais majeurs de toutes les informations sensorielles vers le cortex cérébral. Il y a également les relais bulbaires et pontomésencéphaliques qui sont également impliqués dans le processus de traitement de l'information nociceptive (Adam, 2014).



### **I.2.3.2.1. Relais thalamiques**

Il existe schématiquement deux voies susceptibles d'acheminer des messages nociceptifs dans le thalamus :

- Les voies qui se terminent dans le thalamus latéral. Il est classiquement admis que la composante sensorielle discriminative de la douleur s'exprime grâce aux neurones des noyaux ventropostérolatéral et ventropostéromédian. Ces noyaux thalamiques se projettent en abondance sur les cortex somesthésiques primaire et secondaire.
- Les voies qui se terminent dans le thalamus médian. Il s'agit de neurones dont le champ récepteur périphérique est diffus (non somatotopique). Ils jouent un rôle non pas dans la composante sensorielle discriminative de la douleur mais dans l'élaboration de réactions motrices et émotionnelles liées à la douleur.

### **I.2.3.2.2. Relais réticulaires**

La formation réticulée bulbaire correspond à une zone de contrôle et d'interactions de multiples systèmes, principalement ceux de la vigilance, du végétatif, de la motricité et de la nociception. Dans cette structure il existe un noyau, le SRD, qui joue un rôle spécifique dans la douleur. Ses neurones sont activés de façon quasi exclusive par tout stimulus nociceptif, somatique ou viscéral. Ces neurones encodent fidèlement l'intensité des stimulations nociceptives. Le SRD projette massivement vers le thalamus médian et constitue un relais essentiel des voies spinoréticulothalamiques. Les neurones de ce noyau émettent également des axones descendants vers tous les segments de la moelle et jouent un rôle important dans des mécanismes spinobulbospinaux de régulation.

### **I.2.3.2.3. Relais bulbaires, pontiques et mésencéphaliques**

La formation réticulée et la substance grise péri-aqueducule contiennent des neurones répondant aux stimulations nociceptives. Cependant la région pontomésencéphalique la plus intéressante est l'aire parabrachiale, puisqu'elle reçoit

directement les informations issues des couches I de la corne postérieure de la moelle. De plus, elle envoie une très forte projection sur le système limbique en particulier sur le noyau central de l'amygdale et sur l'hypothalamus. Il semble donc raisonnable d'attribuer à cette région un rôle important dans les processus végétatifs, émotionnels et endocriniens liés à la douleur.

### **I.2.3.2.4. Relais corticaux**

Il a été montré que les cortex somesthésique primaire et secondaire (S1 et S2) sont activés par des stimulations nociceptives, mais cette activation est moindre que celle enregistrée dans les cortex cingulaire et insulaire. Ces derniers appartiennent au système limbique dont le rôle est primordial dans la genèse des émotions. Enfin le cortex préfrontal semble être essentiel dans les aspects cognitifs de la douleur.

### **I.2.4. Mécanismes de contrôle physiologique de la douleur**

Du stimulus périphérique à la sensation de douleur, de multiples contrôles modulent le message nociceptif sous la dépendance d'influences excitatrices mais également inhibitrices (Guirimand, 2003; Le Bars & Willer, 2004). Ces phénomènes de modulation sont classés selon l'origine des mécanismes d'inhibition qui leur donnent naissance au niveau des structures aussi bien spinales que supraspinales (Calvino & Grilo, 2006). Il s'agit d'abord des contrôles segmentaires et contrôles d'origine supraspinale (Le Bars & Willer, 2004).

#### **I.2.4.1. Contrôles segmentaires spinaux**

Il s'agit des contrôles les plus étudiés depuis les travaux initiateurs de Melzack et Wall dans les années 60 avec la théorie du "gate control" ou théorie des portillons. Cette dernière avait suggéré que la transmission des messages nociceptifs dépendait dès le 1<sup>er</sup> relais spinal, d'interactions de messages inhibiteurs et excitateurs (Guirimand, 2003; Adam, 2014).

En effet, le modèle proposé par Melzack et Wall (Melzack & Wall, 1965) repose sur l'équilibre d'une balance entre deux types d'activités exercées sur les neurones nociceptifs non spécifiques spinaux, à l'origine des faisceaux ascendants spinothalamiques et spinoréticulaires (neurones notés T, "Trigger cells" dans la **figure 12**). Les unes sont activatrices d'origine segmentaire périphérique (véhiculées par les fibres nociceptives A $\delta$  et C), et les autres sont inhibitrices d'origine à la fois segmentaire périphérique (véhiculées par les fibres non nociceptives A $\alpha,\beta$ ) et supraspinales. En somme, l'activation des fibres de la sensibilité tactile légère A $\alpha,\beta$ , en augmentant l'activité des interneurons inhibiteurs, fermerait le portillon et bloquerait la transmission de l'information nociceptive vers les structures supraspinales (idée associée à une analgésie) ; alors que l'activation des fibres nociceptives A $\delta$  et C, en inhibant l'activité des interneurons inhibiteurs, ouvrirait le portillon et favoriserait la transmission de l'information nociceptive vers les structures supraspinales (idée associée à la sensation de douleur). Ce mécanisme de régulation spinal est lui-même soumis à des contrôles descendants d'origine supraspinale (Calvino & Grilo, 2006).

Ce modèle a par la suite été modifié par Wall lui-même, prenant en compte de nouvelles données expérimentales suggérant la mise en jeu non plus une, mais deux familles d'interneurones (l'une inhibitrice des neurones T activée par les fibres A $\alpha,\beta$  et l'autre activatrice des neurones T activée par les fibres A $\delta$  et C). Ces deux familles étant sous le contrôle de systèmes descendants d'origine supraspinale (**Figure 13**) (Wall, 1978).

Le modèle de la "Théorie du portillon" a été à l'origine de l'utilisation thérapeutique d'une technique de neurostimulation électrique périphérique ("Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation", TENS) : la stimulation antalgique de faible intensité et de haute fréquence est délivrée par l'intermédiaire d'électrodes de contact cutanées disposées au niveau segmentaire sur le territoire douloureux. Les effets analgésiques de la TENS, efficaces principalement dans les cas de douleurs

neuropathiques consécutives à des lésions des nerfs sensoriels, sont manifestes après plusieurs minutes de stimulation et se prolongent au-delà de l'arrêt de la stimulation, ce qui n'est pas en accord total avec le modèle.

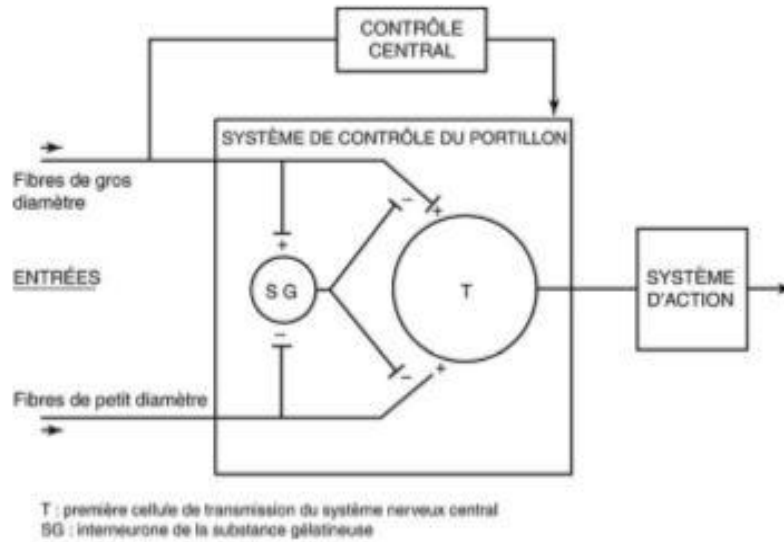


Figure 12 : Schéma de la "théorie du portillon" ("gate control theory") tel que proposé par Melzack et Wall en 1965

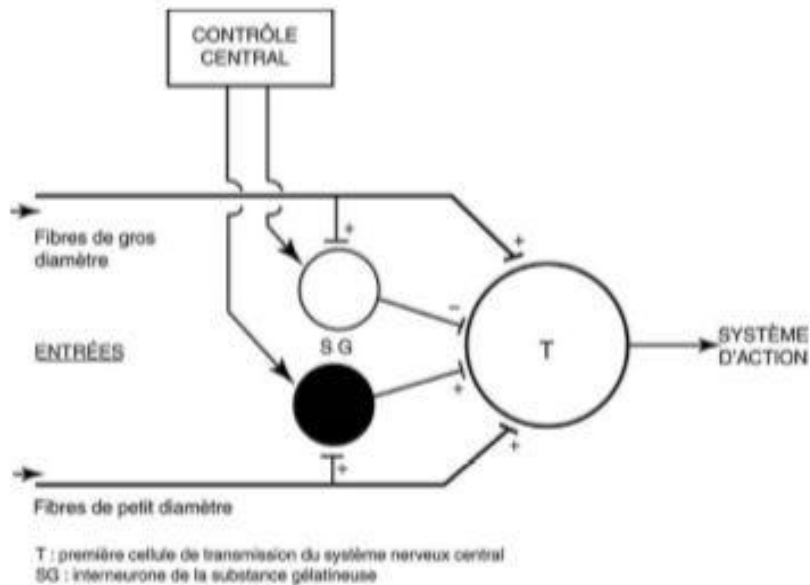
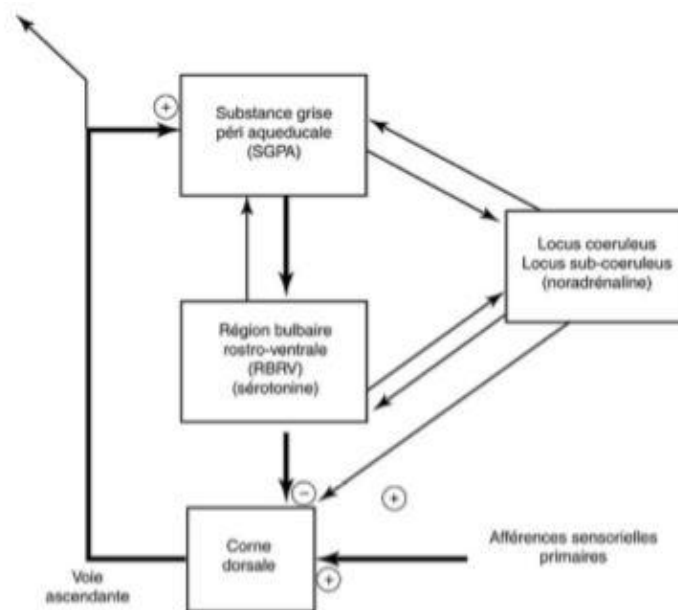


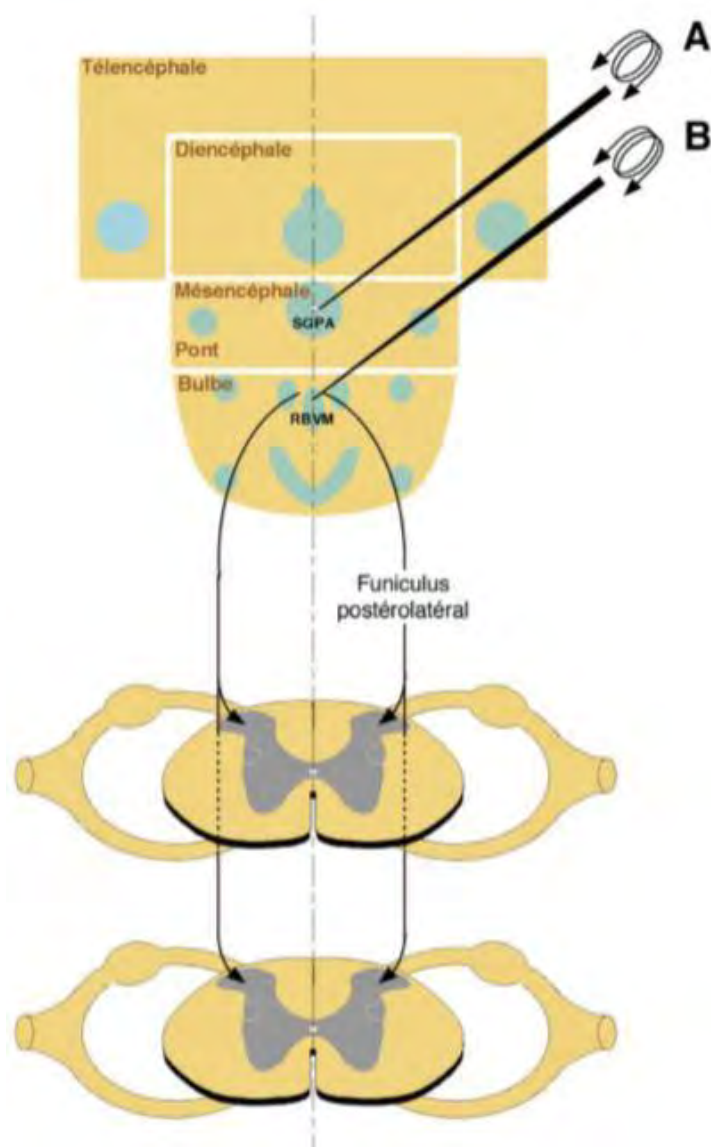
Figure 13 : Schéma révisé de la "théorie du portillon" (Wall, 1978)

### I.2.4.2. Contrôles d'origine supraspinale

Ces contrôles sont principalement exercés depuis le tronc cérébral. Les contrôles d'origine thalamique, hypothalamique et corticale sont moins bien connus. La stimulation localisée de la substance grise péri-aqueducale (SGPA) et de la région bulbaire ventromédiane (la région bulbaire ventromédiane comprend le noyau raphé magnus, le noyau paragigantocellulaire et le noyau gigantocellulaire) est capable d'induire une profonde analgésie (**Figure 14 et 15**). Cette analgésie pourrait résulter de l'activation de voies inhibitrices descendantes qui bloquent la transmission spinale des messages nociceptifs, en libérant la sérotonine et les opioïdes endogènes dans les couches superficielles de la corne postérieure (Le Bars & Willer, 2004). Il existe également des systèmes inhibiteurs descendants noradrénergiques, issus du locus coeruleus, qui inhibent les transmissions nociceptives médullaires via l'activation des récepteurs  $\alpha_2$ -adrénergiques (Adam, 2014).



**Figure 14 : Boucle de rétroaction négative spinobulbospinale sous-tendant un système analgésique endogène mis en jeu par des stimulations nociceptives (Basbaum & Fields, 1984)**



**Figure 15 : Représentation schématique des contrôles inhibiteurs issus du tronc cérébral qui s'exercent sur la transmission spinale des messages nociceptifs**  
(Le Bars & Willer, 2004)

La stimulation électrique de la substance grise périaqueducale (SGPA) (A) ou du noyau raphé magnus (région bulbaire ventromédiane [RBVM]) (B) provoque l'activation des contrôles inhibiteurs descendants qui cheminent dans les faisceaux postérolatéraux pour inhiber par des mécanismes sérotoninergiques et opioïdiques les neurones de la corne postérieure impliqués dans la transmission des messages nociceptifs vers les centres supérieurs.

#### **1.2.4.3. Contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN)**

On désigne sous le terme de contrôles inhibiteurs diffus induits par stimulation nociceptive (CIDN), l'inhibition des neurones à convergence de la corne postérieure,

due à l'application d'une stimulation exclusivement nociceptive sur une quelconque partie du corps, différente de leur champ périphérique excitateur. Les structures supraspinales impliquées dans ce phénomène sont localisées dans la formation réticulée bulbaire, incluant notamment le SRD. Il semblerait également que les systèmes sérotoninergiques et opioïdiques soient impliqués (Adam, 2014).

### **I.2.5. Classification des différents types de douleur**

Pour mieux comprendre la diversité des expériences douloureuses, la variabilité de leur sémiologie clinique mais également la nécessité de combiner des approches thérapeutiques diverses, il est utile de distinguer trois types principaux de douleurs sur la base des mécanismes physiopathologiques :

- la douleur "physiologique" ;
- la douleur "inflammatoire" ;
- la douleur "neuropathique".

#### **I.2.5.1. Douleur physiologique**

Elle est perçue en réponse à des stimulations brèves mais susceptibles de provoquer une lésion tissulaire. Le fonctionnement du système sensoriel qui encode et organise les réponses à ces stimuli se trouve dans un mode que l'on peut qualifier de normal. Ce mode est caractérisé par une relation simple et positive entre l'intensité du stimulus et l'ampleur des réponses (réactions tissulaires locales, réflexes automatiques de retrait, comportements d'évitements plus ou moins élaborés, émotions désagréables, etc.). Selon l'expérience passée et le contexte immédiat, ces réponses peuvent être modulées, soit dans le sens d'une facilitation, soit dans le sens d'une inhibition. Le système est donc bien assujéti à des mécanismes régulateurs, mais sa finalité biologique reste toujours de préserver notre intégrité corporelle.

### **I.2.5.2. Douleur inflammatoire**

Lorsque le stimulus nocif provoque une lésion, il déclenche des transformations tissulaires prolongées de type inflammatoire. Le système de la douleur entre dans un mode de fonctionnement différent et la relation entre une stimulation et les réponses évoquées change profondément :

- la douleur peut devenir spontanée (présente en l'absence de stimulation) ;
- dans la région lésée, le seuil de la douleur est abaissé et un stimulus douloureux est perçu de manière plus intense (hyperalgésie) ;
- la douleur peut se prolonger bien au-delà de l'application du stimulus ;
- un stimulus très léger (effleurement) peut devenir intensément douloureux (allodynie) ;
- cette hypersensibilité s'étend habituellement au-delà de la région lésée (hyperalgésie secondaire). Cependant, lorsque cette lésion guérit, le système de la douleur retourne vers son état de fonctionnement normal physiologique initial.

La finalité biologique de ces transformations est évidente, il s'agit de favoriser la guérison en ajustant les réactions et les comportements en mettant par exemple la région lésée au repos et la protéger (position dite "antalgique").

### **I.2.5.3. Douleur neuropathique**

La douleur neuropathique est celle qui résulte d'une lésion ou transformation pathologique du système somesthésique, qui entre dans un mode de fonctionnement pathologique et inadapté.

Les douleurs neuropathiques sont dues à une atteinte des voies afférentes et à une sensibilisation des neurones nociceptifs. Les formes fréquentes de douleur neuropathique périphérique incluent la polyneuropathie diabétique, la névralgie post-herpétique, les radiculopathies, ainsi que les lésions nerveuses chirurgicales et



traumatiques. Les douleurs neuropathiques centrales peuvent notamment survenir en cas de lésions de la moelle épinière, d'AVC ou de sclérose en plaques. Les douleurs neuropathiques sont caractérisées par des paresthésies, une dysesthésie, des douleurs brûlantes ou lancinantes, une hyperalgésie et une allodynie (Liechti, 2015).

Au tableau des symptômes de la douleur inflammatoire, il convient alors d'ajouter des douleurs "spontanées" continues (sensation permanente de brûlure, de torsion, de dilacération) ou paroxystiques (sensation de décharges « électriques » en salve), de douleurs dans une région par ailleurs insensible (la paradoxale "anesthésie douloureuse") ou encore de douleurs dans un membre fantôme après désafférentation (arrachement du plexus brachial ou amputation d'un membre par exemple), des paresthésies (fourmillements, picotements, engourdissements,...) et des dysesthésies (sensations très désagréables quoique non douloureuses). Si l'on en croit certains patients, il ne s'agit pas toujours de douleurs à proprement parler, mais d'une sensation "pire que la douleur". Il n'y a pas de finalité biologique à ce type de douleurs persistantes et le plus souvent rebelles aux thérapeutiques conventionnelles. Les douleurs neuropathiques résultent de lésions des nerfs périphériques ou du système nerveux central, le plus souvent dans ce dernier cas à la suite d'un accident vasculaire cérébral mais aussi d'une sclérose en plaques. Comme ces lésions sont responsables d'une réduction des influx ("désafférentation") provenant de la région rapportée comme douloureuse, les douleurs sont souvent attribuées à un dysfonctionnement des mécanismes de contrôle de la transmission des messages nociceptifs. Il faut cependant bien reconnaître que leur physiopathologie reste à ce jour largement méconnue. Des troubles sudoraux, vasomoteurs et trophiques leur sont parfois associés, ce qui suggère une perturbation du système sympathique. Différents termes (causalgie, algodystrophie, "reflex sympathetic dystrophy", "sympathetically maintained pain") ont été proposés pour désigner ces syndromes, qui font souvent suite à des lésions traumatiques ; aujourd'hui, on les désigne plutôt sous le terme générique de "syndrome douloureux

régional complexe". En tout état de cause, bien que regroupées sous un même terme parce qu'elles partagent des éléments sémiologiques communs, l'ensemble des douleurs neuropathiques regroupent en réalité des entités très variées sur le plan anatomoclinique (Le Bars & Willer, 2004).

### **I.3. Inflammation, douleur et maladies**

Il a été observé tout au long de cette bibliographie sur l'inflammation et la douleur, notamment dans les différents mécanismes qui les sous-tendent, qu'il existe plusieurs messagers chimiques et récepteurs communs aux deux syndromes. Cette constatation confirme les propos de Calvino et Trèves dans l'introduction de l'ouvrage "Douleur, Inflammation et Interactions Système Nerveux/Système Immunitaire", les mondes de la douleur et de l'inflammation se rejoignent. Les spécialistes de la douleur et de l'inflammation, cliniciens et chercheurs constatent qu'il existe des intrications entre les circuits de la douleur et ceux de l'inflammation, en particulier, avec le système immunitaire et le système opioïde endogène (Calvino & Trèves, 2007).

Ce chapitre sera consacré aux mécanismes liant la douleur et l'inflammation, aux pathologies inflammatoires et à celles associées au syndrome inflammatoire.

#### **I.3.1. Inflammation et douleur**

La douleur peut être considérée comme participant à une fonction protectrice, un signal d'alarme, à la suite d'une lésion ou d'un traumatisme d'un tissu périphérique de l'organisme engendrant une réaction de défense inflammatoire aiguë. Cette inflammation peut se prolonger dans le temps et engendrer des douleurs inflammatoires chroniques, mais peut aussi concerner un tissu nerveux engendrant une lésion neuropathique, et donc des douleurs neuropathiques chroniques. La douleur perd alors sa signification de signal d'alarme pour devenir une maladie en soi, un véritable syndrome (Calvino, 2007).

La douleur peut aussi intervenir comme signal d'alarme dans le contexte plus global d'une maladie systémique au cours de laquelle les réactions de défense sont mises en jeu par l'intermédiaire des systèmes endocrinien, végétatif et immunitaire. Ces derniers disposent de messagers chimiques et de récepteurs communs qui permettent des communications bidirectionnelles. Ces communications sont coordonnées par le système nerveux central (SNC) qui gère les réponses de l'organisme tant végétatives que comportementales afin d'activer les systèmes de protection (réactions de défense) indispensables au rétablissement de l'homéostasie physiologique nécessaire à la survie de l'organisme (Calvino, 2007).

Le SNC reçoit en permanence des informations sur l'état des tissus périphériques et en retour envoie des informations aux tissus périphériques et régule l'activité du système immunitaire par l'intermédiaire des voies de communication hormonale et du système nerveux végétatif. Cette intégration "centrale" intervient également au cours des réactions de défense de l'organisme lors d'une agression "systémique" issue de l'environnement, comme c'est le cas par exemple au cours d'une infection bactérienne ou virale. Cet ensemble de réactions a été décrit sous le terme de "comportement maladie", mettant en jeu des modifications comportementales (augmentation du sommeil, réduction de l'activité motrice, anorexie, adipsie, inhibition du comportement social par désintérêt pour les congénères et état de malaise) et des modifications physiologiques, principalement la fièvre (Dantzer, 1989).

### **Des messagers chimiques assurent la communication entre les différents systèmes :**

Les signaux mis en jeu au cours du développement des réactions de défense de l'organisme (inflammation, "comportement maladie") trouvent leur origine dans l'activation du système immunitaire. Ces signaux informent le SNC et le système nerveux périphérique par l'intermédiaire de messagers chimiques. Ces messagers

chimiques sont principalement les trois cytokines inflammatoires (IL1, IL6 et TNF $\alpha$ ) et les prostaglandines, particulièrement la PGE2. Elles interviennent dans de multiples fonctions dont le dénominateur commun est la détection des lésions tissulaires et donc des situations de menaces pour l'organisme.

La synthèse et la libération des cytokines dans l'environnement extracellulaire en réponse à des stimuli pathogènes sont des événements rapides qui interviennent dans une constante de temps de l'ordre de la minute, leur temps de demi-vie dans le plasma étant de l'ordre de quelques minutes. De plus, à l'inverse des hormones, ces messagers chimiques ne sont pas constitutivement exprimés et ne sont pas mis en jeu dans les régulations homéostatiques classiques. Ce sont essentiellement des messagers chimiques inductibles de type paracrine.

La bradykinine est à l'origine de la libération de prostaglandines, probablement PGE2, soit à partir de terminaisons nerveuses sympathiques ou de cellules dont l'activité est sous le contrôle des terminaisons nerveuses sympathiques, puisqu'un inhibiteur de COX-2 bloque les effets de l'injection de bradykinine. Le NGF, en se liant à son récepteur TrkA à haute affinité exprimé par les terminaisons nerveuses sympathiques, est à l'origine de la libération des messagers chimiques pronociceptifs qui vont sensibiliser les nocicepteurs (**Figure 7**).

Les mécanismes inflammatoires conduisent à l'expression de phénomènes douloureux (Calvino & Trèves, 2007). En effet, l'inflammation résulte de la libération de substances dont un bon nombre est neuroactif. La fonction chémoréceptrice des nocicepteurs devient alors déterminante pour engendrer la douleur inflammatoire. Ainsi, les ions potassium, les ions hydrogène et l'adénosine triphosphate (ATP) issus des cellules lésées de même que la bradykinine sont les seules substances endogènes excitatrices à proprement parler, les autres étant avant tout "sensibilisatrices". Cette sensibilisation des nocicepteurs se caractérise par la baisse de leur seuil de dépolarisation, ce qui signifie qu'ils deviennent sensibles à des stimulations de plus

faible intensité. En outre, les terminaisons nerveuses des fibres sensorielles sont protégées par une barrière, le périneurium, qui isole le tissu endoneural et empêche le passage des grosses molécules et des molécules hydrophiles comme les peptides. Lors d'une inflammation, la rupture de cette barrière facilite la diffusion de ces molécules et par conséquent leurs effets sur leurs cibles potentielles.

Les substances algogènes peuvent être formées localement ou être circulantes, leur action étant alors facilitée par la fréquente contiguïté des terminaisons libres des fibres A $\delta$  et C avec les artérioles et les veinules. Ces substances peuvent être classées en trois groupes en fonction de leur principale origine :

- les cellules lésées ;
- les cellules de la lignée inflammatoire ;
- les nocicepteurs eux-mêmes.

Lors de douleurs cancéreuses par exemple, d'autres substances comme l'endothéline s'ajoutent probablement à cette liste.

L'amplification du message est assurée non seulement par les substances libérées au sein du foyer inflammatoire, mais également par le biais d'un recrutement supplémentaire de fibres adjacentes activées ou sensibilisées, notamment par le phénomène du réflexe d'axone ; c'est ce qu'on appelle l'inflammation neurogène. Ainsi, les fibres afférentes primaires contribuent elles aussi à cette "soupe inflammatoire" en libérant des neuropeptides. Cet ensemble d'interactions neurochimiques subtiles fournit le substratum au phénomène d'hyperalgésie dont le point de départ concerne à la fois le tissu lésé (hyperalgésie primaire) mais aussi les tissus sains qui l'entourent (hyperalgésie secondaire). Il permet d'expliquer la rougeur, l'œdème et l'hyperalgésie cutanée observés au cours des arthrites inflammatoires, lorsqu'un simple effleurement de la peau est perçu comme douloureux, alors que le processus pathologique initial est intra-articulaire (Coutaux, et al., 2005).

### **I.3.2. Les pathologies inflammatoires chroniques**

De nombreuses maladies inflammatoires sont liées à des mécanismes considérés comme dysimmunitaires. Ces affections ont été regroupées sous le terme d'IMID (immune mediated inflammatory diseases), communément appelé maladies inflammatoires médiées par le système immunitaire, comprennent trois grandes entités nosologiques :

- les maladies auto-immunes systémiques (non spécifiques d'organe) et localisées (spécifiques d'organe) ;
- les maladies auto-inflammatoires ;
- les affections inflammatoires de mécanisme indéterminé comprenant, notamment, des affections iatrogènes ou paranéoplasiques dont le mécanisme n'est pas auto-immun (Sibilia, 2007).

Ces maladies liées à une hyperactivité du système immunitaire (fabrication d'auto-anticorps dirigés contre les organes), peuvent affecter tous les organes : tube digestif (maladie de Crohn), poumons (asthme), peau (psoriasis), vaisseaux (accidents vasculaires), système nerveux (scléroses en plaques), articulations (rhumatismes) (Boissier, 2013).

La polyarthrite rhumatoïde (PR) et la maladie de Crohn (MC) ou maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) ont été particulièrement développées dans ce chapitre.

#### **I.3.2.1. La polyarthrite rhumatoïde (PR)**

La PR est la plus fréquente parmi les rhumatismes inflammatoires chroniques (Hellal, 2007). Elle se caractérise par le développement d'une inflammation de la membrane synoviale (membrane qui tapisse l'articulation), appelée synovite rhumatoïde. Cette synovite peut entraîner des destructions articulaires plus ou moins

importantes, plus ou moins rapides, la sévérité de l'atteinte articulaire étant très variable d'un patient à l'autre (Mathieu & Guimezanes, 2011).

### **I.3.2.1.1. Causes**

La cause initiale de la maladie reste jusqu'à aujourd'hui inconnue (Hellal, 2007). Cependant des facteurs environnementaux et des gènes de susceptibilité ont été identifiés (Mathieu & Guimezanes, 2011).

- **Facteurs environnementaux :**

- ✓ L'hypothèse d'une infection (virale ou bactérienne) déclenchante a été avancée. Dans cette dernière, des microbes porteraient des molécules ressemblant à des molécules articulaires. Le système immunitaire, après avoir été activé par ces micro-organismes, réagirait par erreur contre les structures des articulations ("réactions croisées" ou "mimétisme moléculaire"). Chez l'homme, les soupçons se sont portés sur les mycobactéries, le virus Epstein-Barr, les rétrovirus comme HTLV et des germes provenant de la cavité buccale, sans preuves établies ;
- ✓ Les hormones semblent aussi jouer un rôle. En effet, la PR touche plutôt les femmes, avec un sexe-ratio en moyenne de 3 femmes atteintes pour un homme. D'autre part, la maladie se déclenche souvent chez les femmes au cours de la ménopause ou après un accouchement ;
- ✓ Le rôle nocif du tabac a également été évoqué.

- **Gènes de susceptibilité :**

Il s'agit de gènes de susceptibilité impliqués dans l'immunité innée. En effet, certaines formes de récepteurs PRR de détection des motifs microbiens, ou certaines formes du récepteur de la cytokine TNF- $\alpha$ , l'immunité adaptative (HLA-DR4) ont été incriminées. Ces gènes ne sont ni nécessaires, ni suffisants au déclenchement de la maladie.

I.3.2.1.2. Mécanismes cellulaires impliqués

La phase initiale de la maladie présuppose un recrutement de lymphocytes T, essentiellement CD4+, au travers de la membrane synoviale (Figure 16). Les lymphocytes acquièrent alors un phénotype Th1 et libèrent des cytokines pro-inflammatoires stimulant les macrophages résidents (Hellal, 2007).

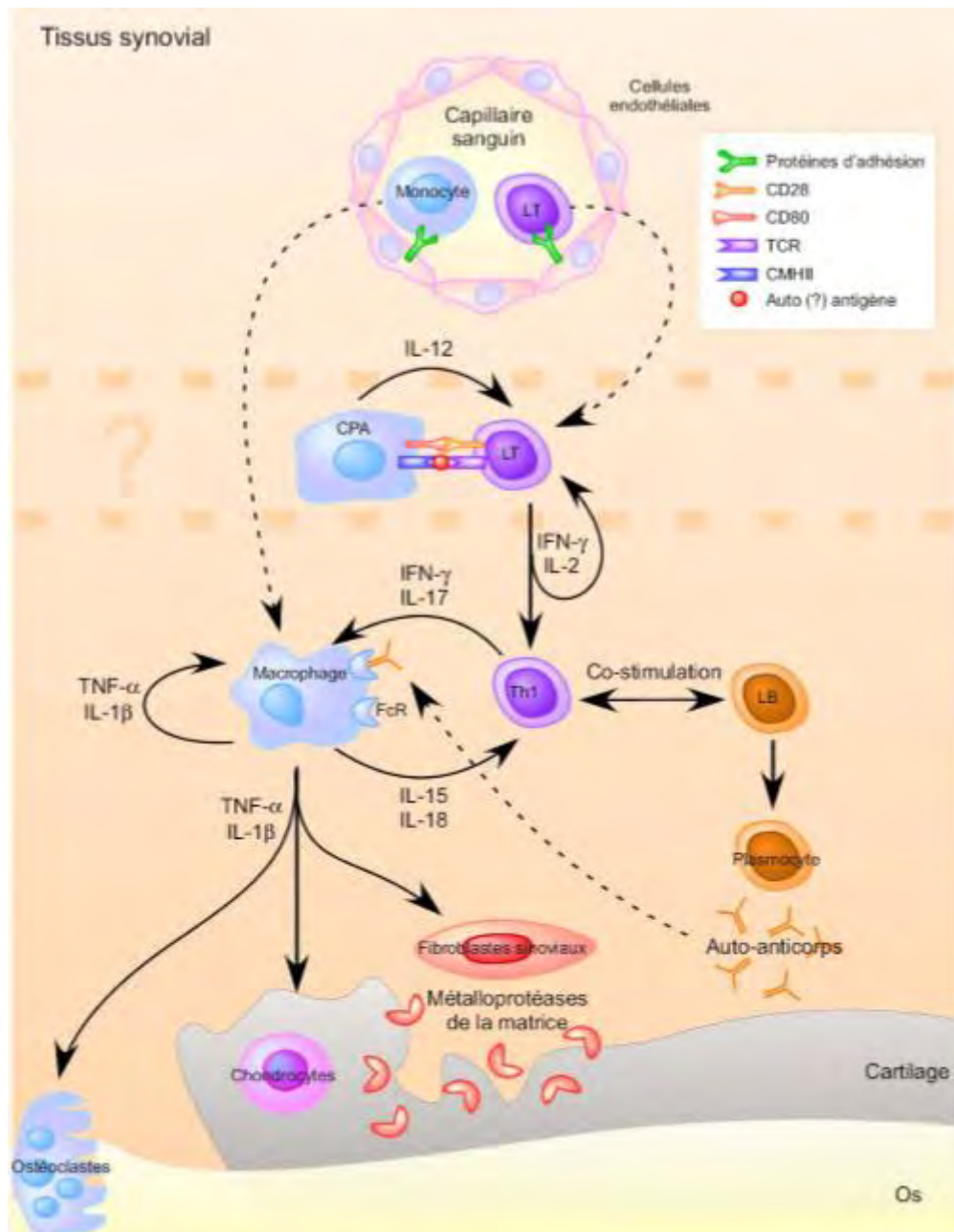


Figure 16 : Représentation schématique des évènements cellulaires intervenant au cours de la polyarthrite rhumatoïde (Hellal, 2007)



Les macrophages sont hyper-activés, produisent massivement des enzymes (aggrecanases et métallo-protéases matricielles) qui dégradent le cartilage articulaire et les os, ainsi que des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ ). Le macrophage active aussi directement les cellules de la membrane synoviale qui vont sécréter de l'IL-1 et du TNF- $\alpha$ . Ceci va contribuer à la chronicité de l'inflammation. L'IL-6 favorise la prolifération et la différenciation des ostéoclastes. Ces cellules sont à l'origine de la destruction du cartilage. Enfin, dans le liquide synovial, on retrouve de nombreuses chimiokines qui amplifient la réponse inflammatoire (Mathieu & Guimezanes, 2011).

### **I.3.2.2. La maladie de Crohn**

La maladie de Crohn est une maladie inflammatoire chronique qui peut toucher n'importe quel segment du tube digestif, mais le plus souvent le côlon et l'iléon. Elle peut s'accompagner de manifestations extra-intestinales (articulaires, cutanées, oculaires...) (Mathieu & Guimezanes, 2011).

Chez l'individu sain, la muqueuse intestinale est un tissu particulièrement exposé aux antigènes alimentaires et à la flore microbienne, maintenu dans un état d'inflammation contrôlé, tout en conservant sa faculté de réponse aux agents pathogènes. Une dérégulation de la perception immunitaire peut entraîner une rupture de l'homéostasie, et exposer l'individu à une réponse inflammatoire incontrôlée et pathologique (Hellal, 2007).

#### **I.3.2.2.1. Etiologie**

Les causes de la maladie de Crohn sont encore inconnues. Il s'agit dans tous les cas d'une maladie multifactorielle, avec une composante environnementale et une composante génétique (Mathieu & Guimezanes, 2011).

- **Facteurs environnementaux**
  - ✓ Le rôle nocif du tabac a été clairement établi ;

- ✓ le rôle d'un facteur alimentaire a souvent été évoqué mais jamais confirmé ;
- ✓ il en est de même quant au rôle d'un agent infectieux, viral ou bactérien. La flore bactérienne résidente dans l'intestin joue certainement un rôle ;
- ✓ il ne s'agit pas d'une maladie "psychosomatique" même si des facteurs psychologiques peuvent moduler l'évolution de la maladie de Crohn, comme c'est le cas pour beaucoup d'autres maladies auto-immunes et auto-inflammatoires ;
- ✓ d'autres facteurs environnementaux ont été suspectés dans le déclenchement de la maladie (sédentarité, consommation excessive de saccharose, ...).

- **Gènes de susceptibilité**

Tous ne sont pas connus mais certains ont été identifiés :

- ✓ Le rôle du gène NOD2/CARD15 dans la maladie de Crohn a été mis en évidence. Ce gène code pour un récepteur intracellulaire du type PRR qui "détecte" les bactéries présentes dans la cellule. Il intervient donc dans le déclenchement de la réponse de l'immunité innée. Il joue aussi un rôle dans l'apoptose, via l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B. Il est exprimé majoritairement dans les monocytes/macrophages ;
- ✓ d'autre part, certaines mutations dans les gènes codant pour certains récepteurs PRR de l'immunité innée (TLR4 et TLR5), impliqués dans la reconnaissance bactérienne, ont été associées à la maladie de Crohn ;
- ✓ à l'inverse, certaines mutations du récepteur à l'IL-23 semblent avoir un effet protecteur.

### **I.3.2.2.2. Mécanismes mis en jeu**

L'initiation du phénomène inflammatoire est hypothétique et ferait intervenir un déséquilibre dans la tolérance immunitaire digestive aux antigènes bactériens et/ou alimentaires. De façon similaire à la polyarthrite rhumatoïde, un phénotype lymphocytaire de type Th1 a été associé à la maladie de Crohn qui pourrait être

responsable de l'initiation de la maladie et de l'activation de l'ensemble des cellules immunes présentes au foyer inflammatoire.

Les cellules constituant pivot de la MC sont également les monocytes et les macrophages qui, par l'intermédiaire d'une importante libération de cytokines comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , l'IL-6 ou l'IL-8, vont directement ou indirectement être à l'origine de l'entretien du processus inflammatoire et de destructions tissulaires (Figure 17).

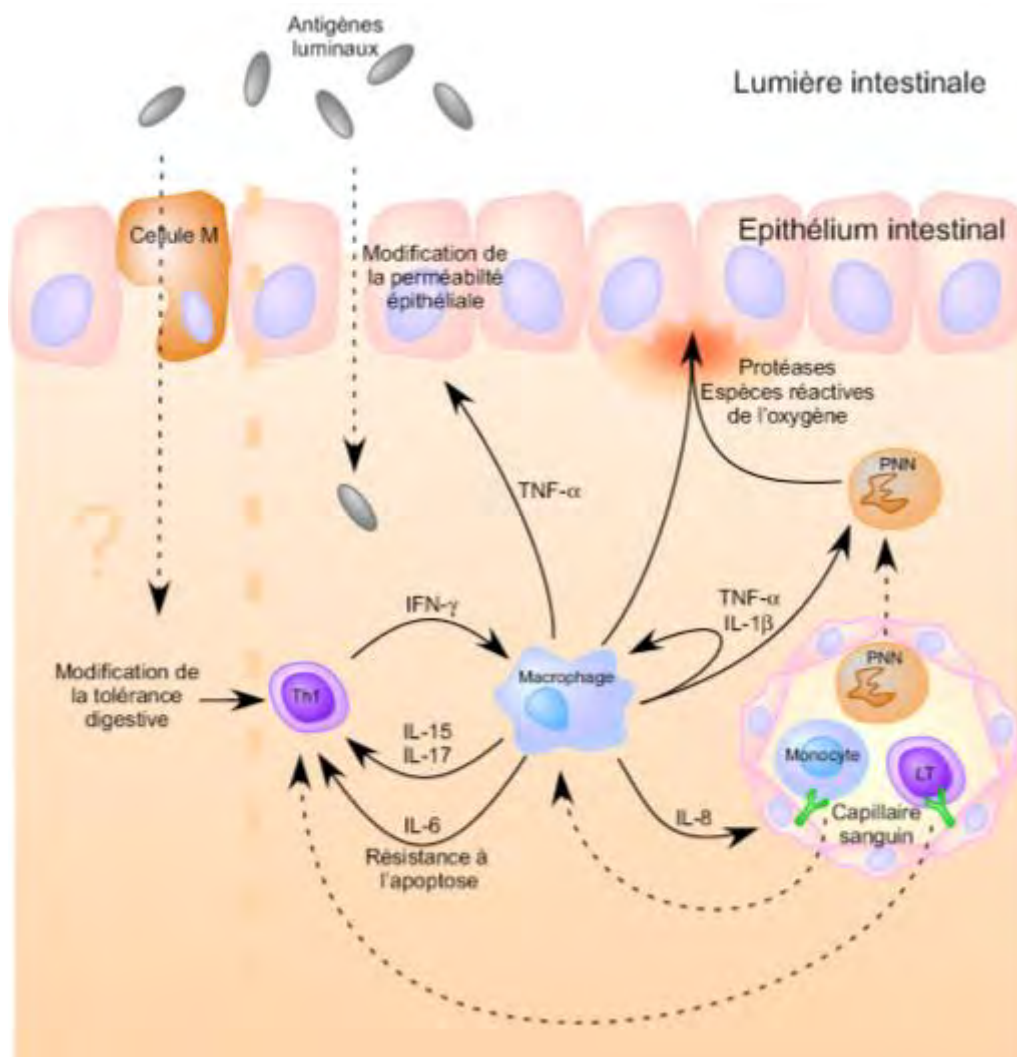


Figure 17 : Représentation schématique des événements cellulaires intervenant au cours de la maladie de Crohn (Hellal, 2007)

L'entretien du processus inflammatoire est assuré par un phénomène de résistance lymphocytaire à l'apoptose sous la dépendance de l'IL-6. La modification de

la perméabilité intestinale suite aux destructions tissulaires ou à l'action du TNF- $\alpha$  contribue, par la pénétration d'éléments bactériens, à maintenir la muqueuse à l'état inflammatoire. Les métalloprotéases, les enzymes protéolytiques ou les espèces réactives de l'oxygène libérées sur le site inflammatoire sont, au même titre que dans la polyarthrite rhumatoïde, directement responsables des dégradations tissulaires observés dans les MICI, entraînant une destruction de la matrice extracellulaire et de l'épithélium intestinal.

### **I.3.3. Inflammation et maladies chroniques**

Des preuves de plus en plus évidentes montrent l'implication de l'inflammation dans un grand nombre d'états pathologiques, initialement pas classées comme maladies inflammatoires mais dans lesquelles, elle joue un rôle dans les symptômes associés (Mathieu & Guimezanes, 2011). Elles vont de l'anémie à l'allergie, en passant par les maladies neuro-dégénératives ou les accidents cérébro-vasculaires, sans oublier les pathologies des articulations et les maladies métaboliques, infectieuses et cancéreuses (Nutranews, 2003; Dandona, et al., 2004; Karin, et al., 2006; Ricciotti & FitzGerald, 2011).

Les maladies cardiovasculaires, le syndrome métabolique et le diabète de type 2 (DT2) ont en commun une augmentation des cytokines sanguines qui résultent de l'inflammation (Calle & Fernandez, 2012).

#### **I.3.3.1. Inflammation chronique et athérosclérose**

Il existe des preuves convaincantes montrant que l'inflammation est fortement reliée aux attaques cardiaques et cérébrales. Le résultat final peut être un infarctus ou un accident vasculaire cérébral lorsque les tissus concernés étouffent par manque d'oxygène suite à l'athérosclérose (Ridker, et al., 2002).

### **I.3.3.1.1. Définition**

L'athérosclérose est une maladie chronique et multifactorielle (facteurs génétiques et environnementaux). Elle se caractérise par l'accumulation de cholestérol dans la couche interne de la paroi des artères, entraînant la formation de cellules spumeuses (macrophages gonflés de gouttelettes de graisse) et l'apparition de la plaque d'athérosclérose (Mathieu & Guimezanes, 2011).

C'est une maladie inflammatoire dont l'origine est une modification du transport du cholestérol dans la circulation sanguine : les HDL (High Density Lipoproteins), connues sous le nom de "bon cholestérol", récupèrent le cholestérol en excès et le ramènent au foie où il est transformé avant d'être éliminé. Les LDL (Low Density Lipoproteins), appelés aussi "mauvais cholestérol", transportent le cholestérol du foie vers toutes les cellules. En cas de dérèglement, les LDL s'accumulent et contribuent à la formation des plaques qui bouchent les artères lorsque la plaque se fissure et que se forme un caillot sanguin (Mathieu & Guimezanes, 2011).

Le dépôt de lipides entraîne une inflammation locale et la sécrétion de chimiokines qui attirent des monocytes qui adhèrent également à la paroi artérielle. L'inflammation entraîne la mort de cellules, et donc l'accumulation de débris qui contribuent au développement de la plaque (Mathieu & Guimezanes, 2011).

### **I.3.3.1.2. Formation de la plaque d'athérome**

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des grosses artères à localisation intimale dont l'agent d'agression entraînant la réaction inflammatoire est le cholestérol-LDL (lipoprotéines de faible densité) sous une forme oxydée. Les LDL interviennent au cours des toutes premières étapes du processus athéroscléreux. Elles s'accumulent dans l'espace sous-endothélial, déclenchant ainsi le recrutement et l'infiltration de monocytes circulants dans l'intima, conduisant à la constitution de stries graisseuses, dites "stries lipidiques", à la surface luminale. La formation de la strie lipidique se fait en plusieurs étapes (**Figure 18**) :

- une pénétration et accumulation des LDL dans l'intima ;
- une oxydation des LDL (Ox-LDL) et modifications enzymatiques (E-LDL) ;
- le recrutement, la margination et la diapédèse des monocytes-macrophages ;
- le captage des LDL modifiées par les macrophages par l'intermédiaire des récepteurs «éboueurs» (scavenger) et transformation des macrophages en cellules spumeuses (Tedgui & Mallat, 2001).

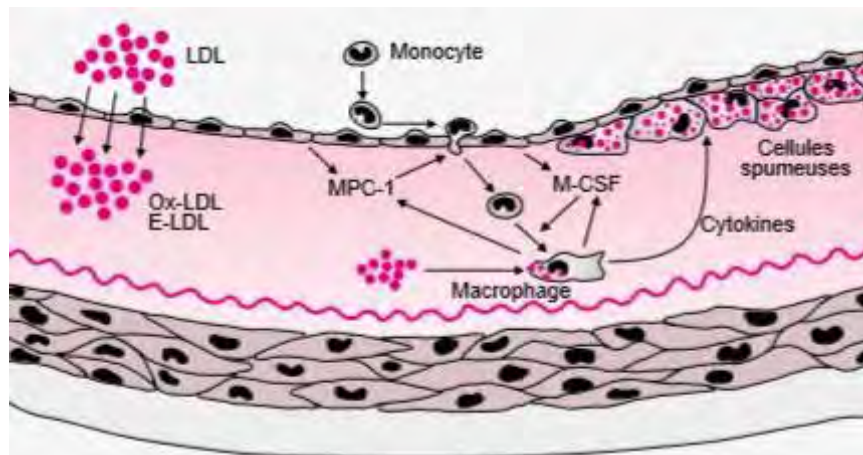


Figure 18 : Représentation schématique des différentes étapes de la formation de la strie lipidique (Tedgui & Mallat, 2001)

#### I.3.3.1.3. Médiateurs pro-inflammatoires impliqués

Les macrophages et les lymphocytes infiltrant la lésion athéroscléreuse entretiennent une réaction inflammatoire chronique. Cette réaction fait intervenir des médiateurs solubles, les cytokines d'origine mixte, leucocytaire et vasculaire, ainsi que les molécules immunorégulatrices membranaires CD40/CD40L (ligand du CD40) (Mach, et al., 1997). Un grand nombre de cytokines pro-inflammatoires sont présentes dans la plaque athéroscléreuse, telles que  $TNF\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, oncostatine-M, interféron (IFN)- $\gamma$ . Elles peuvent d'une part, provoquer le recrutement des monocytes en stimulant la libération de la chimiokine MCP-1, par les cellules de la plaque et, d'autre part, favoriser leur adhérence à l'endothélium en induisant l'expression des molécules d'adhérence VCAM-1 et ICAM-1 par les cellules endothéliales (Figure 18). Les cytokines peuvent par ailleurs moduler l'activité des

cellules musculaires lisses (CML) (**Figure 19**). La production des collagènes de type I et III par les CML est fortement inhibée par l'IFN $\gamma$  (Amento, et al., 1991). De plus, l'IL-1 et le TNF $\alpha$  induisent l'expression de métalloprotéinases (matrix metalloproteinases, MMP) dans les CML, capables de dégrader les protéines de la matrice extracellulaire. Ces cytokines stimulent l'activité de la MMP-2 exprimée de façon constitutive par les CML, et induisent l'expression d'une autre gélatinase, la MMP-9, ainsi que de la MMP-3 qui dégrade les protéoglycanes et l'élastine (Galis, et al., 1994). L'activité des MMP est inhibée par des inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinases (tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1, 2) synthétisés de façon constitutive par les CML. Toutefois, les cytokines IL-1 et TNF $\alpha$  ne modifient guère l'expression des TIMP. On peut donc s'attendre, dans une plaque où l'infiltrat inflammatoire est important, et dans laquelle l'IL-1, le TNF $\alpha$  et l'IFN $\gamma$  sont exprimés, à une augmentation des MMP sous l'effet de l'IL-1 et du TNF $\alpha$ , et à une diminution de la production des protéines de la matrice extracellulaire sous l'effet de l'IFN $\gamma$ , sans modification du taux d'expression des TIMP. Cette situation a pour conséquence une dégradation de la matrice extracellulaire et une fragilisation de la chape fibreuse (**Figure 20**). Le rôle de l'IFN $\gamma$  a été évalué chez la souris apoE<sup>-/-</sup> déficiente pour les récepteurs de l'IFN $\gamma$ . Ces souris présentent une très nette réduction de la taille des lésions athéroscléroseuses avec une forte augmentation du contenu en collagène, confirmant ainsi l'importance de l'IFN $\gamma$  comme régulateur négatif de la production des protéines matricielles (Gupta, et al., 1997). Les cytokines pro-inflammatoires de la plaque peuvent aussi intervenir dans les complications thrombotiques associées à l'athérosclérose (**Figure 19**). Les propriétés antithrombotiques des cellules endothéliales sont profondément altérées par l'IL-1 ou le TNF $\alpha$ , qui augmentent l'activité procoagulante de type facteur tissulaire (TF) et suppriment l'activité anticoagulante relayée par le système thrombomoduline-protéine C, en diminuant l'expression de la thrombomoduline (Bevilacqua, et al., 1986). Ces cytokines modifient aussi les propriétés fibrinolytiques des cellules endothéliales en diminuant la production de l'activateur du plasminogène de type

tissulaire (tPA) et en augmentant la production de l'inhibiteur du tPA, le PAI-1 (Tedgui & Mallat, 2001; Scarpati & Sadler, 1989).

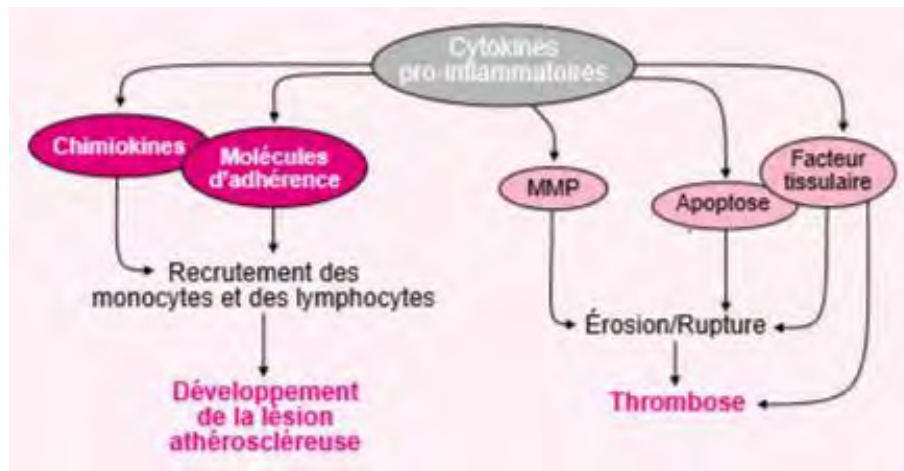


Figure 19 : Rôles pro-athérogènes des cytokines pro-inflammatoires (Tedgui & Mallat, 2001)

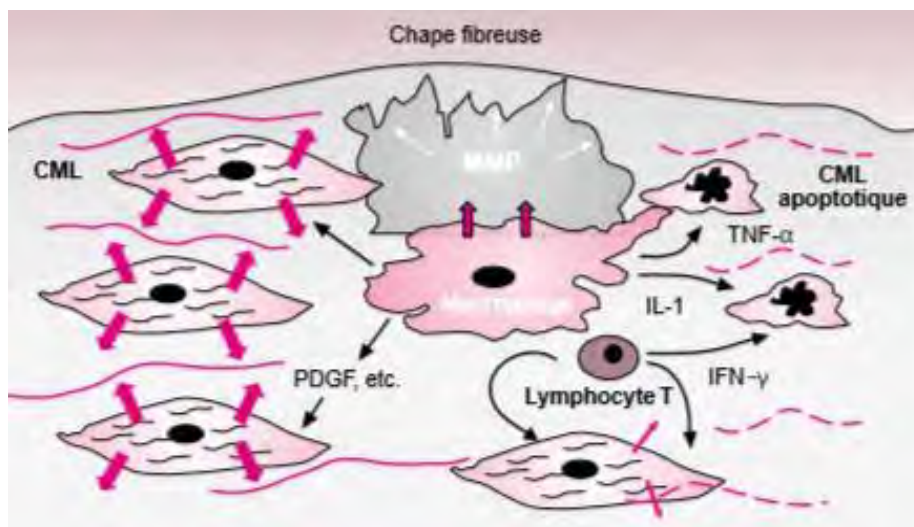


Figure 20 : Interactions entre cellules inflammatoires et cellules musculaires lisses dans la chape fibreuse de la plaque d'athérosclérose (Tedgui & Mallat, 2001)

La survenue de ces événements cardiovasculaires serait également corrélée à une concentration élevée de protéine C-réactive (CRP), un marqueur de l'inflammation (Nutranews, 2003). En effet, l'étude Women's Health Study portant sur la prévention primaire des maladies cardiovasculaires chez la femme aux Etats-Unis a montré que la maladie cardiovasculaire croissait de manière linéaire et se développait



lorsque les niveaux de LDL et de CRP augmentaient. Celles qui avaient les niveaux les plus élevés de CRP avaient cinq fois plus de risques de développer une maladie cardiovasculaire et sept fois plus de risques de faire un infarctus ou un accident cérébro-vasculaire. Cependant la CRP est un meilleur prédicteur d'événements cardiovasculaires que le LDL (Ridker, et al., 2002).

### **I.3.3.1.4. Inflammation et hypertension**

L'hypertension suit de près les lipides sur la liste des facteurs de risques classiques de l'athérosclérose. Des nombreuses preuves soutiennent l'idée que, comme l'athérosclérose elle-même, l'inflammation peut participer à l'hypertension fournissant un lien physiopathologique entre ces deux maladies. L'angiotensine II (AII), en plus de ses propriétés vasoconstrictrices, peut initier l'inflammation de l'intima. Par exemple, l'AII provoque la production d'anion superoxyde, une sorte d'espèce réactive de l'oxygène, à partir de cellules endothéliales artérielles et CML (Griendling, et al., 1997). L'AII peut également augmenter l'expression par les CML artérielles de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et MCP-1 et de VCAM-1 sur les cellules endothéliales (Kranzhöfer, et al., 1999; Tummala, et al., 1999). Certains des avantages cliniques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine peuvent dériver de l'interruption des voies pro-inflammatoires (Libby, et al., 2002).

### **I.3.3.2. Inflammation, obésité, résistance à l'insuline et diabète de type 2**

La présence d'une inflammation chronique est une caractéristique fréquente des patients atteints de diabète de type 2 (DT2) (Calle & Fernandez, 2012). Le concept de l'inflammation par rapport aux conditions métaboliques, comme l'obésité et la résistance à l'insuline a commencé avec les travaux de Hotamisligil et al. (1993). Il a démontré que les adipocytes expriment constitutivement une cytokine proinflammatoire le TNF $\alpha$  et que son expression dans les adipocytes des animaux obèses (souris ob/ob, souris db/db et rat Zucker fa/fa) est nettement augmentée (Hotamisligil, et al., 1993). La neutralisation du TNF $\alpha$  par le récepteur de TNF $\alpha$  soluble

conduit également à une diminution de la résistance à l'insuline chez ces animaux (Hotamisligil, et al., 1993). Ces observations fournissent le premier lien entre une augmentation de l'expression et de la concentration plasmatique d'une cytokine proinflammatoire et de la résistance à l'insuline (Dandona, et al., 2004).

### **I.3.3.2.1. Définition**

Le DT2 est une maladie chronique et multifactorielle non auto-immune (contrairement au diabète de type 1), souvent associée à l'obésité. Il est caractérisé par une hyperglycémie liée à une inflammation chronique à bas bruit qui favorise l'infiltration des tissus adipeux par des macrophages, et également par des lymphocytes T (Mathieu & Guimezanes, 2011).

La diminution de la sensibilité à l'insuline (insulino-résistance) rend l'insuline moins efficace dans son contrôle de la glycémie. Les cellules  $\beta$  pancréatiques répondent à cette résistance en augmentant leur masse et leur sécrétion d'insuline. Si cette hypersécrétion ne suffit pas à compenser l'insulino-résistance, les personnes présentent une hyperglycémie modérée et sont dans un état pré-diabétique. En absence de traitement (activité physique à ce stade), la persistance de l'hyperglycémie induit une réponse inflammatoire, qui augmente à nouveau l'hyperglycémie et modifie le métabolisme graisseux (Mathieu & Guimezanes, 2011).

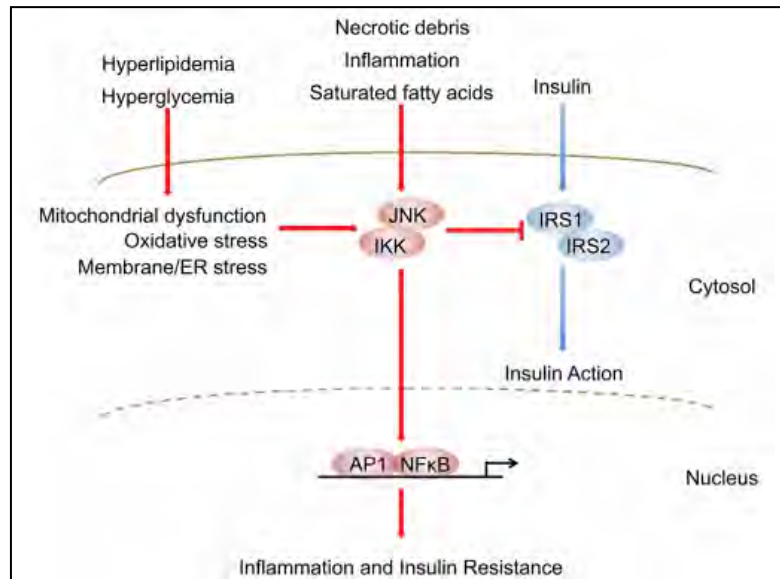
L'insulino-résistance est souvent associée à l'obésité, à l'âge et à l'inactivité physique, mais certains insulino-résistants ne deviennent jamais diabétiques car les cellules  $\beta$  de leur pancréas réussissent à compenser durablement cette insulino-résistance. En effet, un tiers seulement des patients insulino-résistants développent une hyperglycémie chronique évoluant vers un DT2. Les raisons de cette hétérogénéité sont actuellement inconnues (Mathieu & Guimezanes, 2011; Manabe, 2011).

### I.3.3.2.2. Mécanismes

Inflammation et insulino-résistance sont associées. Plusieurs mécanismes ont été décrits, ils peuvent agir isolément mais se renforcent mutuellement (Mathieu & Guimezanes, 2011).

A l'origine de l'insulino-résistance associée à l'obésité, il y aurait un excès de graisses au niveau du tissu adipeux viscéral, responsable de la libération d'une grande quantité d'acides gras libres et de l'augmentation du taux de lipides sanguins (lipotoxicité). Leur passage par le foie favorise la synthèse des triglycérides et la production de glucose qui stimule à son tour la sécrétion d'insuline. Le taux de lipides élevé favorise leur utilisation comme source d'énergie, aux dépens du glucose circulant, dont le taux reste élevé dans le sang et stimule à nouveau la production d'insuline. L'augmentation des taux de lipides et de sucres dans le sang sont toxiques et entretiennent l'inflammation (Mathieu & Guimezanes, 2011). Le dysfonctionnement cellulaire induit par l'obésité active une gamme diversifiée de réponse au stress et de voies de signalisation de contre régulation, incluant l'activation de JNK, IKK $\beta$ . En effet, hyperglycémie et hyperlipidémie, activent le stress oxydatif via l'activation JNK et IKK $\beta$  qui inhibe la signalisation de l'insuline (**Figure 21**) (Hirosumi, et al., 2002; Qatanani & Lazar, 2007; Olefsky & Glass, 2010; Samuel & Shulman, 2012).

La fonction du tissu adipeux ne se limite pas au stockage des lipides, il sécrète de nombreux facteurs qui participent au métabolisme des graisses (adiponectine, leptine) et influent sur la différenciation des macrophages infiltrants (cytokines). Dans les conditions normales, le tissu adipeux contient principalement des macrophages anti-inflammatoires (de type M2) sécrétant de l'IL-10 et de l'arginase-1. En situation d'obésité, les adipocytes sécrètent des cytokines qui contribuent à l'infiltration de macrophages (de types M1) sécrétant eux-mêmes des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6. La mort d'adipocytes, par hypoxie, contribue également à la stimulation des macrophages M1 (Mathieu & Guimezanes, 2011).



**Figure 21 : Voies de signalisation inflammatoire liant l'excès de nutriments à la résistance à l'insuline (Odegaard & Chawla, 2013)**

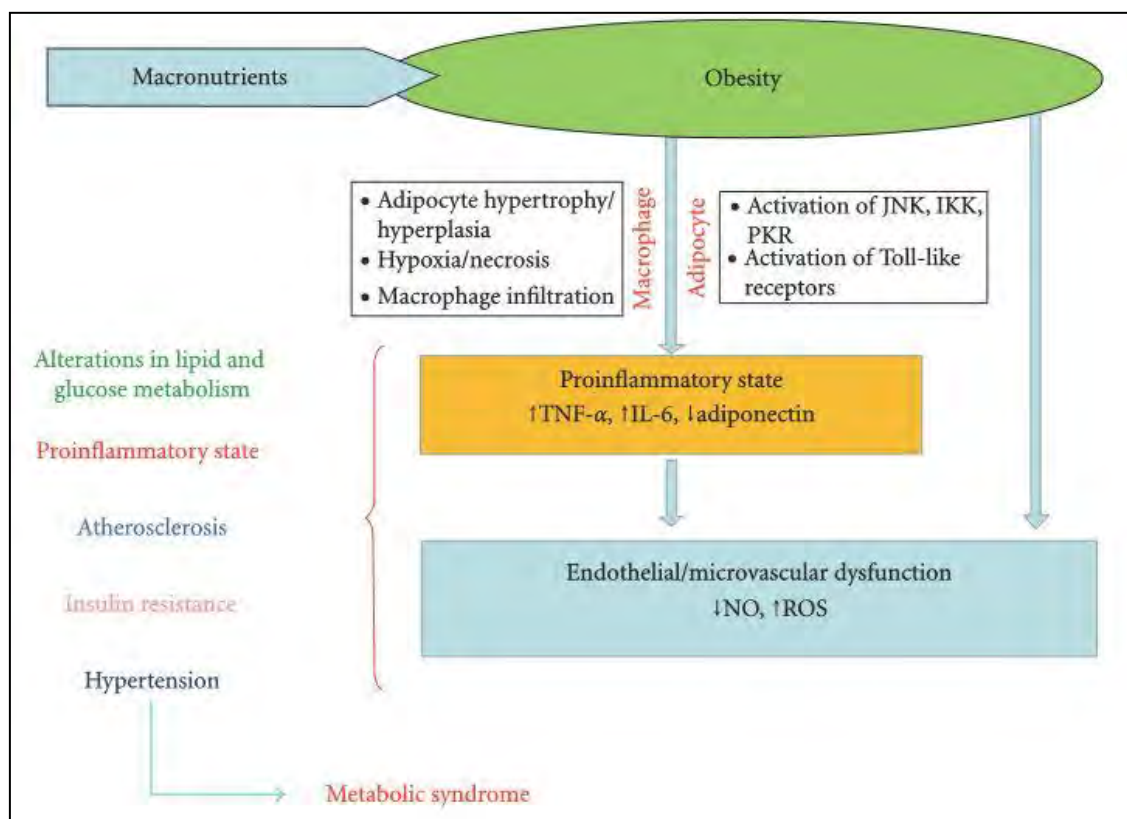
Dans le DT2, il n'y a pas d'implication directe (au moins au début) des lymphocytes T, contrairement au diabète de type 1 (DT1). Il s'agit plutôt d'un état inflammatoire lié à la forte concentration d'IL-1, caractérisé par une hyperglycémie chronique. L'IL-1 est sécrétée par les macrophages M1 et aussi par les adipocytes (via la stimulation de l'inflammasome) et l'hyperglycémie stimule aussi la production d'IL-1 par les cellules  $\beta$  elles-mêmes. Cette hypersécrétion d'IL-1 stimule la sécrétion continue d'insuline par les cellules  $\beta$  et peut avoir un effet toxique direct sur les cellules  $\beta$  du pancréas (Mathieu & Guimezanes, 2011).

Les voies de signalisation pro-inflammatoires peuvent ainsi inhiber la signalisation de l'insuline, via l'activation de JNK et IKK $\beta$  (**Figure 21**) (Odegaard & Chawla, 2013) fournissant un lien entre l'inflammation et la résistance à l'insuline (Manabe, 2011).

Inflammation et résistance à l'insuline se renforcent donc mutuellement par une boucle de régulation (Mathieu & Guimezanes, 2011).

L'hypothèse que l'obésité induite dans le processus inflammatoire peut conduire à des complications telles que l'hypertension, l'athérosclérose, la

dyslipidémie, la résistance à l'insuline et le DT2 qui caractérisent le syndrome métabolique est schématisée sur la **Figure 22** (Emanuela, et al., 2012).



**Figure 22 : Mécanismes liant obésité abdominale et syndrome métabolique (Emanuela, et al., 2012)**

### 1.3.3.3. Inflammation et cancer

L'inflammation chronique représente une base pathologique majeure pour la majorité des tumeurs malignes humaines. Le rôle de l'inflammation dans la carcinogenèse a d'abord été proposé par Rudolf Virchow (1863), quand il a remarqué la présence de leucocytes dans les tissus néoplasiques. Depuis cette observation, plusieurs données ont soutenu que les tumeurs peuvent provenir de sites d'infections chroniques ou inflammatoires. Environ 25 % de tous les cancers sont en quelque sorte associés à une infection chronique et à l'inflammation. Bien que l'inflammation agit comme un moyen de défense adaptative de l'hôte contre l'infection ou la blessure et met en avant tout un processus d'auto-limitation, la résolution insuffisante des

réponses inflammatoires conduit souvent à diverses maladies chroniques, dont le cancer (Kundu, 2008).

Les médiateurs et les effecteurs cellulaires de l'inflammation sont des constituants importants de l'environnement local des tumeurs. Dans certains types de cancer, les affections inflammatoires sont présentes avant qu'une transformation maligne ne se produise. A l'inverse, dans d'autres types de cancer, un changement oncogénique induit un microenvironnement inflammatoire qui favorise le développement de tumeurs. Quelle que soit son origine, l'inflammation «couvant» dans le microenvironnement tumoral a de nombreux effets tumorigènes. Il aide à la prolifération et à la survie des cellules malignes, favorise l'angiogenèse et les métastases, corrompt les réponses immunitaires adaptatives, et altère les réponses aux hormones et agents chimiothérapeutiques (Mantovani, et al., 2008).

Ainsi, les mécanismes de développement du cancer, en présence d'une inflammation chronique implique la présence continue de différents médiateurs pro-inflammatoires (cytokines, chimiokines, EROs), des oncogènes, des enzymes de la réaction inflammatoire (COX-2, 5-LOX), les MMPs (métalloprotéinases matricielles) et l'activation de facteurs de transcription importants tels que NF- $\kappa$ B et STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), AP-1 (activator protein 1), et HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ) (**Figure 23**) (Sethi, et al., 2012). Parmi ces acteurs moléculaires majeurs impliqués dans l'axe inflammation-cancer, les plus importants sont les cytokines, les chémokines, la COX-2 et les PGs, les récepteurs des prostanoïdes (EP 1-4), iNOS et NO ainsi que le NF- $\kappa$ B (Kundu, 2008).

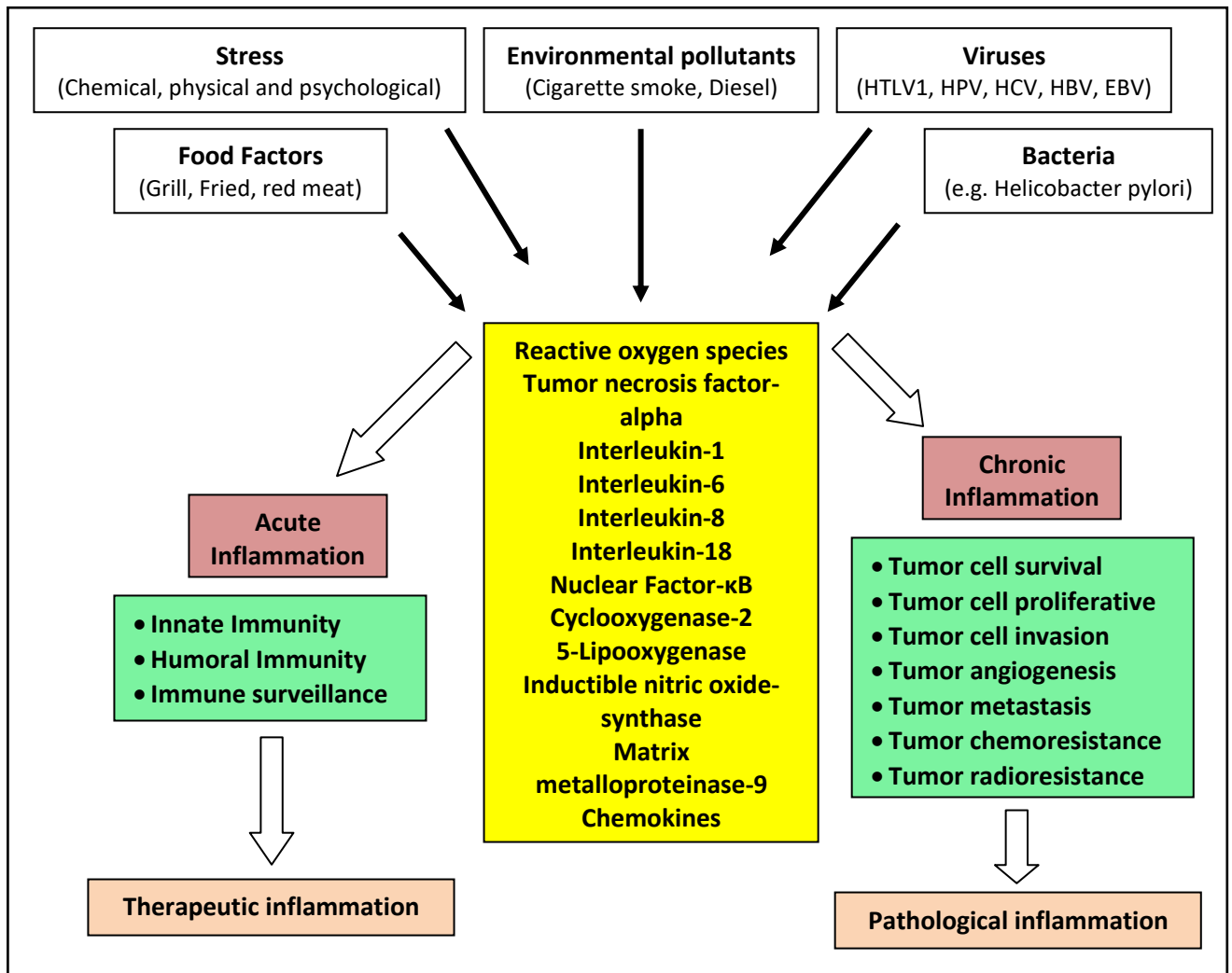


Figure 23 : Différents visages de l'inflammation et son rôle dans la tumorigénèse (Bharat, et al., 2006)

### I.3.3.3.1. Rôles des cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines incluant les ILs, le TNF- $\alpha$ , des facteurs de croissance et les facteurs de différenciation sont sécrétées ou liées à de petites molécules de protéines à la membrane qui régulent divers processus physiologiques, tels que la croissance, le développement, la différenciation, la cicatrisation des plaies et la réponse immunitaire. Ils sont surexprimés dans les tissus hyperplasiques et métaplasiques inflammés et des adénocarcinomes (Kundu, 2008).

Le rôle pro-inflammatoire du TNF- $\alpha$  serait lié à toutes les étapes impliquées dans la tumorigénèse, incluant la transformation, la survie, la prolifération, l'invasion cellulaire, l'angiogénèse et les métastases. Il a été reporté que le TNF- $\alpha$  est produit

par une variété de cellules tumorales, dont le lymphome des cellules B, la leucémie mégacaryoblastique, la leucémie des cellules T de l'adulte, le cancer du sein, le cancer colorectal, le cancer du poumon, le cancer de la peau, le cancer pancréatique, le cancer ovarien, le cancer du col de l'utérus, le glioblastome et le neuroblastome (Kundu, 2008).

Plusieurs interleukines seraient liées à l'inflammation et par conséquent le développement du cancer. Ces ILs incluent l'IL-1, 6, 8 et 17. L'IL-1 $\alpha$ , qui est exprimé à la fois dans les tissus normaux que dans plusieurs tissus cancéreuses, est une cytokine régulatrice qui peut induire l'activation de facteurs de transcription, parmi lesquels, le NF- $\kappa$ B et l'AP-1, et favorise l'expression de gènes variés impliqués dans la survie, la prolifération cellulaires et l'angiogénèse. Aussi, lorsque l'IL-1 $\beta$  est libéré par les myélomes, il peut induire la production de IL-6 par les cellules stromales. L'IL-1 $\beta$  régule aussi positivement la protéine HIF- $\alpha$  à travers la voie de signalisation inflammatoire classique impliquant NF- $\kappa$ B et COX-2, aboutissant à la régulation positive de VEGF, un facteur angiogénique potentiel requis pour la croissance tumorale et la métastase. Une autre cytokine pro-inflammatoire majeure impliquée dans le cancer associé à l'inflammation, est l'IL-6. Il module l'expression de gènes impliqués dans la prolifération, la survie et l'angiogénèse via la voie de signalisation de JAK (Janus kinase)-STAT. Les IL-8 et 17 sont également exprimés lors de certains cancers humains (Kundu, 2008).

En résumé, les cytokines :

- induisent des dommages de l'ADN ;
- stimulent l'angiogénèse inflammatoire grâce à la production/expression de molécules pro-angiogéniques, tels que VEGF, VEGFR, IL-8, NO, ICAM-1 et VCAM-1 ;
- activent la signalisation pro-inflammatoire médiée par JAK-STAT et NF- $\kappa$ B et aide à maintenir le microenvironnement inflammatoire de la tumeur ;



- stimulent la prolifération cellulaire et inhibent l'apoptose.

### **I.3.3.3.2. Rôles des chémokines**

Les chimiokines constituent une famille de protéines à effets biologiques pléiotropiques. Elles peuvent jouer plusieurs rôles dans le cancer (Bharat, et al., 2006) :

- attirent les cellules inflammatoires et immunitaires vers le microenvironnement tumoral.
- favorisent la migration des cellules tumorales, facilitent l'invasion et la métastase.
- améliorent l'extravasation des cellules tumorales à travers le tissu stromal.
- stimulent l'angiogenèse inflammatoire par la régulation positive des facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF et le MMP.

### **I.3.3.3.3. Rôles de la COX-2 et du PGE2**

La COX-2 sert d'interface entre l'inflammation et le cancer. En réponse à divers stimuli externes, tels que les cytokines pro-inflammatoires, le LPS bactérien, UV, ERO et l'ester de phorbol, la COX-2 est transitoirement élevée dans certains tissus. Anormalement élevée la COX-2 provoque la promotion de la prolifération cellulaire, la suppression de l'apoptose, l'amélioration de l'angiogenèse et le caractère invasif, qui représentent sa fonction oncogénique (Kundu, 2008).

La COX-2 (**Figure 24**) :

- catalyse la biosynthèse des médiateurs lipidiques de l'inflammation ;
- aide à maintenir un état inflammatoire persistant dans les lésions précancéreuses et malignes ;
- surexprimée dans divers cancers associés à l'inflammation ;
- favorise la prolifération cellulaire et bloque l'apoptose ;
- accélère processus angiogénique en déclenchant la signalisation de PGE2 et l'expression de VEGF et la stabilisation de HIF-1 $\alpha$ .

La COX-2 favorise la dégradation de l'acide arachidonique pour produire une série de prostaglandines, qui sont des médiateurs clés de réponses inflammatoires. Certaines prostaglandines pro-inflammatoires tels que PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, et 15d-PGJ<sub>2</sub>, ont été signalées comme jouant un rôle dans la cancérogenèse. Plusieurs études ont démontré que la PGE<sub>2</sub> est capable de promouvoir la cancérogenèse de la peau et du côlon chez la souris (Kundu, 2008).

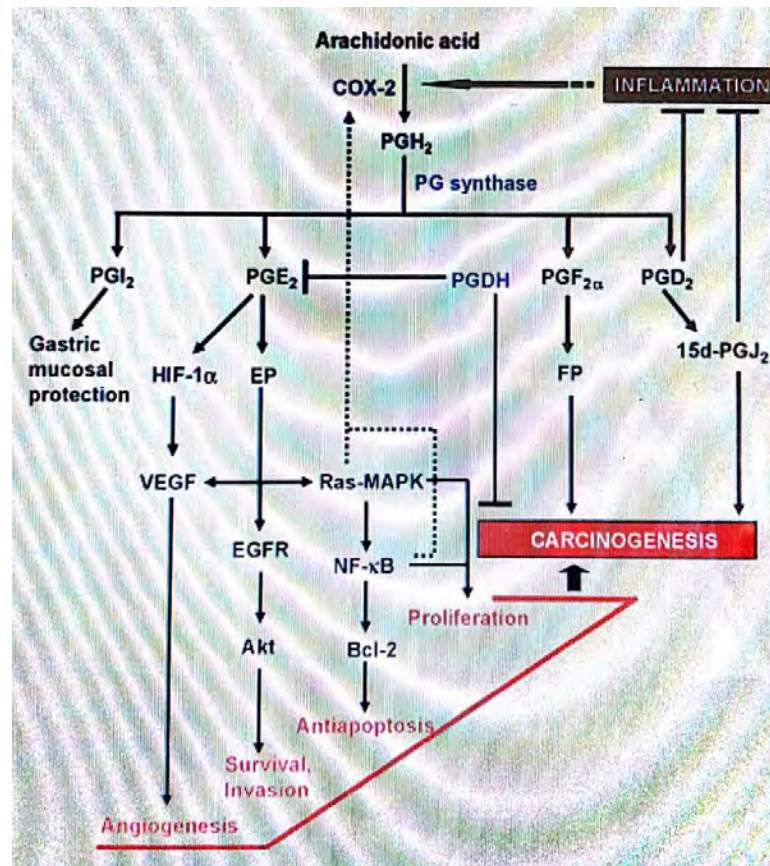


Figure 24 : Rôle de la COX-2 et des PGs dans la carcinogénèse induite par l'inflammation (Kundu, 2008)

La PGE<sub>2</sub> :

- favorise la tumorigénèse chez des modèles expérimentaux ;
- produit excessivement suite à l'induction de la COX-2 par les tissus hyperplasiques et dysplasiques inflammés et les carcinomes ;
- augmente la prolifération cellulaire, supprime l'apoptose ;

- Induit les facteurs pro-angiogéniques et favorise l'angiogenèse inflammatoire ;
- active la voie de signalisation proinflammatoire dans le microenvironnement tumoral.

### **I.3.3.3.4. Rôles de la 5-Lipoxygénase (5-LOX)**

La 5-LOX est une enzyme clé dans le métabolisme de l'acide arachidonique (AA) en leucotriènes (LTs). Plusieurs études suggèrent un lien entre la 5-LOX et les carcinogénèses humaine et animale. En plus du rôle important des LTs dans l'allergie et l'inflammation, ils sont également liés à des événements physiopathologiques du cerveau, tels que, l'ischémie cérébrale, l'œdème cérébral, et l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato encéphalique dans les tumeurs du cerveau (Bharat, et al., 2006).

D'autres études montrent aussi que l'exposition à la fumée de cigarette sans filtre augmente l'expression de la 5-LOX dans l'adénome colique associé à l'inflammation. Une telle expression est accompagnée d'une régulation positive de la métalloprotéase matricielle de type 2 (MMP-2) et du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), des facteurs angiogéniques clés dans la tumorigénèse. Les inhibiteurs de la 5-LOX baissent l'incidence de la formation d'adénome colonique et réduisent l'angiogénèse, l'activité de MMP-2 et l'expression de protéines VEGF. Aussi, l'expression élevée de la 5-LOX serait liée à la progression et au développement des cancers du pancréas, des poumons et des reins (Sethi, et al., 2012).

### **I.3.3.3.5. Rôles de la NO-synthase inductible (iNOS) et du monoxyde d'azote (NO)**

Le NO est un des médiateurs inflammatoires importants liant l'inflammation chronique et le cancer. Il est produit de façon endogène lors du métabolisme de l'arginine par différents isoformes de la NOS. Lors de l'inflammation, l'expression de la

iNOS induite dans les macrophages et cellules épithéliales conduit à la production de NO. Il a été montré que l'expression de iNOS et un taux de NO sont élevés dans les lésions précancéreuses et les carcinomes (Kundu, 2008).

La iNOS :

- induit des dommages liés à la nitrosylation ou à l'oxydation de l'ADN ;
- produit des médiateurs pro-inflammatoires, par exemple, NO, en catalysant l'arginine ;
- agit comme un effecteur en aval du facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) et dans la signalisation de cytokines inflammatoires.

Le NO :

- favorise la croissance tumorale en stimulant la prolifération cellulaire ;
- induit une S-nitrosylation d'importantes protéines impliquées dans l'inflammation et le cancer ;
- provoque des lésions de l'ADN par nitration de bases nucléotidiques.

### **I.3.3.3.6. Rôles du NF- $\kappa$ B**

L'inflammation en général et le NF- $\kappa$ B en particulier ont un rôle double dans le cancer. D'une part, l'activation de NF- $\kappa$ B est une partie de la défense immune, laquelle cible et élimine les cellules transformées. Ceci semble être particulièrement vrai pour le processus d'inflammation aiguë, où l'activation complète de NF- $\kappa$ B est accompagnée par une forte activité de cellules immunes cytotoxiques contre les cellules cancéreuses. D'autre part, NF- $\kappa$ B est constitutivement activé dans plusieurs types de cancers et peut exercer une variété de fonctions pro-tumorigéniques (Hoesel & Schmid, 2013).

TNF- $\alpha$ , ILs, chémokines, COX-2, 5-LOX et MMP-9 sont tous régulés par le facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Bharat, et al., 2006). Bien que ce facteur soit exprimé dans un état inactif dans la plupart des cellules, il joue un rôle pivot dans l'oncogenèse

et les désordres métaboliques (Tornatore, et al., 2012). Les cellules cancéreuses expriment une forme activée de NF- $\kappa$ B. Cette activation est induite par une large variété de stimuli inflammatoires et de carcinogènes (Bharat, et al., 2006). En plus de son rôle dans l'immunité innée la signalisation NF- $\kappa$ B pourrait contrôler une grande variété d'autres processus cellulaires bien conservés, y compris la prolifération cellulaire et l'apoptose (Hoesel & Schmid, 2013).

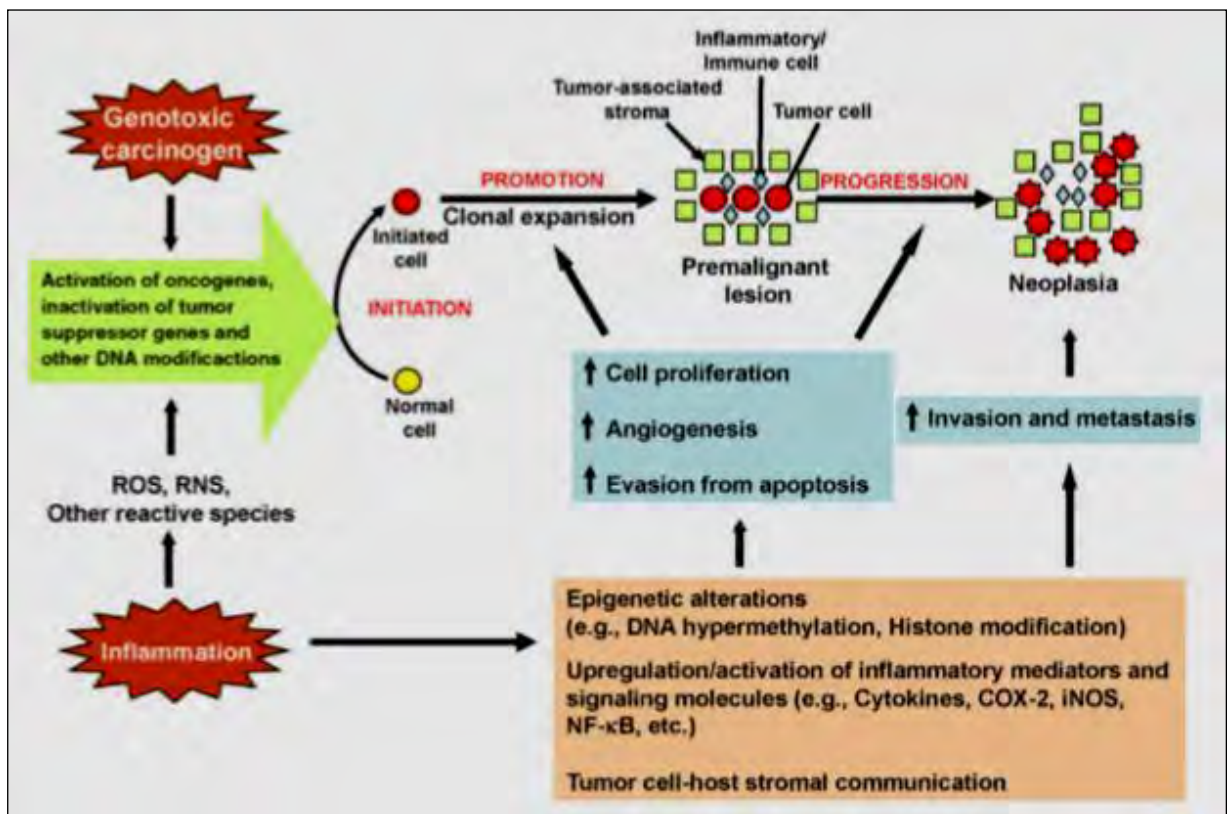
En effet, la contribution de l'inflammation en général et NF- $\kappa$ B, en particulier à l'initiation et à la progression du cancer est multiple et complexe. On suppose que la réponse immunitaire innée de neutrophiles qui libèrent des espèces réactives de l'oxygène pour tuer les pathogènes envahisseurs pourrait causer des dommages à l'ADN et des mutations génétiques, ainsi que les effets secondaires, ce qui déclenche l'initiation de la tumeur. En outre, la signalisation NF- $\kappa$ B contribuerait à la progression du cancer en contrôlant la transition épithélio-mésenchymateuse et les métastases. Cette signalisation est souvent associée à une régulation positive des MMP, desserrant la matrice extracellulaire pour une évasion des cellules cancéreuses. Enfin, le NF- $\kappa$ B peut également contribuer à la progression de la tumeur par le contrôle de la vascularisation par l'intermédiaire d'une régulation positive de VEGF et ses récepteurs (Hoesel & Schmid, 2013).

Le NF- $\kappa$ B représente donc un facteur central aussi bien dans l'inflammation, la réponse au stress, la différenciation, la prolifération ou la mort cellulaire, par :

- L'augmentation de l'expression/production de médiateurs pro-inflammatoires et amplifie la transduction du signal inflammatoire ;
- L'accroissement de l'expression de protéines anti-apoptotiques et l'aide apportée aux cellules transformées afin d'échapper à l'apoptose ;
- l'invasion et la métastase (Glass, et al., 2010; Hoesel & Schmid, 2013).

**I.3.3.3.7. Rôles des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives du nitrosol (ERN)**

Une variété de cellules inflammatoires et de l'immunité innée est recrutée au niveau des sites d'infection ou d'inflammation. En réponse aux stimuli pro-inflammatoires, les cellules inflammatoires/immunes génèrent des EROs et ERN (Espèces réactifs de Nitrogène), lesquelles peuvent fonctionner comme effecteurs chimiques dans la carcinogénèse induite par l'inflammation. Les dommages infligés à l'ADN qui vont suivre meneront à l'activation des oncogènes et/ou l'inactivation des gènes supresseurs des tumeurs (**Figure 25**) (Kundu, 2008).



**Figure 25 : Cancer : Inflammation comme forme motrice**  
(Kundu, 2008)

**I.3.3.4. Inflammation et maladies neurodégénératives**

L'inflammation est associée à plusieurs maladies neurodégénératives, incluant la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique et la sclérose en plaque (Glass, et al., 2010).

### I.3.3.4.1. Inflammation et maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est l'une des maladies neurodégénératives liées à l'âge la plus courante. Ses symptômes sont caractérisés par une perte de mémoire, une altération progressive de la cognition et divers troubles comportementaux et neuropsychiatriques. Les caractéristiques pathologiques de la maladie d'Alzheimer dans le cerveau comprennent des plaques amyloïdes extracellulaires, comprenant des produits agrégés, clivés de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) et les enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires (NFTs) produits par les formes hyperphosphorylées de la protéine  $\tau$  aux microtubules de liaison.

La preuve d'une réponse inflammatoire dans la maladie d'Alzheimer inclut des changements dans la morphologie de la microglie et des astrocytes, se manifestant par une augmentation du nombre, de la taille et de la motilité, entourant les plaques séniles (Glass, et al., 2010).

Les agrégats de peptide amyloïde  $\beta$  ( $A\beta$ ) et produits dérivés provenant des cellules mortes peuvent activer la microglie et les astrocytes à travers les voies dépendantes de Toll-like receptors (TLR) et RAGE, conduisant à une inflammation locale qui peut amplifier la mort neuronale (**Figure 26**) (Glass, et al., 2010).

L'amyloïde  $\beta$ , produit par clivage de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP), forme un agrégat qui active la microglie, la signalisation à travers TLR et RAGE. Ces récepteurs activent les facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et AP-1, lesquels induisent à leur tour la production d'EROs et conduisent à l'expression de médiateurs inflammatoires comme les cytokines. Ces facteurs inflammatoires (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) agissent directement sur les neurones cholinergiques et stimulent aussi les astrocytes, lesquels amplifient les signaux pro-inflammatoires pour induire des effets neurotoxiques. L'apoptose et la nécrose des neurones aboutissent à la libération d'ATP, lequel active davantage la microglie à travers le récepteur purinergique P2X7. La microglie peut aussi jouer un rôle protecteur via la clairance d' $A\beta$  à travers des



mécanismes impliquant ou non l'ApoE. Les neurones cholinergiques du cerveau antérieur, premiers neurones affectés dans la maladie d'Alzheimer, sont présumés être des cibles importantes de toxicité induite par l'inflammation, mais d'autres types de neurones, tels que les neurones glutaminergique et GABAergique, peuvent aussi être affectés (Glass, et al., 2010).

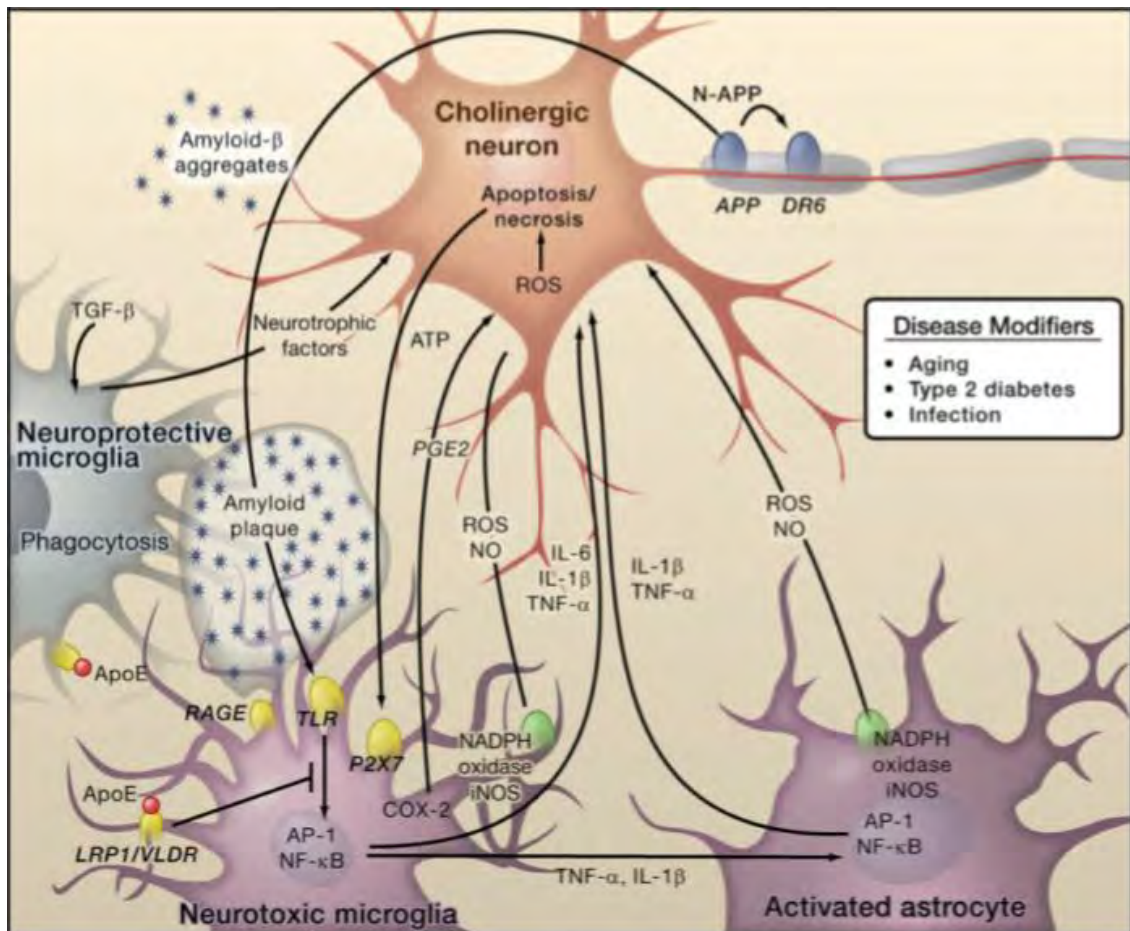


Figure 26 : Inflammation dans la maladie d'Alzheimer (Glass, et al., 2010)

#### I.3.3.4.2. Inflammation et maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est la seconde maladie neurodégénérative la plus commune après la maladie d'Alzheimer. Ses caractéristiques cliniques importantes sont des symptômes moteurs (bradykinésie, tremblement, rigidité, et instabilité posturale) et non moteurs associés (déficit olfactif, dysfonctionnement autonome, dépression, déficits cognitifs et troubles du sommeil). Comme la maladie d'Alzheimer,



la maladie de Parkinson est une protéinopathie ; caractérisée par l'accumulation et l'agrégation d' $\alpha$ -synucléine (Glass, et al., 2010).

Les signes neuropathologiques sont des inclusions intracellulaires contenant l' $\alpha$ -synucléine appelée corps de Lewy et la perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire du mésencéphale et aussi dans d'autres régions du cerveau (Glass, et al., 2010).

Plusieurs études suggèrent que les médiateurs de l'inflammation tels que les EROs, le NO, le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  issus des cellules non neuronales comme la microglie, modulent la progression de la mort des cellules neuronales dans la maladie de Parkinson (Figure 27).

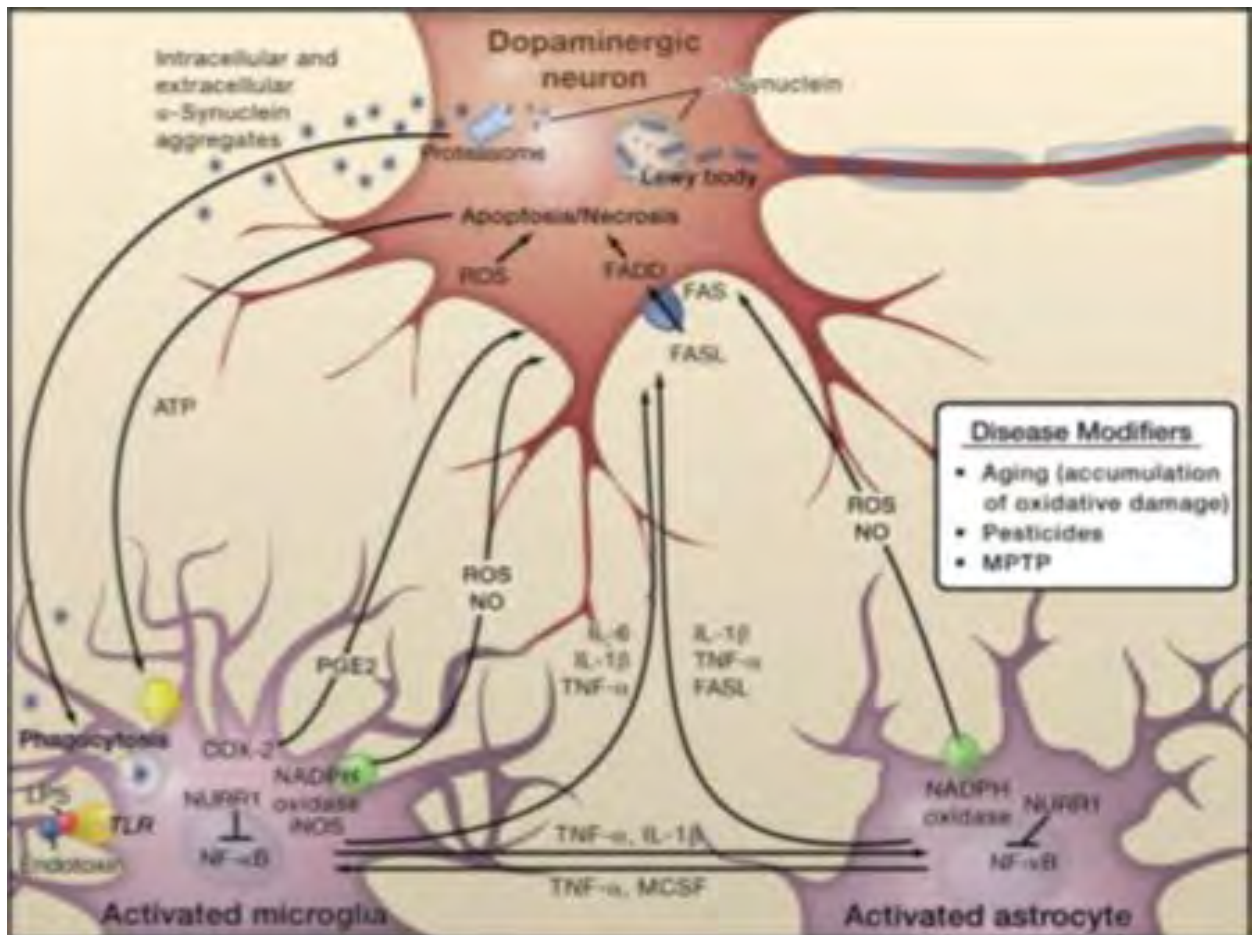


Figure 27 : Inflammation dans la maladie de Parkinson (Glass, et al., 2010)

Les signes neuropathologiques importantes de la maladie de Parkinson sont la perte de neurones dopaminergiques dans la substance noire du mésencéphale et la présence d'inclusions intracellulaires contenant des agrégats de alpha-synucléine, appelée corps de Lewy. En plus de la formation de corps de Lewy, les agrégats de alpha-synucléine forment des oligomères intermédiaires qui quand ils sont libérés des neurones activent la microglie à travers les mécanismes dépendant du Toll-like receptors (TLR). Ceci conduit à l'activation de NF- $\kappa$ B et la production d'EROs et de médiateurs pro-inflammatoires. Ces facteurs agissent directement sur les neurones dopaminergiques de la substance noire, qui sont les principaux neurones (bien que pas les seuls) qui meurent dans la maladie de Parkinson. Ils activent aussi la microglie, ce qui amplifie la réponse inflammatoire dans une boucle de rétrocontrôle positif, menant à l'activation supplémentaire de la microglie. Les produits dérivés de la microglie et des astrocytes agissent de façon combinée pour favoriser la neurotoxicité. Le lipopolysaccharide bactérien (LPS), agissant essentiellement à travers TLR4 exprimé par la microglie, est suffisant pour induire une réponse inflammatoire dans la substance grise qui se traduit par une perte de neurones dopaminergiques. Le facteur de transcription NURR1 agit pour supprimer la réponse inflammatoire dans la microglie et les astrocytes par inhibition des gènes cibles NF- $\kappa$ B (Glass, et al., 2010).

### **I.3.3.4.3. Inflammation et sclérose amyotrophique latérale**

La sclérose amyotrophique latérale, ou maladie de Charcot, est une maladie neurodégénérative progressive fatale qui affecte les motoneurones dans le cerveau, la moelle épinière et le cortex moteur. Les caractéristiques cliniques impliquent la dégénérescence des motoneurones produisant la fasciculation, l'atrophie musculaire et la faiblesse, augmentation de la spasticité et hyperréflexie. Des complications respiratoires se développent généralement chez les patients à un stade avancé, et la cause de la mort est généralement la paralysie des muscles respiratoires et du diaphragme (Glass, et al., 2010).

La sclérose amyotrophique latérale familiale est causée par des mutations dans le gène SOD1. La neurodégénérescence progressive des motoneurones peut résulter d'une combinaison de la vulnérabilité intrinsèque du motoneurone aux agrégats d'une protéine mutante SOD1 et de la toxicité des cellules non autonomes exercée par les cellules avoisinantes. L'agrégat toxique peut induire des réponses inflammatoires par la microglie via le TLR et CD14 (**Figure 28**).

La microglie peut induire l'activation de l'astrocyte par production de cytokines. Microglie et astrocytes activés amplifient le dommage initial des motoneurones par activation de AP-1 et NF- $\kappa$ B à travers la production de cytokines pro-inflammatoires et de molécules déclenchant l'apoptose telles que TNF- $\alpha$  et FASL (protéine transmembranaire appartenant à la famille des TNF- $\alpha$ ). Les motoneurones mourant libèrent l'ATP qui peut activer davantage la microglie via le récepteur purinergique P2X7 exprimé par la microglie (Glass, et al., 2010).

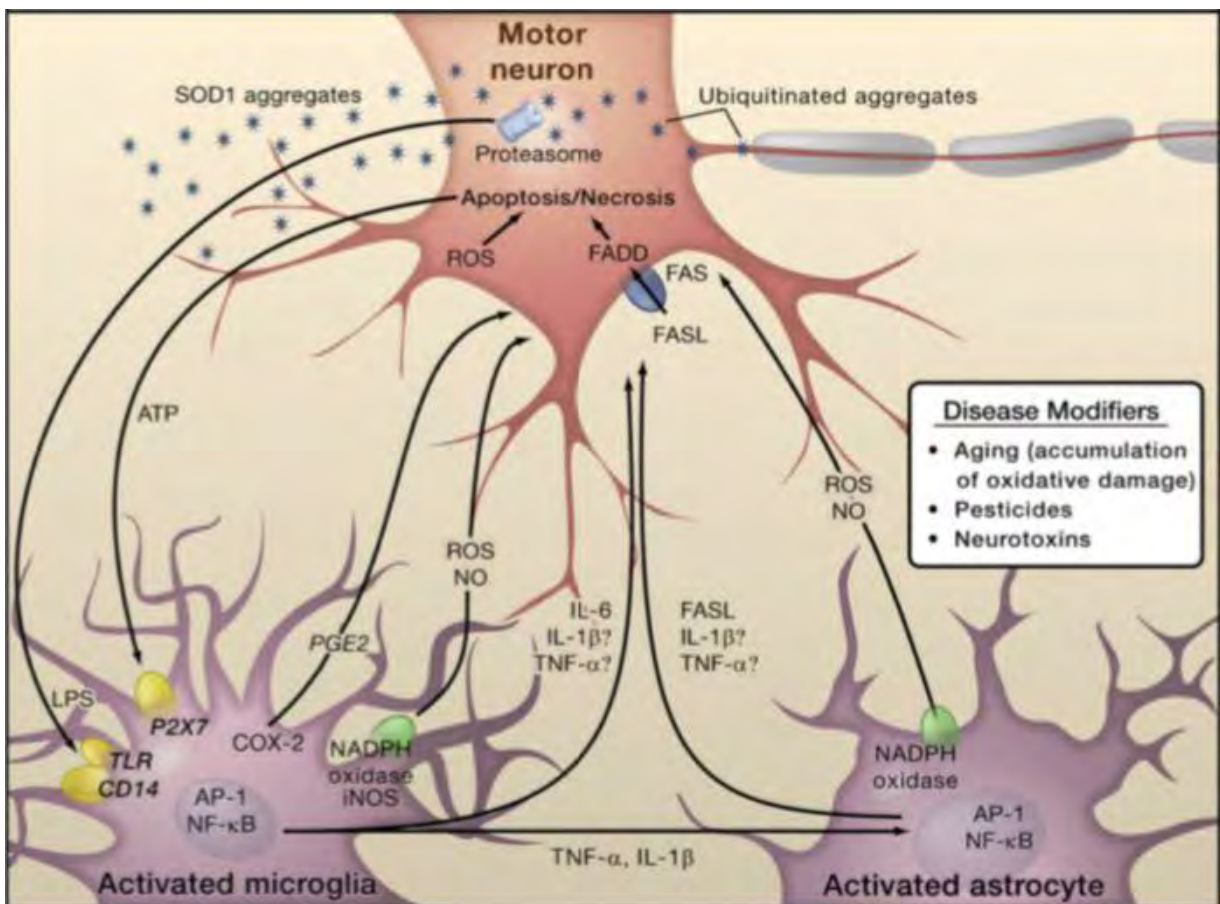


Figure 28 : inflammation dans la sclérose amyotrophique latérale (Glass, et al., 2010)

### I.3.3.4.4. Inflammation et sclérose en plaque

La sclérose en plaque est une maladie hétérogène et auto-immune complexe caractérisée par l'inflammation, la démyélinisation et la dégénérescence axonale dans le SNC. Elle résulte d'un défaut primaire du système immunitaire qui cible les composants de la gaine de myéline, entraînant des effets secondaires sur les neurones. Ainsi, par opposition aux maladies d'Alzheimer, de Parkinson et de la sclérose amyotrophique latérale, l'agrégat de protéines n'est pas un facteur pathogénique. Ces manifestations incluent des défauts de sensation et moteurs, des défauts des systèmes autonome, visuel et cognitif (Glass, et al., 2010).

Les lésions de la sclérose en plaque sont caractérisées par une infiltration de lymphocytes et cellules plasmiques productrices d'anticorps dans la région périvasculaire du cerveau et de la substance blanche de la moelle épinière, une augmentation de microglies, d'astrocytes et une démyélinisation (Glass, et al., 2010).

Les infections bactérienne ou virale ou autres stimuli environnementaux déclenchent l'activation de la microglie et des astrocytes dans la sclérose en plaque, entraînant une production de cytokines pro-inflammatoires via l'activation des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et AP-1 (**Figure 29**). Les cellule T naïves reconnaissent l'antigène dérivé de la myéline présenté par les cellules présentatrices d'antigènes. En présence de IL-6 et TGF- $\beta$ , les cellules naïves T sont induites pour exprimer le récepteur apparenté au récepteur des rétinoïdes (ROR $\gamma$ t) et se différencie en cellules Th17. Microglies et astrocytes activés secrètent l'IL-23 et l'ostéopontine, qui induisent les cellules TH17 à sécréter l'IL-17 et le TNF- $\alpha$  causant les lésions de la gaine de myéline qui protège les axones du nerf. Les astrocytes activés produisent le BAFF, un facteur de survie pour les cellules B auto-réactives, lequel se différencie dans les cellules plasmiques et produit des anticorps anti-myéline. Microglies et astrocytes activés sont aussi sources d'EROs et de NO, qui contribuent à la destruction de la gaine de myéline et des neurones eux-mêmes. Les cellules T régulatrices (Treg) qui

expriment Foxp3 suppriment l'activité des cellules Th17 et ainsi aident à supprimer l'inflammation (Glass, et al., 2010).

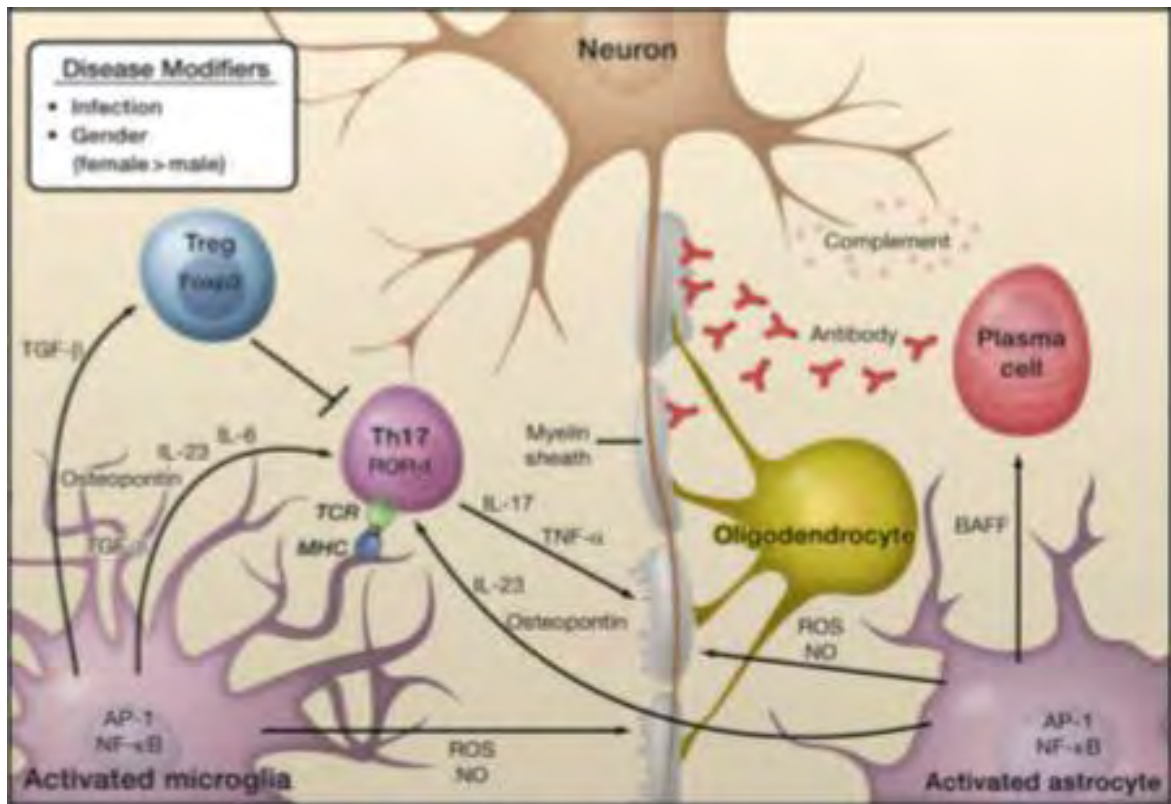


Figure 29 : Inflammation dans la sclérose en plaque (Glass, et al., 2010)

Cette bibliographie nous montre que les "mondes" de la douleur et de l'inflammation se rejoignent. Actuellement, lorsque des travaux fondamentaux sur l'inflammation sont présentés, la référence aux mécanismes de la douleur ne peut plus être négligée. D'autant plus que les messagers chimiques identifiés à la périphérie dans le foyer inflammatoire ont également été identifiés dans les tissus du système nerveux central, où ils contribuent à l'installation des processus associés à la sensibilisation centrale (Calvino, 2007).

Aussi, l'inflammation tout comme la douleur sont des processus physiologiques remplissant d'abord une fonction d'alarme, avertissant le sujet d'une menace potentielle pour l'organisme.

La connaissance des mécanismes physiopathologiques a permis d'affiner les modèles d'étude de la douleur et de l'inflammation.

## **Chapitre II : MODELES D'ETUDE DE LA DOULEUR ET DE L'INFLAMMATION**



La mise en évidence de l'activité pharmacologique des extraits de plantes en particulier à activité analgésique et/ou anti-inflammatoire nécessite l'utilisation de modèles d'étude. Ce chapitre sera consacré aux principaux modèles *in vivo* d'évaluation de l'activité analgésique et anti-inflammatoire.

### II.1. Evaluation de la douleur aiguë

Les modèles animaux employés pour l'évaluation des agents analgésiques comportent les modèles basés sur l'utilisation de stimuli thermique, chimique, mécanique ou électrique (Le Bars, et al., 2001). Ces modèles seront classés en deux groupes :

- Les modèles permettant de mettre en évidence les analgésiques morphiniques (à action centrale) ;
- Les modèles de mise en évidence des analgésiques non morphiniques (à action périphérique).

#### II.1.1. Modèles *in vivo* d'évaluation de l'activité analgésique d'origine centrale

##### II.1.1.1. Test du retrait de la queue (Tail-flick test)

Il s'agit d'un modèle basé sur l'utilisation d'un stimulus thermique (Le Bars, et al., 2001). Il existe deux variantes du test de retrait de la queue : l'une consiste à appliquer une chaleur radiante sur une petite surface de la queue (c'est la plus courante) (**Figure 30**), l'autre à immerger la queue dans de l'eau portée à une température prédéterminée.

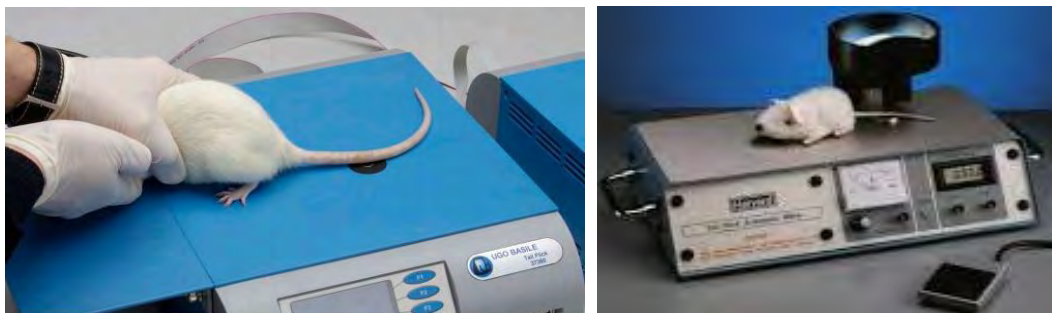


Figure 30 : Modèle de test de retrait de la queue

### II.1.1.1.1. Test de retrait de la queue utilisant la chaleur radiante

Le modèle a été développé pour la première fois pour les mesures quantitatives du seuil de résistance à la douleur chez l'homme contre une radiation thermique (Schumacher, et al., 1940) et pour l'évaluation de l'activité analgésique des opioïdes (Wolff, et al., 1940).

Il consiste en l'application d'un faisceau calorifique sur la queue des animaux qui provoque le retrait de cette dernière par un mouvement bref et vigoureux (D'Amour & Smith, 1941). En même temps que la mise sous tension de la source calorifique, un chronomètre est déclenché et c'est la latence du mouvement (le temps de réaction) qui est enregistrée.

Le temps d'exposition de la queue varie entre 2 et 10 secondes, usuellement 2 et 4 secondes, mais parfois beaucoup plus. L'action analgésique va se traduire par l'allongement du temps de réaction, il convient de ne pas prolonger l'exposition au-delà de 10 - 20 secondes pour éviter de provoquer une brûlure (Le Bars, et al., 2001).

L'intérêt de cette méthode réside dans sa simplicité et dans la faible variabilité interindividuelle des latences contrôles dans des conditions standard données (Le Bars, et al., 2001).

Sur le plan pharmacologique, on constate un consensus autour du fait que ce test ne révèle que l'activité des analgésiques morphiniques (mais non des morphiniques agonistes partiels). Il est alors assez prédictif de leurs effets analgésiques chez l'homme (Le Bars, et al., 2001).

Ce test est plus sensible à la morphine, quand la partie distale de la queue est stimulée comparée à la stimulation de la partie proximale. La stimulation de la partie centrale donne des effets intermédiaires (Parle & Yadav, 2013).

- **Avantages** (Parle & Yadav, 2013)
  - ✓ Le test est très efficace pour évaluer les analgésiques morphiniques ;



- ✓ La technique est simple et ne requiert aucune compétence spéciale ;
- ✓ Les résultats sont assez précis et sont obtenus en moins de temps.
- **Inconvénients** (Parle & Yadav, 2013)
  - ✓ La réponse peut être influencée par le phénomène d'apprentissage, observé avec des intervalles de stimulation courtes et une intensité de chaleur élevée ;
  - ✓ Le test ne révèle que l'activité des analgésiques opioïdes et non des opioïdes agonistes partiels
  - ✓ Il est impossible de prolonger l'exposition de la queue au-delà de 20 secondes au risque de brûler la queue de l'animal.

### **II.1.1.1.2. Test de retrait après immersion de la queue**

En apparence, il s'agit d'une variante du test précédent, la différence essentielle concerne la surface de stimulation qui est beaucoup plus grande. L'immersion de la queue de l'animal dans l'eau chaude (55°C) provoque un mouvement brusque de la queue et parfois le recul global du corps de l'animal (Vogel, 2008). On mesure le délai d'apparition de la réponse (Ben-Bassat, et al., 1959). En réalité ce test est bien différent du précédent dans la mesure où l'immersion de la queue dans un liquide chaud augmente sa température très rapidement et de façon plus ou moins linéaire, ce qui n'est pas le cas, avec la chaleur radiante (Le Bars, et al., 2001).

Son grand intérêt réside dans la possibilité d'appliquer des températures différentes. Ainsi l'abaissement de la température permet-elle de mettre en évidence l'activité des analgésiques non morphiniques (Sewell & Spencer, 1976; Luttinger, 1985).

### **II.1.1.2. Test de la plaque chauffante (Hot-plate test)**

Il s'agit d'un modèle basé sur l'utilisation d'un stimulus thermique (Le Bars, et al., 2001). Il consiste à introduire le rat ou la souris dans un espace cylindrique ouvert

vers le haut dont le plancher, constitué par une plaque métallique, est chauffé par un thermostat ou par un liquide porté à l'ébullition (Woolfe & Mac Donald, 1944) (**Figure 31**).



**Figure 31 : Modèle de plaque chauffante**

La plaque chauffée à température constante déclenche deux composantes comportementales dont on mesure le délai d'apparition : le lèchement des pattes, réflexe considéré comme élémentaire, et le saut, réponse considérée comme intégrée au niveau supraspinal (Le Bars, et al., 2001).

Le comportement de lèchement n'est affecté que par les morphiniques. En revanche, la latence du saut est également augmentée par les analgésiques moins puissants comme l'acide acétylsalicylique ou le paracétamol, surtout lorsque qu'on abaisse la température de la plaque à 50 °C, voire moins (Ankier, 1974), ou qu'on augmente la température de façon progressive et linéaire, par exemple de 43 à 52 °C à la vitesse de 2,5 °C par minute (Hunskaar, et al., 1986).

Le comportement est relativement stéréotypé chez la souris, mais plus complexe chez le rat qui renifle, se lèche les pattes antérieures puis postérieures, se redresse, trépigne, commence puis interrompt un comportement de toilette, etc (Le Bars, et al., 2001).

Par ailleurs ce test est très sujet à des phénomènes d'apprentissage, l'abaissement progressif de la latence du saut étant contemporain de la disparition du comportement de léchage. Ainsi, l'animal va se lécher les pattes puis sauter lors du premier test, mais sautera d'emblée avec une latence plus courte lors des tests suivants. Il suffit de présenter les animaux sur la plaque non chauffée, même une seule fois la veille du test, pour provoquer une diminution de la latence mesurée ultérieurement dans les conditions habituelles de température nociceptive constante (Bardo & Hughes, 1979; Hunskaar, et al., 1986). Ces observations rendent ce test d'utilisation délicate.

Aussi, les sédatifs, myorelaxants ou psychomimétiques donnent des faux positifs. Les agonistes, antagonistes opioïdes partiels produisent des résultats peu fiables (Parle & Yadav, 2013).

### **II.1.1.3. Test au formol chez le rat (Formalin test on rat)**

Il s'agit d'un modèle basé sur l'utilisation d'un stimulus chimique (Le Bars, et al., 2001). Il a été proposé pour la première fois en 1977 comme modèle de douleur chronique sensible aux agents analgésiques morphiniques (Dubuisson & Dennis, 1977).

La substance la plus utilisée est le formol, le terme "formaline" désignant souvent une solution à 37 % de formaldéhyde. Une solution de formol (0,5–15 %) est injectée dans la face dorsale de la patte antérieure de rat. Le comportement "douloureux" est coté sur une échelle à quatre niveaux :

- 0 = posture normale ;
- 1 = la patte injectée reste au sol sans soutenir l'animal ;
- 2 = la patte injectée est franchement relevée ;
- 3 = la patte injectée est léchée, mordillée, secouée (Dubuisson & Dennis, 1977).

On mesure parfois le nombre de lèchements ou de tressaillements de la patte par unité de temps (Wheeler-Aceto & Cowan, 1991), voire l'agitation globale de l'animal mesurée par une jauge de contrainte solidaire de la cage (Jett & Michelson, 1996).

Sur le plan chronologique, l'injection intraplantaire de formol déclenche une réaction comportementale biphasique qui comporte une phase précoce, survenant dans les 3 minutes suivant l'injection, puis, à la suite d'une période de repos, une phase plus tardive culminant 20 à 30 minutes plus tard. Pour l'une et l'autre phase, la vigueur de ces comportements est dépendante de la concentration de formol administré (Rosland, et al., 1990; Clavelou, et al., 1995).

La première réponse résulterait de la stimulation directe des nocicepteurs et la seconde correspondrait à une phase de sensibilisation au cours de laquelle interviendraient des phénomènes inflammatoires. Cette seconde phase est elle aussi, déclenchée par des mécanismes périphériques (Le Bars, et al., 2001).

Au plan pharmacologique, les analgésiques morphiniques agissent sur les deux phases, mais préférentiellement sur la première. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'indométacine n'agiraient que sur la seconde phase (Hunskar & Hole, 1987; Shibata, et al., 1989; Malmberg & Yaksh, 1992; Jourdan, et al., 1997), surtout lorsque la concentration de formol injecté est élevée (Yashpal & Coderre, 1998).

Afin de reproduire les conditions de la clinique au cours desquelles, stimuli d'origine nociceptive et inflammatoire se potentialisent, un modèle de douleur postopératoire déclenché par incision cutanée a été proposé (Brennan, et al., 1996; Zahn, et al., 1997).

### **II.1.2. Modèles *in vivo* d'évaluation de l'activité analgésique périphérique**

Les modèles les plus utilisés pour l'évaluation de l'activité analgésique périphérique sont le test à l'acide acétique chez la souris et le test de la pression de la patte chez le rat (Vogel, 2008).

#### **II.1.2.1. Test de contorsions induit par l'acide acétique chez la souris (Writhing test)**

C'est un modèle basé sur l'utilisation d'un stimulus chimique (Le Bars, et al., 2001). Ce test est désigné sous diverses appellations : méthode des contorsions, test des crampes abdominales, en anglais writhing test.

L'injection intrapéritonéale d'agents irritant les membranes séreuses (phénylbenzoquinone, acide acétique, etc.) provoque un comportement, très stéréotypé chez la souris, caractérisé par des contractions abdominales, des mouvements d'étirement du corps et des pattes postérieures et une torsion des muscles dorso-abdominaux associés à une réduction de l'activité et une incoordination motrice (Le Bars, et al., 2001).

En général, le nombre de crampes abdominales par unité de temps est mesuré. Ces comportements sont considérés comme des réactions réflexes (Hammond, 1989) témoignant d'une douleur viscérale (Vyklícky, 1979). Par ailleurs, la fréquence des crampes décroît spontanément avec le temps, de telle sorte qu'il est impossible d'évaluer la durée d'action d'un analgésique sur un même animal (Michael-Titus & Costentin, 1988).

Ce test permet la mise en évidence des effets analgésiques de faible intensité mais manque de spécificité (Chernov, et al., 1967; Loux, et al., 1978). En effet, il sélectionne bien tous les analgésiques majeurs et non morphiniques, mais également certaines substances dépourvues d'action analgésique (faux positifs) : antagonistes adrénergiques, antihistaminiques H1, myorelaxants, IMAO, neuroleptiques...

Cependant, tous les analgésiques inhibent les contorsions abdominales (Le Bars, et al., 2001). Nous y reviendrons dans la partie expérimentale du document.

### II.1.2.2. Test de pression de la patte chez le rat (Randall-Selitto test)

C'est une méthode induite par un stimulus mécanique (Le Bars, et al., 2001), permettant de mesurer l'activité analgésique, basée sur le principe que l'inflammation augmente la sensibilité à la douleur et que cette sensibilité est susceptible d'être modifiée par les analgésiques. L'inflammation diminue le seuil de réaction à la douleur et ce seuil est réellement relevé par les agents analgésiques aussi bien non morphiniques (comme les salicylates) que morphiniques (Vogel, 2008).

L'inflammation est induite par une injection sous cutanée préalable, au niveau du territoire qui sera soumis à la stimulation, de substances comme l'huile de croton, la levure de bière ou la carraghénine, cette dernière étant la plus employée aujourd'hui (Kayser & Guilbaud, 1987).

À l'aide d'une pointe mousse, on applique une pression punctiforme et croissante sur une patte postérieure ou, plus rarement, sur la queue de l'animal. La pointe mousse est fixée à un fléau gradué comportant un système à crémaillère sur lequel le déplacement d'une masse accroît progressivement la pression (**Figure 32**) (Green, et al., 1951).



Figure 32 : Algimètre : Modèle de Randall-Selitto

Ce dispositif permet d'appliquer des pressions régulièrement croissantes et d'interrompre le test lorsque le seuil est atteint. Lorsque la pression augmente, on observe successivement (Le Bars, et al., 2001) :

- le retrait réflexe de la patte ;
- un mouvement plus complexe par lequel l'animal essaie de soustraire son membre coincé ;
- une sorte de lutte ;
- une réaction vocale.

Si la sensibilité de la méthode s'en trouve accrue par l'inflammation, c'est au détriment de sa spécificité car deux effets pharmacologiques différents, analgésiques et anti-inflammatoires, peuvent être confondus, le résultat traduisant dès lors une "activité antalgique" assez mal définie. Cependant, la comparaison chez le même animal des réponses déclenchées depuis une patte saine et une patte enflammée permet de résoudre ce problème dans une certaine mesure. En effet, les anti-inflammatoires n'augmentent le seuil de vocalisation, abaissé du fait de la sensibilisation des nocicepteurs, que lorsque la pression est appliquée sur la patte enflammée (Winter & Flataker, 1965).

### **II.2. Evaluation de la douleur chronique chez l'animal d'expérience**

Deux types de modèles sont principalement utilisés pour étudier les douleurs chroniques chez le petit animal : l'un de type inflammatoire chez le rat par déclenchement d'une arthrite chronique, l'autre se rapprochant des douleurs neuropathiques.

#### **II.2.1. L'arthrite chronique induite par l'adjuvant de Freund chez le rat**

C'est un modèle validé comme modèle de douleur chronique inflammatoire chez le rat. Il consiste à permettre le développement d'une arthrite auto-immune

disséminée chez le rat, par injection intradermique d'une solution concentrée d'adjuvant de Freund à la base de la queue (De Castro, et al., 1981; Colpaert, et al., 1982; Calvino, et al., 1987).

Ce modèle présente quatre phases :

1. une phase préclinique ;
2. une phase aiguë à partir du 12<sup>ème</sup> jour après l'inoculation, au cours de laquelle on observe le développement d'une hyperalgésie ;
3. une phase post-aiguë au cours de laquelle les symptômes observés sont toujours présents mais régressent petit à petit pour atteindre ;
4. une phase de guérison à partir de la 9<sup>ème</sup> semaine.

### **II.2.2. Modèles animaux de douleurs neuropathiques**

Les douleurs neuropathiques sont classées soit selon le diagnostic étiologique de la neuropathie (par exemple, neuropathie douloureuse diabétique, névralgie post-herpétique, névralgie post-traumatique), ou la lésion anatomique (douleur centrale, névralgie périphérique). Ainsi, plusieurs modèles ont été décrits pour étudier la douleur neuropathique (Vogel, 2008).

#### **II.2.2.1. Modèles chimiotoxiques**

- **Modèle de diabète expérimental à la streptozocine chez le rat**

Avec ce modèle, les rats rendus diabétiques par injection de streptozocine par voie intra-péritonéale, présentent des signes caractéristiques des douleurs neuropathiques deux semaines après induction du diabète. Le modèle a été validé comme modèle de douleur chronique par la mise en évidence d'une diminution des seuils de réponse à la plaque chauffante (Forman, et al., 1986; Courteix, et al., 1993).

- **Modèle de douleur neuropathique induit par un traitement antirétroviral**

Dans ce modèle les rats sont traités par la molécule de synthèse 2',3'-dideoxycytidine (ddC) qui est un analogue nucléosidique inhibiteur de la transcriptase inverse virale, utilisé dans le traitement du VIH chez l'homme. Les animaux traités



présentent des modifications comportementales caractéristiques des douleurs neuropathiques comme l'apparition d'une allodynie et d'une hyperalgésie mécanique ou encore une allodynie thermique au froid (Van Steenwinckel, et al., 2008).

- **Modèle de douleur neuropathique induit par la vincristine**

La vincristine est un agent antinéoplasique très utilisé en chimiothérapie cancéreuse, neurotoxique pour tous les patients traités et peut induire une neuropathie périphérique (Windebank, 1999).

Des modèles animaux de neuropathie nociceptive ont été développés utilisant des injections répétées de vincristine (Aley, et al., 1996; Authier, et al., 1999; Authier, et al., 2003; Marchand, et al., 2003).

### II.2.2.2. Les modèles lésionnels

Une lésion partielle des nerfs somatosensitifs provoque parfois une causalgie chez l'homme. La causalgie est caractérisée par une douleur brûlante spontanée combinée à une hyperalgésie et à une allodynie et suit généralement une lésion incomplète du nerf périphérique. L'allodynie est une sensation de douleur due à une stimulation normalement inoffensive, est un symptôme particulièrement gênant chez les patients.

L'un des premiers modèles validé a été celui, basé sur la pose de ligatures partielles lâches le long du tronc commun du nerf sciatique (CCI) (Bennett & Xie, 1988). Ce modèle est caractérisé par des modifications comportementales chez les animaux à type d'hyperalgésie mécanique et thermique au chaud.

S'inspirant de ce modèle de Bennett et Xie, d'autres modèles ont été par la suite décrits :

- une ligature serrée d'une partie (entre un tiers et la moitié) du tronc commun du nerf sciatique, modèle de "Seltzer" (PSNI) (Seltzer, et al., 1990) ;
- une ligature serrée ipsilatérale des racines dorsales L5 et L6, modèle de "Kim and Chung" (SNL) (Kim & Chung, 1992) ;

- une ligature du nerf infra orbitaire, modèle basé sur une constriction du nerf (Vos, et al., 1994).

Le modèle de Kim et Chung présente la plus grande reproductibilité puisqu'on réalise une ligature serrée des nerfs. Malheureusement, ce modèle produit une composante inflammatoire importante résultante des lésions générées. Enfin ce dernier modèle présente le désavantage d'avoir une chirurgie lourde (Thibault, 2009).

### **II.3. Modèles animaux in vivo d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire**

Le processus inflammatoire implique une série d'événements pouvant être provoqués par de multiples stimuli, tels que des agents infectieux, l'ischémie, des interactions antigène-anticorps, des lésions d'origine chimique, thermique ou mécanique. La réponse est accompagnée par des signes cliniques comme l'érythème, l'œdème, l'hyperalgésie et la douleur. Cette réponse est présente dans trois phases distinctes médiées par des mécanismes différents :

- Une phase aiguë, transitoire, caractérisée par une vasodilatation locale, une perméabilité capillaire augmentée ;
- Une phase subaiguë avec infiltration de leucocytes et cellules phagocytaires ;
- Une phase proliférative chronique montrant une dégénérescence tissulaire et une fibrose.

Tenant compte de ces différentes phases, des modèles pharmacologiques ont été développés. Il s'agit de :

- Modèles permettant de tester l'inflammation aiguë et subaiguë :
  - Erythème cutané aux UV chez le cobaye ;
  - Test de perméabilité vasculaire ;
  - Test de l'œdème de l'oreille à huile de croton chez la souris ;

- Test de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine.
- Modèles mesurant la phase proliférative, basés sur la formation d'un granulome :
  - Granulome à la laine de coton ;

### **II.3.1. Erythème cutané aux UV chez le cobaye**

L'érythème (rougeur) constitue le premier signe de l'inflammation avant l'apparition de l'exsudat et de l'œdème. Chez le cobaye albinos, la peau exposée aux UV (280 - 320 nm), le taux de PGE augmente durant les 24 heures suivant l'exposition. Cette augmentation est corrélée à la phase tardive de l'érythème. Le traitement présystémique avec des AINS retarde l'augmentation de l'érythème de la peau, comme décrit pour la première fois par Wilhelmi (Wilhelmi, 1949).

- **Procédure**

Des cobayes albinos des deux sexes avec un poids moyen de 350 g sont utilisés, regroupés par lots pour chaque traitement avec un groupe contrôle. Dix huit heures avant le test, les animaux sont rasés à la fois sur le flanc et le dos. Ils sont ensuite épilés chimiquement avec un produit d'épilation ou par une suspension de sulfite de baryum. Vingt minutes après, la colle d'épilation et les poils sont rincés à l'eau. Le jour suivant, les composés à tester sont dissouts dans le véhicule et la moitié est administrée par gavage (10 mL/Kg) 30 min avant l'exposition aux UV. Les animaux contrôles sont traités avec le véhicule seul. Les cobayes sont placés dans un brassard en cuir avec un trou de 1,5 x 2,5 cm permettant au rayonnement UV d'atteindre seulement la zone voulue. Les animaux sont ensuite exposés aux UV. Après 2 min d'exposition, la moitié restante des composés à tester est administrée. L'érythème est évalué après 2 et 4 h d'exposition (Vogel, 2008).

- **Evaluation**

Le degré de l'érythème est évalué visuellement par deux investigateurs en double aveugle, en appliquant les scores suivants :

- ✓ 0 = érythème absent
- ✓ 1 = érythème faible
- ✓ 2 = érythème fort
- ✓ 4 = érythème très fort

Les animaux avec un score de 0 à 1 sont considérés comme protégés. Le score après 2 et 4 h donne une indication sur la durée de l'effet. La  $DE_{50}$  peut être calculée. Les références utilisées peuvent être l'indométacine (1,5 mg/Kg ; per os), phenylbutazone (4 mg/Kg ; per os), acide acétylsalicylique (60 mg/Kg ; per os).

### II.3.2. Test de perméabilité vasculaire

Durant l'inflammation, la perméabilité vasculaire est augmentée pour permettre aux constituants plasmatiques tels que les anticorps et le complément d'accéder aux tissus lésés ou infectés (Patel, et al., 2012).

Tenant compte de cela, ce test est utilisé pour évaluer l'activité inhibitrice de drogues contre la perméabilité vasculaire augmentée, laquelle est induite par des substances phlogogènes. Les médiateurs de l'inflammation comme l'histamine, les prostaglandines et leucotriènes sont libérés suite à la stimulation des cellules mastocytaires par exemple. Cette dernière mène à la dilatation des artérioles et veinules et ainsi à une augmentation de la perméabilité vasculaire qui favorise la formation de l'œdème (Vogel, 2008).

- **Procédure :**

Des rats Wistar albinos sont utilisés. Le groupe contrôle reçoit l'eau distillée (1 mL/100 mg) per os et les autres groupes le composé à tester par voie orale. Le groupe de référence reçoit du diclofénac (10 mL/ kg) en IP. Une heure après administration des différentes solutions, les rats reçoivent une injection de 0,25 mL d'une solution de 0,6 % d'acide acétique par voie IP. Immédiatement après, on leur injecte 10 mL/kg d'une solution de bleu d'Evans à 10 % au niveau de veine caudale. Trente minutes

après, les animaux sont anesthésiés et sacrifiés. Leur abdomen ouvert et les viscères exposés. Le liquide péritonéal (exsudat) est collecté, filtré et complété à 10 mL avec du sérum salé, puis centrifugé à 3000 tours pendant 15 minutes. L'absorbance du surnageant est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 590 nm (Patel, et al., 2012).

- **Evaluation :**

La concentration en colorant diminuée, corrélée à l'absorbance indique la réduction de la perméabilité. Le résultat du test est comparé avec un standard (Patel, et al., 2012). La  $DE_{50}$  peut aussi être calculée (Vogel, 2008).

### II.3.3. Test de l'œdème de l'oreille à l'huile de croton chez la souris

L'huile de croton contient le 12-o-tétracanoilphorbol-13-acétate (TPA) et d'autres esters de phorbol qui sont des agents irritants. Le TPA est capable d'activer la PKC, laquelle active à tour de rôle d'autres cascades enzymatiques, telles que MAPK et PLA2, menant à la libération de PAF et l'AA. Ces cascades d'évènements stimulent la perméabilité vasculaire, la vasodilatation, la migration des PNN, la libération d'histamine et de sérotonine et la synthèse d'éicosanoïdes par la COX et la 5-LOX. Les inhibiteurs de la COX et 5-LOX, les antagonistes des LTB4 et les corticostéroïdes montrent une action anti-inflammatoire topique sur ce modèle (Patel, et al., 2012).

- **Procédure :**

Une solution acétonique (15  $\mu$ L) contenant 75  $\mu$ g d'huile de croton est appliquée sur la surface interne de l'oreille droite de la souris. L'oreille gauche n'est pas traitée. Le groupe contrôle ne reçoit que la solution irritante, l'indométacine (100  $\mu$ g/ oreille) sert de référence. Des doses variables des drogues à tester dissoutes dans une solution irritante sont appliquées à la surface interne de l'oreille droite de chaque souris. Les animaux sont ensuite sacrifiés par dislocation cervicale 6H après et un disque de 6 mm de diamètre est prélevé sur chaque oreille traitée ou non traitée. La détermination de la différence de poids indique le degré de l'œdème inflammatoire.

Le TPA étant le constituant principal de l'huile de croton, purifié il peut être utilisé pour induire l'œdème chez la souris (Patel, et al., 2012).

- **Evaluation :**

L'effet antiphlogogène peut être déterminé en exprimant l'augmentation de poids de l'oreille traité en pourcentage du poids de l'oreille contrôle. Les valeurs moyennes de la différence à la fois entre les oreilles ou les disques prélevés est calculée pour les groupes traité et contrôle. L'effet est évalué par analyse statistique.

### **II.3.4. Test de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine**

Parmi les nombreuses méthodes utilisées pour le criblage des drogues anti-inflammatoires, l'une des techniques les plus couramment utilisées est basée sur la capacité de ces agents à inhiber l'œdème de la patte postérieure du rat après injection d'un agent phlogogène. De nombreux agents phlogogènes (irritants) ont été utilisés, tels que la levure de bière, le formaldéhyde, le dextrane, l'albumine d'œuf, le kaolin, les polysaccharides sulfatés comme le carraghénine ou l'héparamine naphthoyle (Vogel, 2008).

L'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine est associé à trois phases distinctes. La première phase est précoce, médiée par la dégranulation des mastocytes et la libération d'histamine et de sérotonine (1 h), la seconde phase (60 à 150 min) se caractérise par une libération de la bradykinine (douleur), et une production ultérieure d'éicosanoïdes en phase tardive (3-4 h). Donc ici, l'effet anti-inflammatoire du composé testé est dû à l'inhibition de médiateurs de la douleur et de l'inflammation (Patel, et al., 2012).

### **II.3.5. Granulome à la laine de coton**

Les granulomes de corps étrangers ont été provoqués chez des rats par implantation sous-cutanée de boulettes de coton comprimées. Après plusieurs jours,

des cellules et des tissus conjonctifs indifférenciés peuvent être observés en plus de l'infiltration de fluide. La quantité de tissu conjonctif nouvellement formée peut être mesurée en pesant les boulettes séchées après retrait. Une formation de granulomes plus intense a été observée si les boulettes de coton ont été imprégnées de carraghénine (Patel, et al., 2012).

- **Procédure :**

Des rats mâles pesant entre 180 - 200 g ont été utilisés. Les drogues à tester ont été administrées une fois par jour pendant 7 jours par voie orale, et le groupe témoin a reçu le véhicule. Deux boulettes stérilisées de coton ont été implantées par voie sous-cutanée, une de chaque côté de l'abdomen de l'animal, sous l'anesthésie et de façon stérile. Les rats ont été sacrifiés le huitième jour. Les boulettes implantées ont été disséquées et leurs poids humides déterminés. Les thymus ont été disséqués. Les boulettes et le thymus ont été séchés à 60 ° C pendant 18 h et le poids sec a été déterminé (Patel, et al., 2012).

- **Evaluation :**

Le poids du transudat et du granulome ainsi que le pourcentage d'inhibition du granulome par les drogues testées ont été calculés. Le gain de poids corporel a également été déterminé (Patel, et al., 2012).

Habituellement la prise en charge de la douleur et de l'inflammation passe par l'utilisation d'agents pharmacologiques comme les opioïdes et les AINS dont l'évaluation préclinique de leur activité nécessite des modèles expérimentaux.

Cependant, les effets indésirables divers (constipation, dépression respiratoire ainsi que l'irritation de la muqueuse gastrique et l'ulcère, la rétention hydrique et la néphrotoxicité...) des opioïdes et des AINS, limitent leur utilisation thérapeutique (Benyamin, et al., 2008; Kawada, et al., 2012). Une autre option importante dans le traitement de la douleur et de l'inflammation est l'utilisation de plantes médicinales qui est une pratique mondiale commune (Shah, et al., 2011).

**Chapitre III : LPP-03-2017 (ANNONACEAE) : REVUE  
PHYTOCHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE**



LPP-03-2017 (ANNONACEAE), plus connue sous le nom de pomme Cannelle du Sénégal, et communément appelée « Dugor » en wolof, est une plante très largement répandue dans les savanes soudano-guinéennes et s'étend du Sénégal au Soudan et également tout le long de la côte en Afrique de l'Est et à Madagascar (Pinto, et al., 2005; Matig, et al., 2006). Elle fait partie de ces plantes de la Pharmacopée Africaine, très utilisées par les praticiens de la médecine traditionnelle. Ses différentes parties (racines, écorces de tronc, feuilles, rameaux feuillés) sont utilisées en médecine traditionnelle africaine dans le traitement de nombreuses pathologies (Boullard, 2001).

### **III.1. Description botanique de LPP-03-2017**

#### **III.1.1. Classification scientifique**

Règne : Végétal

Sous-règne : Trachéophytes

Embranchement : Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Annonales

**Famille : Annonaceae**

Genre : *LPP-03-2017*

Espèce : LPP-03-2017

#### **III.1.2. Appellations locales**

Le nom du genre, "LPP-03-2017", vient du mot latin "anon", signifiant "produits chaque année", se référant aux habitudes de fruits des différentes espèces dans ce genre de production. Le nom spécifique signifie "du Sénégal", qui est le pays d'où le spécimen type a été recueilli (Orwa, et al., 2009).

### **III.1.3. La plante**

LPP-03-2017 (ANNONACEAE), est un arbuste ou petit arbre de 2 à 6 mètres de hauteur, pouvant atteindre 11 mètres en conditions favorables. Son écorce est grise à noire, épaisse et lisse, fissurée en sections quand elle vieillit. Ses rameaux sont plus ou moins velus avec de grandes feuilles ovales avec des nerfs latéraux parallèles. Les fleurs sont jaunes avec de petits sépales triangulaires et le fruit en syncarpe orange. Les rameaux et les jeunes feuillages présentent parfois des poils denses (Orwa, et al., 2009).

### **III.1.4. Les feuilles**

Les feuilles sont alternes, simples, de forme oblongue, ovales ou elliptiques. Elles sont vertes à bleu-vert, presque sans poils sur le dessus, mais souvent avec des poils brunâtres en dessous, avec des nervures nettes vertes à rougeâtres sur les deux surfaces. L'apex est arrondi ou légèrement entaillé, de base carrée à légèrement lobée, de marge entière. Le pétiole est court et trapu (Orwa, et al., 2009).

### **III.1.5. La fleur**

La fleur peut mesurer jusqu'à 3 cm de diamètre. Elle est portée par des tiges de 2 cm de long, solitaires ou en groupes de 2 à 4, découlant de l'aisselle des feuilles. Elle est jaunâtre, campanulée, trimère et hermaphrodite. Elle est constituée de 3 sépales, 6 pétales et de nombreuses étamines longues (Orwa, et al., 2009).

### **III.1.6. Le fruit**

Le fruit est formé de nombreuses carpelles soudées, charnues, grumeleuses, en forme d'œuf, ovoïde ou globuleux. Le fruit immature est vert, virant au jaune puis à l'orange à maturation. La tige portant le fruit mesure entre 1,5 et 5 cm de long. Les graines sont nombreuses, cylindriques, de forme oblongue, orange-brun (Orwa, et al., 2009).

### **III.1.7. Le cycle végétatif**

La plante prend ses jeunes feuilles en janvier, fleurit de février à mai. Les fruits mûrissent d'avril à juin.

## **III.2. Utilisations**

### **III.2.1. Alimentaire**

Les feuilles sont parfois utilisées comme légumes. La pulpe blanche comestible du fruit mûr a un goût agréable d'ananas. Les fleurs servent comme épice pour différents repas. Les rameaux et les feuilles sont utilisés comme fourrage pour le bétail (Arbonnier, 2009).

### **III.2.2. En médecine traditionnelle**

Toutes les parties de LPP-03-2017 sont utilisées en médecine traditionnelle (Okhale, et al., 2016).

En milieu diola (Casamance, zone sud du Sénégal), le jus issu des feuilles pressées de LPP-03-2017 est utilisé en application directement sur les blessures comme hémostatique et cicatrisant (Sambou, 1998).

Chez les Malinké de la communauté rurale de Tomboronkoto, Kédougou (Sénégal), les feuilles et les racines sont utilisées sous forme de boisson dans la constipation (Gueye, et al., 2012).

Les socés des îles du Saloum (Sénégal) utilisent le décocté des racines par voie orale dans les affections intestinales douloureuses avec anurie et constipation. La poudre de feuilles et l'écorce de petites tiges séchées sont utilisées contre la diarrhée (Neuwinger, 1996).

Au Bénin, la tige et les feuilles de LPP-03-2017. sont utilisées en médecine vétérinaire traditionnelle par les éleveurs dans le traitement des panaris interdigités.

Les feuilles sont employées dans la prise en charge des helminthiases du tube digestif et l'écorce de racines dans les cas de morsures de serpents (Assogba, 1984).

Dans les tribus Haoussa de Kano au Nigéria, une décoction de l'écorce est utilisée contre la fatigue, le latex et l'écorce de tige sont appliqués sur les plaies (Hussain, 1989). Ils utilisent également l'écorce de tige dans les morsures de serpents et dans le traitement de l'hernie (Dambatta & Aliyu, 2011). Chez les Igede du Nigéria, l'écorce de tige de LPP-03-2017 sous forme de décoction est utilisée dans la prise en charge de la diarrhée. Le macéré ou décocté de feuilles, associé à celui des feuilles de *Nauclea latifolia* est employé pour traiter la dysenterie. Aussi, un macéré de feuilles et d'écorces de tige est utilisé contre les insectes qui attaquent les grains entreposés (Igoli, et al., 2005). Dans l'Etat de Enugu et chez le peuple Keffi du Nigéria, les feuilles sont utilisées dans le traitement de la fièvre jaune, de la tuberculose et de la variole (Aiyeloja & O., 2006; Mustapha, et al., 2013). Les tribus Idoma du Nord du Nigéria utilisent les écorces de racines dans la prise en charge de pathologies infectieuses humaine et animale, notamment la tuberculose (Ofukwu & Ayoola, 2008). Dans l'Etat de Kaduna au Nigéria, les feuilles sont écrasées et appliquées sur les éruptions cutanées dans les cas de varicelles (Faleyimu, et al., 2010).

Dans la Province Nord-Ouest du Cameroun, LPP-03-2017 est utilisée en médecine ethnovétérinaire comme antidiarrhéique et antiseptique contre les blessures touchant les animaux (Toyang, et al., 1995). Dans l'extrême nord du Cameroun, la racine est utilisée comme antidote contre les toxines nécrosantes des morsures venimeuses et piqûres de scorpions, de serpents et d'araignées (Emmanuel & Mamoudou, 2015). La racine est également utilisée dans les régions soudano-sahéliennes et dans le Sud-ouest du Cameroun pour la prise en charge des gastrites, des morsures de serpents, de l'impuissance sexuelle masculine, et du dysfonctionnement érectile (Jiofack, et al., 2009).

En Guinée, les guérisseurs traditionnels utilisent la décoction de feuilles de LPP-03-2017 dans le traitement du paludisme (Traore, et al., 2013).

En Tanzanie, les racines sont utilisées pour combattre les infections opportunistes de type herpes zoster, cryptococcal meningitidis et infections dermiques, liées au VIH/SIDA (Kisangau, et al., 2007).

En Swaziland, les racines sont utilisées pour traiter les plaies ouvertes (National Research Council, 2008).

En Afrique du Sud, les racines seraient utilisées pour guérir la dépression psychique, et au Mozambique, elles servent à faire oublier aux petits enfants le sein afin de hâter le sevrage. Il a également été rapporté que les feuilles cueillies le jeudi matin et jetées sur l'épaule droite favoriserait la chance (Orwa, et al., 2009).

### **III.2.3. Autres utilisations**

Des cendres provenant du bois est ajouté à mâcher ou à priser le tabac et est également un solvant dans la production de savon. Les feuilles sont parfois utilisées dans le remplissage des matelas et des oreillers, et au Soudan un parfum est préparé à partir de feuilles bouillies (Arbonnier, 2009).

Le bois de LPP-03-2017 brun doux, blanc ou de couleur claire est utilisé dans la fabrication de bâtons, de manches d'outils et la construction de huttes. Un colorant jaune ou brun (tanins) est obtenu à partir de l'écorce. L'écorce permet d'obtenir un insecticide efficace utilisé comme poison (Orwa, et al., 2009).

Une huile essentielle peut être tirée du fruit et des feuilles dont les principaux constituants sont respectivement la car-3-ène et le linalol (Ekundayo & Oguntimein, 1986).

Dans l'état de Kogi au Nigéria, les racines de LPP-03-2017 sont utilisées comme colorant naturel (jaune) dans les fabriques de coton afin de remplacer les produits chimiques (Abuh, et al., 2016).

### III.3. Phytochimie de LPP-03-2017

#### III.3.1. Composition phytochimique de LPP-03-2017

Le screening phytochimique de feuilles de LPP-03-2017 a permis la caractérisation d'un certain nombre de composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les stérols, les triterpènes, les stéroïdes et les hétérosides cardiotoniques (Tableau I).

**Tableau I : Principaux composés phytochimiques caractérisés à partir de différentes parties de LPP-03-2017 (ANNONACEAE)**

Constituants chimiques	Parties de plante							Références
	Feuilles	Ecorces Tiges	Racines	Graines	Ecorces de tronc	Ecorces racines	Fruits	
<b>Alcaloïdes</b>	+	+	+			+		(Konate, et al., 2012; Okoye, et al., 2013; Okoye, et al., 2010; Okoli, et al., 2010; Suleiman, et al., 2014; Agaba, et al., 2015; Johnson & Olatoye, 2012)
<b>Flavonoïdes</b>	+	+	+		+	+		(Ouattara, 2005; Tijjani, et al., 2013; Konate, et al., 2012; Okoye, et al., 2013; Okoye, et al., 2010; Okoli, et al., 2010; Suleiman, et al., 2008; Yeo, et al., 2011; Suleiman, et al., 2014; Agaba, et al., 2015)
<b>Saponosides</b>	+	+	+		+	+		(Ouattara, 2005; Tijjani, et al., 2013; Okoye, et al., 2010; Okoli, et al., 2010; Suleiman, et al., 2008; Suleiman, et al., 2014; Agaba, et al., 2015)
<b>Tanins</b>	+	+	+		+	+		(Ouattara, 2005; Tijjani, et al., 2013; Okoye, et al., 2010; Okoli, et al., 2010; Suleiman, et al., 2008; Yeo, et al., 2011; Suleiman, et al., 2014; Agaba, et al., 2015; Johnson & Olatoye, 2012)
<b>Stérols/triterpènes</b>	+	+			+	+		(Ouattara, 2005; Tijjani, et al., 2013; Konate, et al., 2012; Okoye, et al., 2013; Okoye, et al., 2010; Okoli, et al., 2010; Suleiman, et al., 2008; Yeo, et al., 2011; Suleiman, et al., 2014; Johnson & Olatoye, 2012)
<b>Stéroïdes</b>	+	+			+			(Ouattara, 2005; Okoli, et al., 2010; Johnson & Olatoye, 2012; Mahmoud, et al., 2015)
<b>Hétérosides cardiotoniques</b>	+	+			+			(Ouattara, 2005; Tijjani, et al., 2013; Mahmoud, et al., 2015)

### III.3.2. Molécules isolées de LPP-03-2017

Des diterpènes kaurane-16 $\alpha$ -ol, acide kaur-16-ene-19-oïque, acide kauran-19-al-17-oïque, et acide 19-norkauran-4 $\alpha$ -ol-17-oïque ont été isolés de l'extrait à l'éther de pétrole d'écorce de LPP-03-2017 (Eshiet, et al., 1971; Adesogan & Durodola, 1976). C'est le cas de l'écorce de racines qui contient l'acide kaurenoïque (Okoye, et al., 2014; Okoye, et al., 2012; Okoye, et al., 2013).

De même, le fractionnement bioguidé a permis d'isoler des extraits de l'écorce de tronc de LPP-03-2017 quatre ent-kaurenoides avec une activité cytotoxique sélective sur les cellules cancéreuses du sein et de la prostate (Fatope, et al., 1996).

Les feuilles contiennent de la rutine, de la quercétine et de la querectrine (Kerharo & Adams, 1974).

Le fractionnement bioguidé des extraits à travers l'essai contre *Artemia salina* a permis d'isoler des acétogénines (Sahpaz, et al., 1994). Deux acétogénines monotétrahydrofuraniques cytotoxiques (Annosenegaline et Annogalène) ont été isolées à partir de l'extrait méthanolique de LPP-03-2017 (Sahpaz, et al., 1996). A partir de l'extrait chlorométhylénique des racines de LPP-03-2017, la structure de cinq acétogénines a pu être établie appartenant au types A-1b (acétogénines mono-THF à  $\gamma$ -méthyl- $\gamma$ -lactone  $\alpha,\beta$ -insaturée, hydroxylée en 4), B-1a (acétogénines bis-THF adjacents à  $\gamma$ -méthyl- $\gamma$ -lactone  $\alpha,\beta$ -insaturée, hydroxylée en 4) (Fall, et al., 2003).

Des cyclopeptides à activité cytotoxique ont été décrits dans les graines de LPP-03-2017, pour les cyclosénégalines A, B, C et D (Wélé, et al., 2002).

A partir des feuilles de LPP-03-2017, ont été isolés des alcaloïdes de type aporphinique (liriodénine, isoboldine et anonaine) (Philipov, et al., 1995). D'autres alcaloïdes ont également été mis en évidence à partir des feuilles, la (-)-roemerine, la (-)-N-méthylanonaine et l'isocorydine (You, et al., 1995).

### **III.4. Propriétés pharmacologiques de LPP-03-2017**

#### **III.4.1. Activité anti-diarrhéique**

L'extrait méthanolique d'écorces de tige à 10 mg/kg réduit de façon significative le temps de transit intestinal. L'extrait agirait comme un antagoniste bloquant l'effet des neurotransmetteurs (Acétylcholine, histamine) via la prévention de la libération de  $Ca^{2+}$  par les vésicules de stockage et donc son entrée dans les cellules, atténuant ainsi la contraction spontanée des muscles lisses intestinaux (Suleiman, et al., 2008).

#### **III.4.2. Activité anti-convulsivante**

Les extraits et fractions méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 possèdent des propriétés neuropharmacologiques anticonvulsivante, dépressive centrale et anxiolytique chez le rongeur qui seraient dues aux flavonoïdes (Okoli, et al., 2010).

L'extrait méthanolique d'écorces de racines à la dose de 200 mg/kg inhiberait les convulsions induites par Pentylentétrazole par un mécanisme similaire à celui du diazépam c'est-à-dire par une augmentation de l'effet inhibiteur du récepteur GABA-A couplé aux canaux  $Cl^-$  au niveau du SNC. Il est également sédatif et relaxant musculaire (Okoye, et al., 2010). Cette activité anticonvulsivante serait due à un diterpène, l'acide kaurenoïque, isolé de l'écorce de racines de LPP-03-2017 (Okoye, et al., 2013).

D'autres travaux ont également montré que l'extrait aqueux d'écorces de racines prévient les convulsions induites par la Pilocarpine en retardant de façon significative le début d'apparition des crises. Les mécanismes impliqués pourraient être liés à une augmentation de l'effet inhibiteur GABA-A couplé aux canaux  $Cl^-$ , à l'altération de l'expression des canaux  $Na^+/K^+$  ATPase, ou à l'inhibition de l'expression de la NO-synthase inductible (NOSi) (Konate, et al., 2012).



### III.4.3. Activité anti-infectieuse

#### III.4.3.1. Activité antibactérienne

Des travaux ont montré que l'extrait méthanolique des écorces de racines de LPP-03-2017 possède une puissante activité antimicrobienne sur *Staphylococcus aureus* avec une concentration minimale inhibitrice faible de 62,5 mg/mL (Apak & Olila, 2006).

L'Acide Kaurenoïque, diterpène isolé de l'écorce de racines de LPP-03-2017 possède une activité antibactérienne sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Okoye, et al., 2012).

Il a été également montré que la fraction à l'éther diéthylique de l'extrait méthanolique d'écorces de tige de LPP-03-2017 est active sur *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* et *Shigella dysenteriae* (Awa, et al., 2012).

De même, il a été montré que les extraits aqueux et éthanolique de feuilles de LPP-03-2017 étaient actifs sur *Shigella flexneri* et *Pseudomonas aeruginosa* responsables respectivement de la dysenterie et des infections opportunistes des voies urinaire, respiratoire et gastro-intestinale chez l'homme (Johnson & Olatoye, 2012).

Les extraits aqueux et surtout éthanolique de feuilles de LPP-03-2017 ont montré une activité antibactérienne sur *Streptococcus pneumoniae* (Traoré, et al., 2012).

Les tanins bruts isolés de l'extrait aqueux de feuilles de LPP-03-2017 ont montré une forte activité antibactérienne contre *Shigella dysenteriae* et une activité modérée contre *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* (Mahmoud, et al., 2014).

Les flavonoïdes issus de l'extrait méthanolique brut d'écorces de tige de LPP-03-2017 présentent une activité antibactérienne sur *Shigella specie*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhi* (Mahmoud, et al., 2015).

**III.4.3.2.      Activité antifongique**

Les extraits aqueux et surtout éthanolique de feuilles de LPP-03-2017 ont également montré une activité antifongique sur *Aspergillus fumigatus* (Traoré, et al., 2012).

**III.4.3.3.      Activité antiparasitaire**

L'extrait aqueux de feuilles de LPP-03-2017 à la dose de 200 mg/Kg administré à des souris infectées par *Trypanosoma brucei brucei* permet d'éliminer totalement ces derniers du sang et du liquide cérébro-spinal des souris en 3 jours de traitement (Ogbadoyi, et al., 2007).

L'extrait méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 réduit de façon dépendante de la dose (100 - 800 mg/kg) la parasitémie chez la souris albinos infectée par *Plasmodium Berghe* (Ajaiyeoba, et al., 2006). En outre, des études histopathologiques ont montré que l'extrait méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 associé à celui de feuilles et d'écorces de racines d'*Alstonia boonei* protège le foie, à l'image de la chloroquine, contre la destruction des hépatocytes et la nécrose sévère causées par la malaria induite par *Plasmodium Berghei* chez la souris albinos (Onwusonye, et al., 2014). Cependant, d'autres travaux font état d'une activité antiplasmodiale modérée *in vitro* et faible *in vivo* de l'extrait méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 sur *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium yoelii subsp nigeriensis* (Ngbolua, et al., 2014).

L'extrait aqueux d'écorces de tige de LPP-03-2017 possède une activité antihelminthique, inhibe de façon significative l'éclosion des œufs et la libération des larves de *Haemonchus contortus*, un nématode pathogène des ruminants (Alawa, et al., 2003).

L'extrait méthanolique de racines de LPP-03-2017 a montré une activité antiparasitaire sur des souches de *Plasmodium falciparum* résistantes à la chloroquine (Fall, et al., 2003).

La squamocine, acétogénine isolée de l'extrait chlorométhylénique de racines de LPP-03-2017 est un antihelminthique actif sur *Rhabditis pseudoelongata* (Fall, et al., 2007).

#### **III.4.4. Activité antioxydante**

Les dommages oxydatifs hépatocellulaires induits par le CCl<sub>4</sub> chez le rat, sont atténués par l'extrait aqueux de feuilles de LPP-03-2017 qui piège les radicaux libres. Cette activité antioxydante serait due à la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes et de proanthocyanidines. L'extrait aqueux possède également la capacité d'induire la synthèse de *novo* de certaines enzymes de détoxification des drogues telles la glutathion S-transférase, la quinone oxydoréductase (NADH) et l'Uridyl diphosphoglucuronyl transférase (Ajboye, et al., 2010).

Potchoo et al. (2008), avaient mis en évidence l'activité antioxydante d'extraits hydrométhanolique et acétate d'éthyle de feuilles de LPP-03-2017 provenant d'écosystèmes différents, du Togo et du Burkina Faso. L'activité inhibitrice des radicaux libres, plus importante pour les extraits de feuilles provenant du Burkina Faso, serait due à la présence de composés polyphénoliques notamment les flavonoïdes (Potchoo, et al., 2008).

#### **III.4.5. Activité antivenimeuse**

L'extrait méthanolique des écorces de racines de LPP-03-2017 réduit la mortalité des rats intoxiqués par le venin du cobra *Naja nigricotlis nigricotlis*. Il inhibe également de façon significative le début et la sévérité des signes neurotoxiques induits par le venin et restaure les fonctions biochimiques du foie (Adzu, et al., 2005).

La fraction méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 inhibe complètement l'hémorragie induite par le venin de *Echis ocellatus*, serpent de la famille des viperidae (Emmanuel, et al., 2014) qui provoque le plus de mortalité par morsure de serpent au Sénégal (Trape, et al., 2001).

#### III.4.6. Activité cytotoxique

Des tests effectués sur des cellules ovariennes humaines cancéreuses A2780 ont montré que l'extrait méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 possédait une faible activité cytotoxique sur ces dernières avec une  $CI_{50}$  de 28,8  $\mu\text{g/mL}$  (Ajaiyeoba, et al., 2006).

L'huile essentielle provenant de feuilles de LPP-03-2017 a montré une activité cytotoxique modérée chez l'artémie (*Artemia nauplii*), crustacé des lacs salés avec un concentration létale 50 % de 27,3  $\mu\text{g/mL}$ . Cette activité cytotoxique à été confirmée chez les lignées cellulaires cancéreuses A549 (carcinome de poumon humain), HT29 (adénocarcinome de colon humain), MCF7 (adénocarcinome de sein humain), RPMI (mélanome malin) et U251 (glioblastome multiforme) (Ahmed, et al., 2010).

L'acide kaurenoïque, diterpène isolé de l'écorce de racines de LPP-03-2017 présente une activité cytotoxique contre les lignées cellulaires cancéreuses pancréatique (PANC-1), cervicale (HeLa) avec une  $CI_{50}$  de 0,74 mol/L et 0,52 mol/L respectivement. L'activité antiproliférative est plus importante contre les cellules PANC-1 que les cellules HeLa (Okoye, et al., 2014).

L'extrait éthanolique de feuilles de LPP-03-2017 possède une activité cytotoxique sur les lignées cellulaires leucémiques P-388 avec une  $CI_{50}$  de 8,74  $\mu\text{g/mL}$  (Ngbolua, et al., 2014).

#### III.4.7. Activité insecticide

Les fractions acétate et méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 ont montré une activité ovicide et adulticide sur *Caryedon serratus* Olivier, coléoptère déprédateur de l'arachide communément appelé la bruche de l'arachide (Gueye, 2000). La fraction acétate élimine la totalité des œufs (100 %) avec une concentration de 0,1 g/mL, tandis que la fraction méthanolique élimine 33 % des œufs avec une concentration de 0,01 g/mL. Pour les insectes adultes, les fractions méthanoliques, à

forte concentration (0,1 g/mL) et acétates à faible concentration (0,001 g/mL) éliminent après 72 heures, 94 % des insectes (Gueye, et al., 2011).

Les fractions n-hexanique et chloroformique issues de l'extrait méthanolique de feuilles de LPP-03-2017 ont montré une activité larvicide sur *Aedes aegypti*, vecteur redoutable de la fièvre de la dengue, de la fièvre jaune et du chikungunya dans les régions tropicales (WHO, 2014) . Les concentrations létales 50 % sont respectivement de 379,3 mg/L et 595,2 mg/L (Lame, et al., 2014).

L'extrait éthanolique de feuilles de LPP-03-2017 a montré une action protectrice contre les agents fongiques pathogènes des graines de sorgho, de tomate et de gombo sélectionnées. En effet, ce extrait favorise une bonne germination des graines avec une meilleure activité pour le sorgho entre 71 et 93,36 % (Nwogwugwu, et al., 2015).

La poudre de feuilles et de racines de LPP-03-2017 possèdent dans sa composition phytochimique des groupements chimiques réputés pour leur activité nématocide (Agaba, et al., 2015).

#### **III.4.8. Activité anti-nociceptive**

L'activité antinociceptive a été montrée sur des modèles de douleur chez la souris. L'extrait méthanolique d'écorces de racines et de tige de LPP-03-2017 inhibe les contorsions abdominales induites par l'acide acétique, augmente le temps de réaction au stimulus thermique, mais aussi, la douleur induite par le formol en phase retard, suggérant une action périphérique de l'extrait (Adzu, et al., 2003; Suleiman, et al., 2014).

#### **III.4.9. Activité anti-inflammatoire**

Sur un modèle inflammatoire d'œdème de la patte de rat induit par l'albumine de l'œuf, l'extrait méthanolique d'écorces de racines de LPP-03-2017 prévient l'œdème de façon dépendante à la dose (Adzu, et al., 2003). L'extrait méthanolique

d'écorces de tige inhiberait également de façon dépendante à la dose l'œdème de la patte de rat induit par l'albumine. Aussi, la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris est inhibée (Suleiman, et al., 2014). Ces travaux montrent ainsi l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques d'écorces de racines et de tige de LPP-03-2017.

L'extrait éthanolique de feuilles de LPP-03-2017 diminue de manière significative la phase cellulaire de l'inflammation via une diminution du nombre de cellules inflammatoires. Cette activité pourrait s'expliquer par la présence de tanins et de composés phénoliques dans l'extrait éthanolique (Yeo, et al., 2011).

#### **III.4.10. Action sur la fertilité**

L'extrait aqueux de feuilles de LPP-03-2017 présenterait une activité sur la spermatogenèse des rats albinos mâles. Cette activité passerait par une augmentation significative du poids des organes reproducteurs (testicules et épидидyme) mais également, par l'augmentation significative de la concentration de spermatozoïdes à forte dose (300 et 500 mg/kg) (Michael, et al., 2014). Cependant d'autres travaux ont conclu que l'extrait aqueux de feuilles de LPP-03-2017 pourrait provoquer chez les rats albinos mâles une altération de certains paramètres des fonctions biochimiques et testiculaires de façon dépendante à la dose (Nwonuma, et al., 2015).

### **III.5. Toxicologie**

Des doses d'extraits et de fractions de LPP-03-2017 variant jusqu'à 5000 mg/kg n'ont montré aucun effet toxique. En effet, des tests de toxicité aiguë et subaiguë effectués sur des extraits (Eau, Méthanol-Chlorure de méthylène) et fractions (hexanique, acétate d'éthyl et méthanolique) d'écorces de racines de LPP-03-2017 chez le rat wistar n'a pas montré d'effets toxiques (Okoye, et al., 2012; Okoye, et al., 2010; Konate, et al., 2012). C'est le cas également pour les tests de toxicité aiguë d'extrait méthanolique de feuilles chez la souris albinos (Onwusonye, et al., 2014) et d'extrait méthanolique d'écorces de tige (Suleiman, et al., 2008).

Aussi, l'extrait méthanolique de carpelles séchées de LPP-03-2017 n'a pas montré d'effet toxique lors des tests de toxicité aiguë (Rukayyah & Onyinyechi, 2016).

Cette revue sur de LPP-03-2017 montre que cette plante est très utilisée en médecine traditionnelle, dans le traitement de diverses pathologies. Des travaux réalisés par différentes équipes de recherche ont apporté la preuve scientifique de l'emploi des parties de LPP-03-2017 en médecine traditionnelle.

C'est dans cette mouvance que s'inscrit cette étude dont l'objectif était de contribuer à la valorisation scientifique des ressources de la pharmacopée traditionnelle sénégalaise, à travers l'étude du mécanisme d'action anti-inflammatoire et analgésique d'extraits de feuilles de LPP-03-2017.

**DEUXIEME PARTIE**

**ETUDES EXPERIMENTALES**



## Matériels et méthodes

## Matériels

### **I.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles fraîches de LPP-03-2017 récoltées au kilomètre 50 sur la route de Pout (Sénégal) en période de floraison (Mai). L'identification des feuilles a été réalisée au Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la FMPO de l'UCAD. Les feuilles ont été ensuite séchées au laboratoire à l'ombre, à température ambiante, pendant 4 semaines, avant d'être réduites en poudre, à l'aide d'un broyeur électrique muni d'un tamis de calibre moyen. Cela a permis l'obtention d'une poudre.

### **I.2. Matériel animal**

Le matériel animal est constitué de :

- rats de souche Wistar, de poids compris entre 137-221 g (**Figure 33 a**). Ces animaux sont issus de l'élevage de l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie de la FMPO ;
- souris de souche Albinos de poids moyen de 27 g (**Figure 33 b**). Les souris proviennent de l'animalerie de l'Institut Pasteur de Dakar.

### **I.3. Matériels et réactifs de laboratoire**

#### **I.3.1. Matériels et réactifs d'extraction**

#### **Matériels :**

Le matériel utilisé est constitué de :

- pulvérisateur de type Agrex model B 3m
- balance électronique de précision, type ORMA model bc (poids maximal : 100 g),
- balance monoplateau de type Mettler model 2476 (poids maximal : 2000 g),
- chauffe ballon,
- réfrigérant avec un col de 29/32,

- évaporateur rotatif avec un col de 29/32 (de type Büchi) avec Bain-marie (de type Büchi waterbath B-480) et une pompe à vide (de type Leroy Somer n° 210670)
- ballons de 1000 mL avec un col de 24/29, de 2000 mL avec un col de 29/32,
- étuve de type Memmert,
- tubes à essai et tubes collecteurs,
- plaques chromatographiques en silice et en cellulose,
- ampoule à décanter et entonnoir,
- colonne chromatographique de 1 m de longueur et de 2 cm de diamètre,
- gel de sephadex LH 20,
- éprouvettes (10 et 1000 mL), béchers (100 et 400 mL) et erlenmeyers (250, 1000 et 3 000 mL),
- micropipettes,
- lampe UV de type CAMAG 29200 (254 et 366 nm),
- cuve de migration avec couvercle,
- pince, spatule et poire,
- verres à montre et boîtes de Pétri,
- coton et papier filtre.

### **I.3.2. Matériels et réactifs pour le test d'inhibition de la phospholipase A<sub>2</sub> sécrétée (sPLA<sub>2</sub>)**

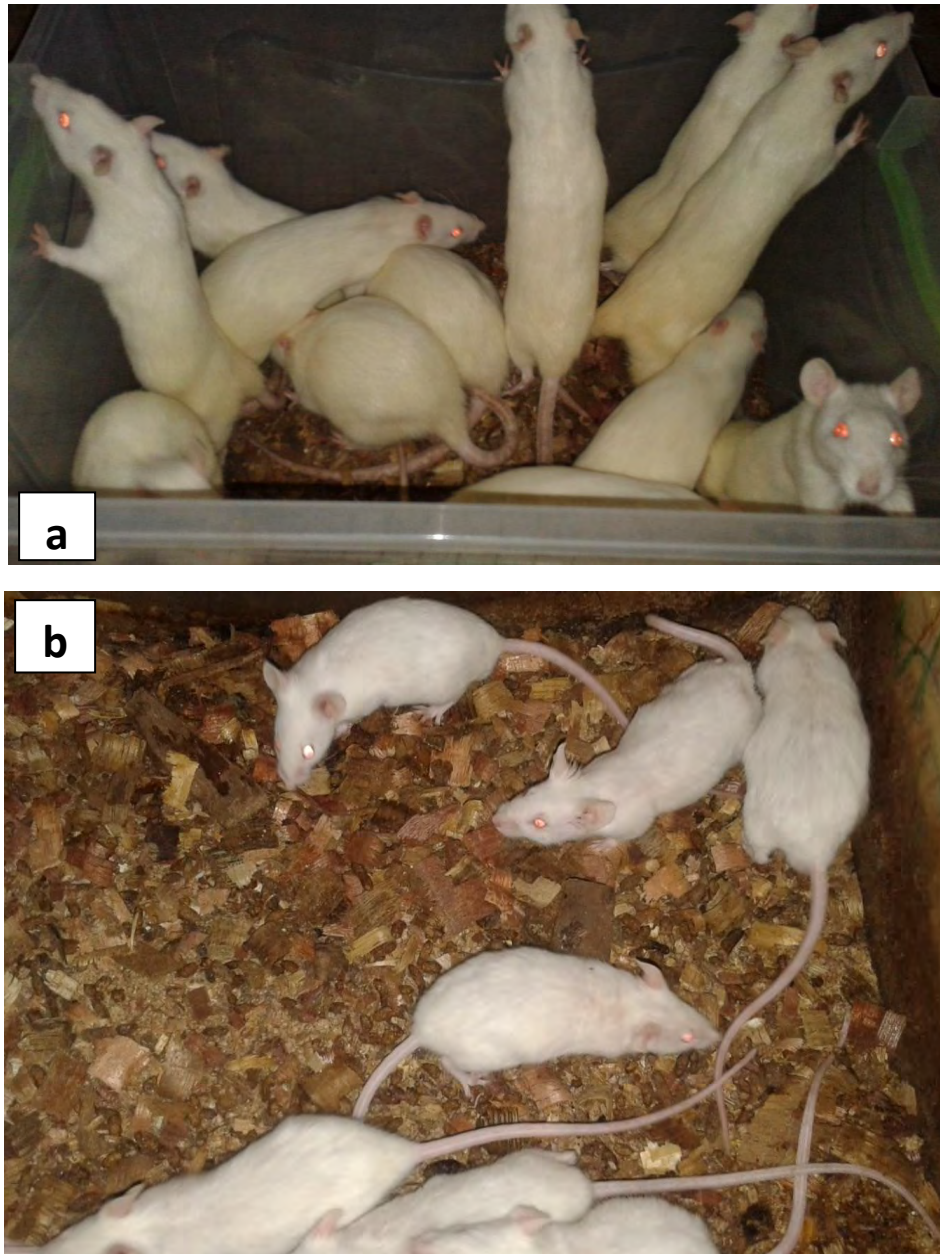
#### **Matériels**

- Micropipettes (P5000 , P1000, P50, P20 et P10)
- Embouts (jaune et bleu)
- Plaque 96 puits (fournie avec le kit)
- Lecteur de plaques pouvant mesurer une absorbance entre 405-420 nm (Stat Fax 2100)

#### **Réactifs**

- Eau ultra pure (HPLC)

- Méthanol HPLC
- Solution Buffer (fournie avec le kit)
- DTNB (fournie avec le kit)
- Substrat Diheptanoyl Thio-PC (fournie avec le kit)
- sPLA<sub>2</sub> humain Type V (fournie avec le kit)



**Figure 33 : Animaux de laboratoire utilisés (a : rats ; b : souris)  
(Photos M. SENE)**

## Méthodes

Les différentes procédures expérimentales utilisées seront détaillées dans cette partie du document. Il s'agit des méthodes de :

- préparation des différents extraits et fractions ;
- caractérisations phytochimiques de ces extraits et fractions ;
- évaluation des activités anti-inflammatoire et analgésique des extraits et fractions.

### **II.1. Préparation des extraits et fractions**

L'extraction et le fractionnement de la poudre de feuilles de LPP-03-2017 a permis l'obtention de différents extrait et fraction :

- E-101
- F-101
- F-102
- F-103
- F-101-1
- F-101-2
- F-101-3
- F-101-4
- F-101-5
- E-102
- F-104
- F-105
- F-104-ST
- E-103
- F-106
- F-107
- F-106-ST

### **II.2. Caractérisation des extraits et fractions par chromatographie sur couche mince (CCM) et sur tube**

- **CCM**

Un échantillon de 10 mg de chaque extrait ou fraction a été dissout dans 1 ml de méthanol. Les dépôts ont été effectués à l'aide de micropipettes sur une

microplaque de gel de silice, à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base, à différents endroits. Les dépôts ont concerné les extraits et différentes fractions ainsi que les différents témoins utilisés. La plaque a été ensuite séchée dans une étuve à une température de pendant 10 secondes, puis introduite dans la cuve chromatographique contenant le solvant de migration. Après migration, la plaque a été retirée de la cuve et séchée dans l'étuve à 100 °C pendant 5 min. La révélation des différents constituants chimiques a été réalisée par pulvérisation de réactifs spécifiques (**Tableau III**). Au besoin, une lampe UV a été utilisée pour identifier la nature des constituants à 366 nm. Les spots ont été repérés et les distances de migration des spots (d) et du solvant (D) ont été mesurées.

**Tableau II : Solvants et témoins de caractérisation de constituants phytochimiques de feuilles de LPP-03-2017 par chromatographie sur couche mince**

Constituants Phytochimiques	Solvants de migration	Témoins	Réactifs de révélation
<b>TANINS</b>	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (40:8:5)	<b>Acide gallique</b>	Chlorure ferrique 2 %
<b>FLAVONOÏDES</b>	Acide acétique à 15 % dans de l'eau	<b>Quercétine</b>	Chlorure aluminium 5 % dans un mélange Eau/Méthanol (1:1)
<b>ALCALOÏDES</b>	Chloroforme/Diéthylamine (45:5)	<b>Cinchonine</b>	Réactif de Dragendorff
<b>STEROLS ET TRITERPENES</b>	Chloroforme/Méthanol/Ammoniac (50:25:6)	<b>Cholestérol</b>	Réactif de Libermann-Buchard

Un échantillon de chaque extrait ou fraction a été prélevé et dissout dans du dichlorométhane puis déposé sur la microplaque de gel de silice comme indiqué précédemment. Il s'agit de l'extrait E-101 et des fractions F-101, F-101-1, F-101-2, F-101-3, F-101-4 et F-101-5. La révélation des différents constituants chimiques a été réalisée par pulvérisation de réactifs spécifiques (**Tableau II**).



- **Caractérisation sur tube des triterpènes et des stérols**

10 mL de solution dichlorométhanique des extraits et fractions ont été évaporés à sec dans une capsule en porcelaine. Le résidu a été ensuite dissous dans 0,5 mL d'anhydride acétique, puis dans 0,5 mL de chloroforme. La solution a été transférée dans un tube à essais et, 1 à 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré ont été déposés délicatement sur le haut du tube à essais à l'aide d'une pipette. Au niveau de la zone de séparation des deux liquides, un anneau rouge brun ou violet se forme. Le liquide supérieur devient gris, bleu verdâtre ou violet en cas de présence de stérols ou de triterpènes.

- **Caractérisation sur tube des triterpènes et des stérols**

La caractérisation sur tube des stérols et triterpènes a concerné les fractions F-104, F-105 et F-106.

### II.3. Etudes pharmacologiques

#### II.3.1. Evaluation *in vivo* des drogues

##### II.3.1.1. Œdème de la patte de rat induit par la carraghénine

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée *in vivo*, par la méthode de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénine (Winter, et al., 1962). Les rats ont été répartis en lots de 5 ; un lot par dose administrée (**Tableau III**). Ils ont été ensuite mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation.

Pour chaque rat, le volume initial ( $V_0$ ) de la patte postérieure gauche a été mesuré à l'aide d'un Pléthysmomètre à eau (APELEX 05-7150, Allinde, Bagneux, France) (**Figure 34**) ou l'épaisseur ( $E_0$ ) avec un pied à coulisses digital (**Figure 35**) avant l'administration des différents traitements par gavage.

Une injection de 100 µL d'une solution de carraghénine à 1 % dans le coussinet plantaire de la patte postérieure gauche du rat a été effectuée 1h après gavage du produit à tester.

Les volumes des pattes injectées ont été mesurés à l'aide d'un Pléthysmomètre à eau ou un pied à coulisses digital **60**, **180** et **300** minutes (**T<sub>1h</sub>**, **T<sub>3h</sub>** et **T<sub>5h</sub>**) après injection de la carraghénine.

L'importance de l'œdème a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (**% AUG**) du volume de la patte de rat suivant la formule :

$$\% \text{ AUG} = \frac{(V_t - V_0)}{V_0} \times 100 \text{ ou } \% \text{ AUG} = \frac{(E_t - E_0)}{E_0} \times 100$$

Avec : **V<sub>t</sub>** : Volume de la patte au temps t ; **V<sub>0</sub>** : Volume initial de la patte

**E<sub>t</sub>** : Epaisseur de la patte au temps t ; **E<sub>0</sub>** : Epaisseur initial de la patte

### **II.3.1.2. Test de douleur à l'acide acétique**

L'activité analgésique a été évaluée *in vivo* chez la souris, avec le modèle de douleur à l'acide acétique (Koster, et al., 1959). Les souris ont été réparties en lots de 5 (**Tableau IV**). Elles ont ensuite été mises à jeun 12 heures avant l'expérimentation. Les différentes solutions ont été administrées par gavage.

Une injection intrapéritonéale d'une solution d'acide acétique à 3 % à la dose de 10 mL/kg a été effectuée une heure après gavage du produit à tester.

La sensibilité à la douleur a été évaluée par le nombre de contorsions décompté pendant 30 min après l'apparition de la première réaction.

Tableau III : Tableau récapitulatif des différents lots et doses utilisés pour l'évaluation *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire

Lots	Solutions à tester	Abréviations	Doses
<b>Contrôle</b>	Sérum salé isotonique (Sérum physiologique)	<b>SSI</b>	10 mL/kg
<b>Références</b>	Acide acétylsalicylique	<b>AAS</b>	10 mg/kg
			30 mg/kg
			100 mg/kg
	Bétaméthasone	<b>Béta</b>	300 µg/kg
			1 mg/kg
			3 mg/kg
<b>Extraits/Fractions de feuilles de LPP-03-2017</b>	Extrait E-101	<b>E-101</b>	30 mg/kg
			100 mg/kg
			300 mg/kg
	Fraction F-101	<b>F-101</b>	1 mg/kg
			3 mg/kg
			10 mg/kg
			30 mg/kg
	Fraction F-102	<b>F-102</b>	10 mg/kg
	Fraction F-103	<b>F-103</b>	1 mg/kg
			3 mg/kg
			10 mg/kg
			30 mg/kg
	Fraction F-101-1	<b>F-101-1</b>	1 mg/kg
	Fraction F-101-2	<b>F-101-2</b>	1 mg/kg
	Fraction F-101-3	<b>F-101-3</b>	1 mg/kg
	Fraction F-101-4	<b>F-101-4</b>	300 µg/kg
			1 mg/kg
			3 mg/kg
	Fraction F-101-5	<b>F-101-5</b>	1 mg/kg
	Fraction F-104	<b>F-104</b>	3 mg/kg
			10 mg/kg
			30 mg/kg
	Fraction F-106	<b>F-106</b>	300 µg/kg
			1 mg/kg
			3 mg/kg
			10 mg/kg
			30 mg/kg
	Fraction F-106-ST	<b>F-106-ST</b>	1 mg/kg
			3 mg/kg
			10 mg/kg



Figure 34 : Pléthysmomètre à eau (APELEX 05-7150)



Figure 35 : Pied à coulisse digital

**Tableau IV : Tableau récapitulatif des différents lots et doses utilisés pour l'évaluation *in vivo* de l'activité analgésique**

<b>Lots</b>	<b>Types</b>	<b>abréviations</b>	<b>Doses</b>
<b>Contrôle</b>	Sérum physiologique	<b>SSI</b>	10 mL/kg
<b>Références</b>	Acide acétylsalicylique	<b>AAS</b>	1 mg/kg
			30 mg/kg
			100 mg/kg
	Bétaméthasone	<b>Béta</b>	300 µg/kg
			1 mg/kg
			3 mg/kg
<b>Fractions</b>	Fraction F-101	<b>F-101</b>	1 mg/kg
			3 mg/kg
			10 mg/kg
	Fraction F-101-4	<b>F-101-4</b>	300 µg/kg
			1 mg/kg
			3 mg/kg
	Fraction F-106	<b>F-106</b>	300 µg/kg
			1 mg/kg
			3 mg/kg
			10 mg/kg
	Fraction F-106-ST	<b>F-106-ST</b>	1 mg/kg
			3 mg/kg
10 mg/kg			

### **II.3.2. Evaluation *in vitro* : Test d'inhibition de la Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)**

#### **Contexte**

La phospholipase A<sub>2</sub> catalyse l'hydrolyse des phospholipides à la position sn-2 donnant un acide gras libre et un lysophospholipide. La libération d'acide arachidonique à partir de phospholipides membranaires par la PLA<sub>2</sub> est considérée comme une étape clé dans le contrôle de la production d'eicosanoïdes dans la cellule. Il a été montré que la sPLA<sub>2</sub> de Type V était impliquée dans la formation d'eicosanoïdes dans des cellules inflammatoires telles que les macrophages et les mastocytes. Aussi la sPLA<sub>2</sub> humaine de Type V peut se lier sur la phosphatidylcholine

(PC) membranaire et hydrolyser les substrats PC beaucoup plus efficacement que la sPLA<sub>2</sub> humaine de Type IIA, ce qui le rend mieux adapté pour agir sur la membrane plasmique externe.

### Principe

Le test d'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> (Type V) des laboratoires Cayman permet le criblage des inhibiteurs de la sPLA<sub>2</sub> de Type V. Le dosage utilise l'analogue 1,2-dithio du diheptanoyl phosphatidylcholine comme substrat. Lors de l'hydrolyse de la liaison thio-ester en position sn-2 par la sPLA<sub>2</sub>, des thiols libres sont détectés en utilisant le DTNB (acide 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoïque)) **Figure 36**.

### Procédure du test

- **Pré-test**

Il s'agit d'abord de la préparation de la solution tampon (3 mL de Buffer concentré qsp 30 mL avec de l'eau ultra pure). Elle a servi à la reconstitution du substrat et à la dilution des inhibiteurs hydrosolubles.

Le DTNB a été ensuite reconstitué puis conservé sur glace à l'abri de la lumière. Le flacon de DTNB a été repris avec 1 mL d'eau ultra pure.

La préparation du substrat diheptanoyl thio-PC a été reconstituée avec 12 mL de solution de Buffer.

Enfin l'enzyme sPLA<sub>2</sub> (Type V) a été préparée en prélevant 20 µL de sPLA<sub>2</sub> auxquels 980 µL de la solution de Buffer reconstituée ont été ajoutés.

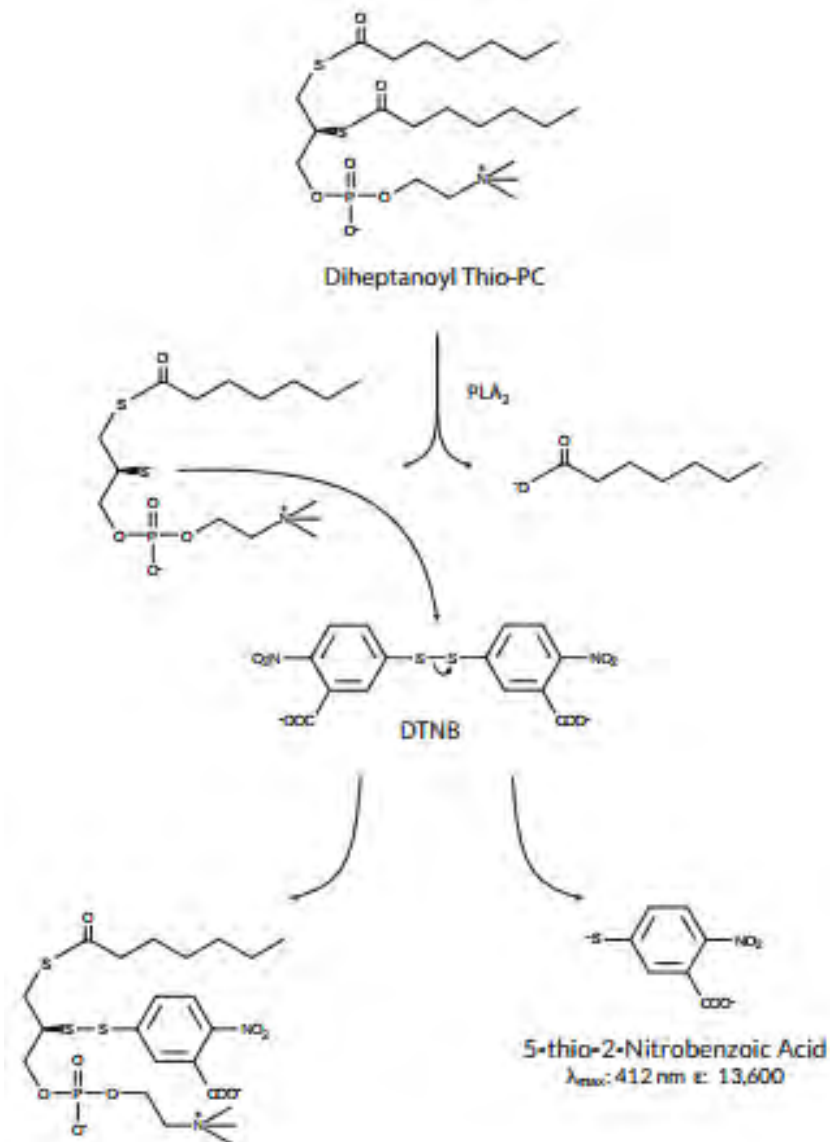
- **Test**

Le dosage a été fait en triple.

Dans les puits avec une activité initiale de 100 %, 10 µL de sPLA<sub>2</sub> reconstituée puis 10 µL de solvant véhicule (méthanol HPLC) ont été ajoutés.

Les puits d'inhibition ont reçu 10 µL de sPLA<sub>2</sub> reconstituée ainsi que 10 µL des différentes solutions à tester et de la référence (**Tableau V**).

Aux puits servant de blanc, 10  $\mu\text{L}$  de la solution de Buffer reconstituée puis 10  $\mu\text{L}$  de solvant véhicule ont été ajoutés.



**Figure 36 : Principe de détermination du pourcentage d'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> (Kit d'inhibition enzymatique de Cayman Chemical)**

La réaction a été ensuite initiée avec 200  $\mu\text{L}$  de solution de substrat (diheptanoyl thio-PC) dans tous les puits utilisés. La microplaque a été remuée pendant 30 secondes, pour bien mélanger le contenu, recouverte puis incubée 15 minutes à 25 °C.

L'addition de 10 µL de DTNB dans tous les puits utilisés a permis ensuite de stopper la réaction. La plaque sera remuée et laissée 1 minute avant la lecture des absorbances à 405 nm.

L'évaluation de l'activité inhibitrice des drogues a été faite par :

- La détermination de la moyenne des différentes absorbances obtenues ;
  - Absorbance activité à 100 % - le blanc = (**Abs A-100%**) ;
  - Absorbance différentes solutions à tester - le blanc = (**Abs solutions testées**).
- Le pourcentage d'inhibition est donné par la formule :

$$\%INH = \frac{(\text{Abs A} - 100\% - \text{Abs solutions testées})}{\text{Abs A} - 100\%} \times 100$$

**Tableau V : Tableau récapitulatif des différents lots et doses utilisés pour l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire**

Lots	Types	Abréviations	Doses
Extraits/Fractions feuilles (LPP-03-2017)	Fraction F-101	<b>F-101</b>	1 µg/Kg
			3 µg/Kg
			10 µg/Kg
			30 µg/Kg
			100 µg/Kg
			300 µg/Kg
	Fraction F-101-4	<b>F-101-4</b>	1 µg/Kg
			3 µg/Kg
			10 µg/Kg
			30 µg/Kg
			100 µg/Kg
			300 µg/Kg



## Résultats

### **III.1. Phytochimie des extraits et fractions de poudre de feuilles de LPP-03-2017**

#### **III.1.1. Caractérisations par CCM de l'extrait E-101, de la fraction F-101 et des fractions F-101-1, F-101-2, F-101-3, F-101-4 et F-101-5**

##### **III.1.1.1. Caractérisation des tanins**

La CCM a mis en évidence la présence de tanins dans la fraction F-101 et dans la fraction F-101-4. Les tanins sont absents dans l'extrait E-101 et dans les fractions F-101-1, F-101-2, F-101-3, et F-101-5 (**Figure 37a**).

##### **III.1.1.2. Caractérisation des alcaloïdes**

Les alcaloïdes n'ont été retrouvés que dans la fraction F-101-5 (**Figure 37b**).

##### **III.1.1.3. Caractérisation des flavonoïdes**

La CCM a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes dans la F-101 ainsi que dans les différentes fractions F-101-1, F-101-2, F-101-3, F-101-4 et F-101-5. Ils n'ont pas été retrouvés dans l'extrait E-101 (**Figure 37c**).

##### **III.1.1.4. Caractérisation des stérols et triterpènes**

Les stérols et les triterpènes ont été retrouvés dans les fractions F-101 et F-101-4. Ils sont absents dans l'extrait E-101 et dans les fractions F-101-1, F-101-2, F-101-3, et F-101-5 (**Figure 37d**).

#### **III.1.2. Caractérisation des fractions F-104 et F-105 de L'extrait E-102 de feuilles de LPP-03-2017**

##### **III.1.2.1. CCM des tanins**

Les résultats obtenus par la CCM ont permis d'identifier la présence de tanins dans les fractions F-104 et F-105 (**Figure 38a**).

##### **III.1.2.2. CCM des alcaloïdes**

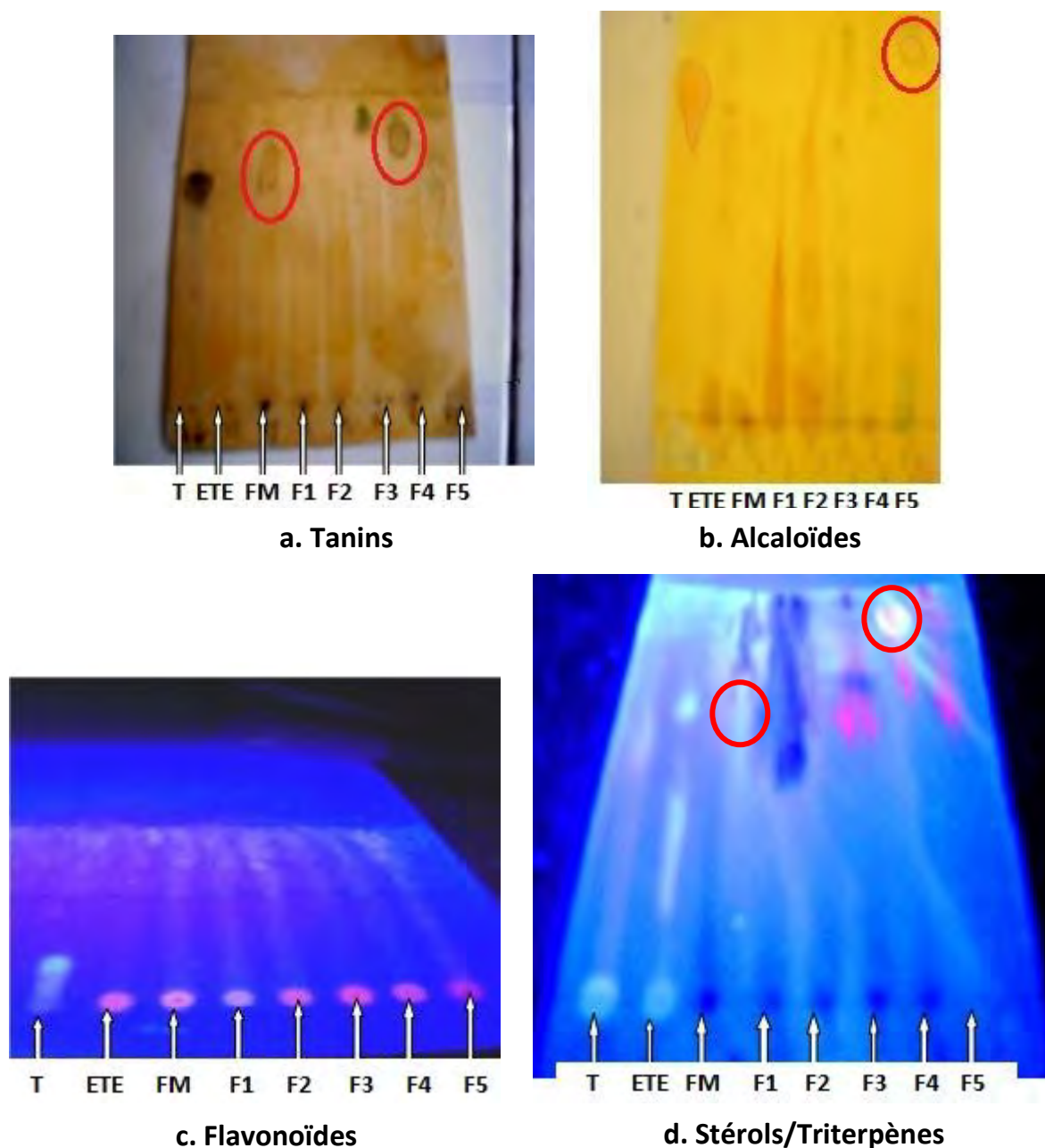
La CCM n'a pas permis la mise en évidence d'alcaloïdes dans les fractions F-104 et F-105 (**Figure 38b**).

##### **III.1.2.3. CCM des flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont été caractérisés dans les fractions F-104 et F-105 (**Figure 38c**).

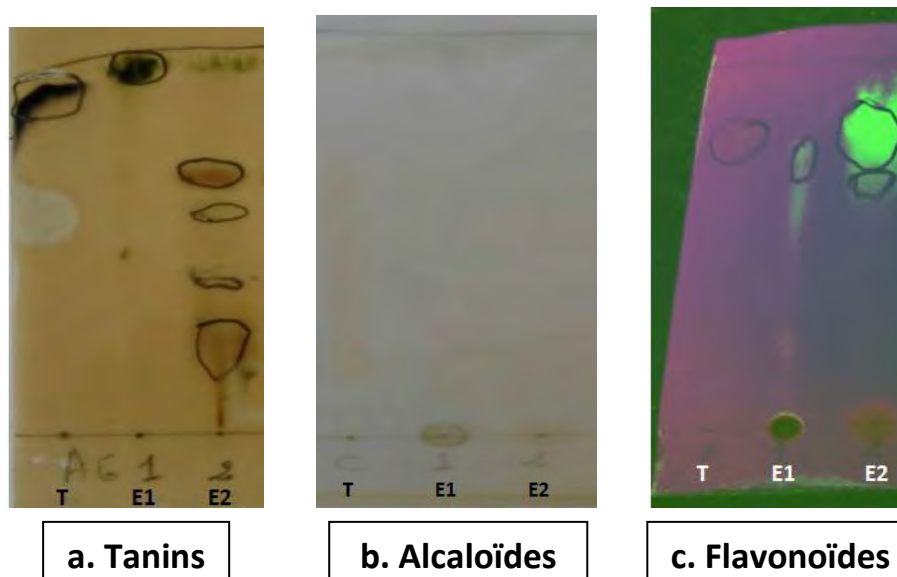
### III.1.2.4. Caractérisation sur tube des stérols et des triterpènes

La caractérisation sur tube à montré la présence de stérols et de triterpènes dans la fraction F-104 (Figure 39).



**Figure 37 : Plaque de CCM des tanins, alcaloïdes, flavonoïdes et stérols/triterpènes des extraits et fractions de feuilles de LPP-03-2017**

T = Témoin (Cf. Tableau III) ; E-101 ; FM= F-101 ; F-101-1= Fraction 1 ; F-101-2= Fraction 2 ; F-101-3= Fraction 3; F-101-4= Fraction 4 et F-101-5= Fraction 5.



**Figure 38 : Plaque de CCM des tanins, des alcaloïdes et des flavonoïdes de la fraction F-104 de l'extrait E-102 de feuilles de LPP-03-2017**

T : Témoins (acide gallique, cinchonine, rutine) ; E1 : F-105 ; E2 : F-104



**a**

**b :**  
Présence de  
stérols/triterpènes



**c :**  
Absence de  
stérols/triterpènes



**Figure 39 : Caractérisation sur tube des stérols et des triterpènes de la fraction F-104 de l'extrait E-102 de feuilles de LPP-03-2017**

a : Solutions des extraits et fractions avant caractérisation  
b : F-104 après caractérisation c : F-105 après caractérisation

### **III.1.3. Caractérisation de la fraction F-106 de feuilles de LPP-03-2017**

#### **III.1.3.1. Caractérisations par CCM de la F-106**

##### **III.1.3.1.1. Caractérisation des tanins**

Les résultats obtenus par la CCM ont permis d'identifier la présence de tanins dans la fraction F-106 (**Figure 40a**).

##### **III.1.3.1.2. Caractérisation des flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont été caractérisés dans les fractions F-106 et F-106-ST (**Figure 40b**).

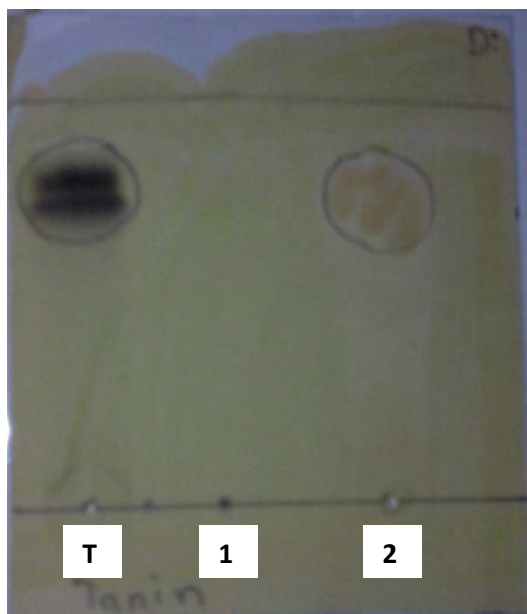
##### **III.1.3.1.3. Caractérisation des alcaloïdes**

La CCM n'a pas mis en évidence d'alcaloïdes dans la F-106 (**Figure 40c**).

#### **III.1.3.2. Caractérisation sur tube des stérols et des triterpènes**

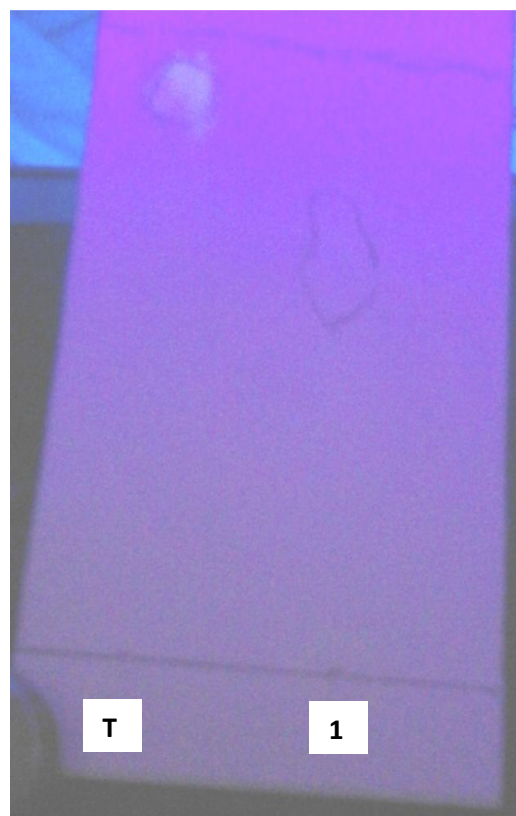
La caractérisation sur tube a montré la présence de stérols et de triterpènes dans la fraction F-106 (**Figure 40d**).

L'ensemble des résultats de la caractérisation phytochimique a été résumé dans le **Tableau VI**.



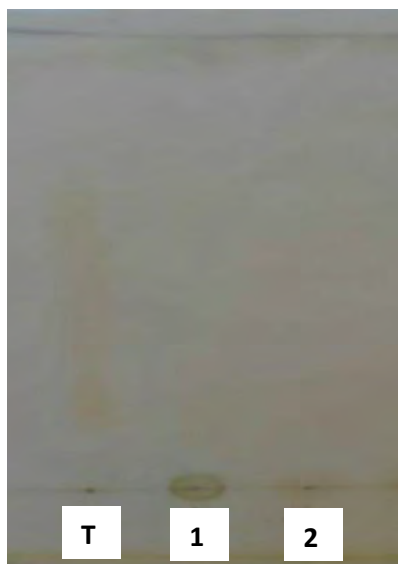
**a. Tanins**

T : Témoins (acide gallique) ;  
 1 : F-106-ST; 2 : F-106



**b. Flavonoïdes**

T : Témoins (Quercétine) ;  
 1 : F-106



**c. Alcaloïdes**

T : Témoins (cinchonine) ;  
 1 : F-106-ST ; 2 : F-106



**d. Stérols/Triterpènes**

**Figure 40 : Caractérisation phytochimique de la fraction F-106**  
 a : Tanins ; b : Flavonoïdes ; c : Alcaloïdes ; d : Stérols/Triterpènes

Tableau VI : Récapitulatif de la caractérisation des différents extraits et fractions de feuilles de LPP-03-2017

		TANINS	ALCALOÏDES	FLAVONOÏDES	STEROLS et TRITERPENES
POUDRE FEUILLES	E-101	-	-	-	-
	F-101	+	-	++	+
	F-101-1	-	-	++	-
	F-101-2	-	-	++	-
	F-101-3	-	-	++	-
	F-101-4	+	-	++	+++
	F-101-5	-	+	++	-
	F-105	+++	-	+	-
	F-104	+++	-	+++	++
	F-106	+	-	+	++
	F-106-ST	-	-	+	++

(-) = Absence ; (+) = Présence

### III.2. Etude *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire et analgésique de feuilles de LPP-03-2017

#### III.2.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles de LPP-03-2017

##### III.2.1.1. Induction de l'œdème inflammatoire de la patte de rat après administration de l'eau physiologique

L'administration de 100 µL d'une solution de carraghénine à 1 % dans le coussinet plantaire de la patte gauche du rat, après gavage à l'eau physiologique, induit un œdème inflammatoire, se traduisant par une augmentation du volume de la patte. Le pourcentage de variations du volume de la patte est de **45,23±10,73** ;

**81,13±12,83 et 103,46±8,95** (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Figure 41, Tableau VII/Annexe**).

### III.2.1.2. Prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine par l'administration de l'acide acétylsalicylique (AAS)

L'AAS, utilisé comme produit de référence, prévient de façon significative le développement de l'œdème inflammatoire suite à l'injection de la carraghénine (**Figure 41**).

Une administration de 1 mg/kg *per os* d'AAS montre une variation de 29,09±10,74 % ; 37,53±9,91 % et 54,73±11,82 % du volume de la patte des rats (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  (**Tableau VIII/Annexe**).

A la dose de 10 mg/kg, l'AAS prévient de façon significative l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine. La variation du volume de la patte est de 6,37±1,25 % ; 19,52±2,66 % et 60,73±10,23 % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$ . Le même profil d'effet est obtenu avec à la dose de 30 mg/kg (**Tableaux IX et X/Annexe**).

A une dose plus élevée, 100 mg/kg *per os* d'AAS, la prévention de l'apparition de l'œdème inflammatoire est plus importante. En effet la variation du volume de la patte de rat n'est plus que de 3,39±0,82 % ; 16,26±5,63 % et 31,91±5,54 % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Tableau XI/Annexe**).

### III.2.1.3. Prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine par l'administration de la bétaméthasone

La bétaméthasone, aux doses de 300 µg/kg, 1 et 3 mg/kg *per os*, prévient de façon significative l'œdème inflammatoire après injection de la carraghénine (**Figure 42**).

En effet, la variation du volume de la patte est de 17,57±2,14 % ; 9,26±2,79 % et 22,62±3,36 % avec la dose de 300 µg/kg. A la dose de 1 mg/kg *per os*, elle est de 18,73±3,60 % ; 17,94±3,29 % ; 23,47±3,99 % et 19,73±3,59 % ; 16,28±2,22 % ;



20,47±4,66 % à la dose de 3 mg/kg, (n=5) respectivement aux temps T<sub>1h</sub>, T<sub>3h</sub>, et T<sub>5h</sub> (Tableaux XII/XIII/XIV/Annexe).

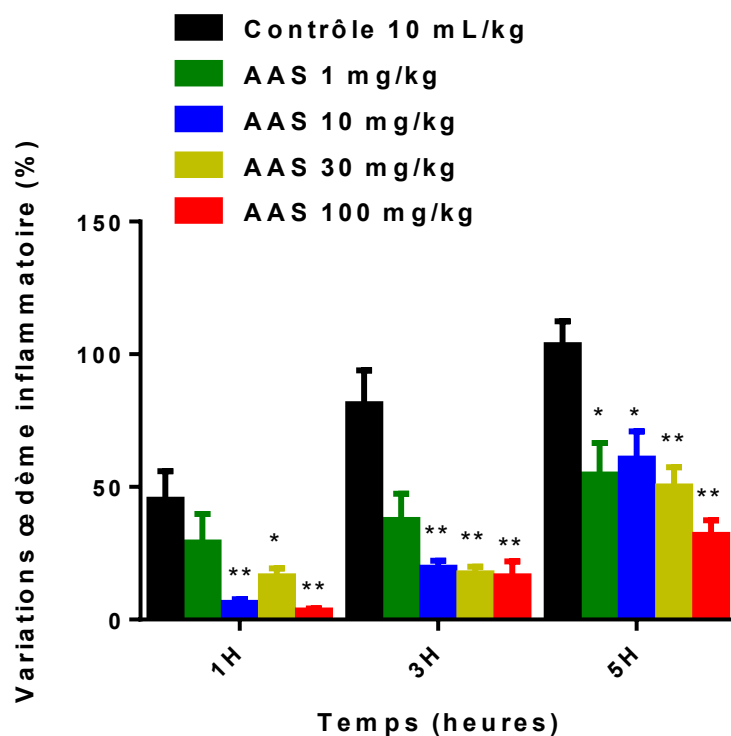


Figure 41 : Effet de l'AAS administré *per os* sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat

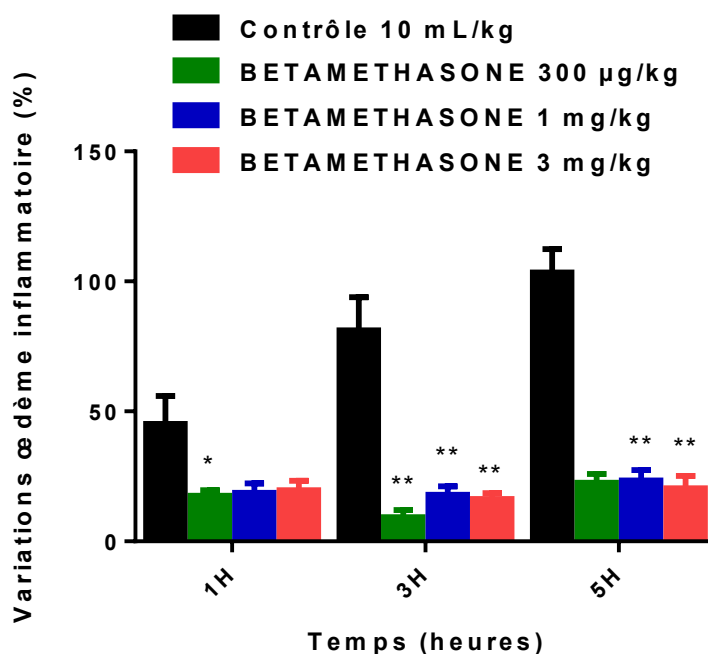


Figure 42 : Effet de la Bétaméthasone administrée *per os* sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat

(\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle ; n=5)

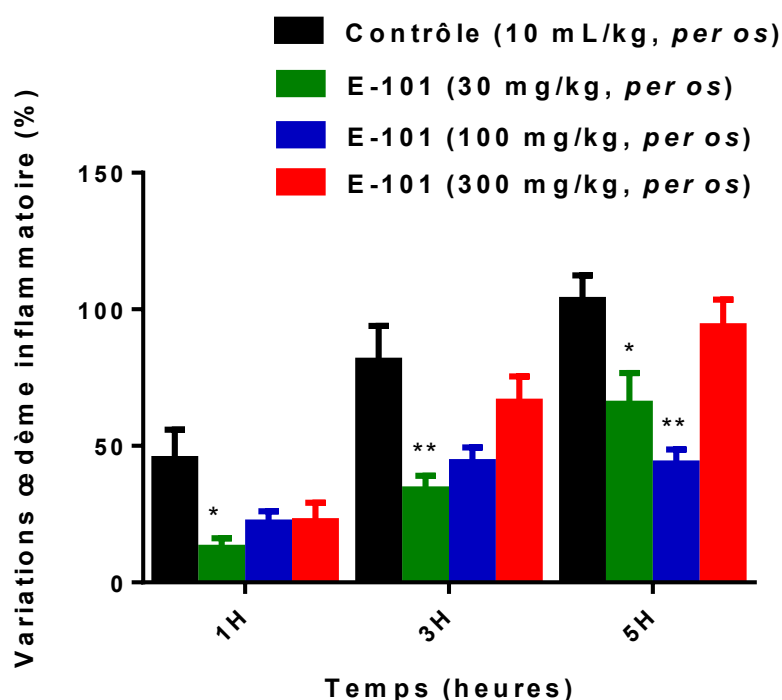
### III.2.1.4. Effet de l'extrait total à l'éther sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

Le E-101 prévient de façon significative l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat (**Figure 43**).

En effet, à la dose de **30 mg/kg *per os***, la variation du volume de la patte est de  $12,66 \pm 3,51$  % ;  $34,04 \pm 5,00$  % et  $65,43 \pm 11,43$  % respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (**Tableau XV/Annexe**).

La meilleure activité de E-101 a été cependant observée à la dose de 100 mg/kg, où le pourcentage de variations de l'œdème est de  **$21,92 \pm 4,08$  %**,  **$44,00 \pm 5,40$  %** et  **$43,57 \pm 5,14$  %** à  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (**Tableau XVI/Annexe**).

Toutefois, à **300 mg/kg, *per os***, la prévention de l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine n'est plus observée surtout dans la phase tardive. En effet, le pourcentage de variations du volume de la patte est de  $22,48 \pm 6,73$  % ;  $66,21 \pm 9,28$  % et  $93,87 \pm 9,63$  % respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (**Tableau XVII/Annexe**).



**Figure 43 : Effet de E-101 de feuilles de LPP-03-2017 administré *per os* sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**  
 (\* $P < 0,05$  versus contrôle, \*\* $P < 0,01$  versus contrôle ;  $n=5$ )

Dans le but de poursuivre la purification, un fractionnement de l'extrait E-101 a été effectué. Cette séparation a permis l'obtention de deux fractions **F-101** et **F-102**, dont les effets ont été évalués sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine.

### III.2.1.5. Effet de la fraction F-101 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

L'administration de la F-101 à la dose de **1 mg/kg per os**, ne prévient pas l'apparition de l'œdème inflammatoire de la patte de rat. En effet, la variation de l'œdème de la patte de rat est de  $40,00 \pm 11,90$  % ;  $81,14 \pm 21,92$  % ;  $88,95 \pm 20,30$  % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  (**Figure 44 ; Tableau XVIII/Annexe**).

A la dose de **3 mg/kg per os**, la F-101 prévient de façon significative l'œdème inflammatoire. La variation du volume de la patte est de  **$4,97 \pm 1,35$  %**,  **$20,11 \pm 3,14$  %**,  **$24,76 \pm 6,23$  %** ; (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après injection de la carraghénine (**Tableau XIX/Annexe**).

Cependant, aux doses plus élevées, **10 et 30 mg/kg per os**, l'activité anti-inflammatoire diminue. En effet, la variation de l'œdème est de  **$22,31 \pm 3,35$  %** ;  **$49,66 \pm 13,50$  %** ;  **$52,10 \pm 10,02$  %** à la dose de 10 mg/kg et  **$26,65 \pm 2,67$  %** ;  **$50,11 \pm 4,21$  %** ;  **$58,06 \pm 4,41$  %** avec la dose de 30 mg/kg (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Figure 44 ; Tableaux XX - XXI/Annexe**).

L'activité de la F-101 dans la prévention de l'œdème inflammatoire ne serait pas dépendante de la dose. La meilleure activité est observée avec la dose de 3 mg/kg (**Figure 44**), avec une efficacité identique à celle de l'acide acétylsalicylique (30 mg/kg) et du E-101 à la dose de 100 mg/kg administrés dans les mêmes conditions (**Figure 45**).

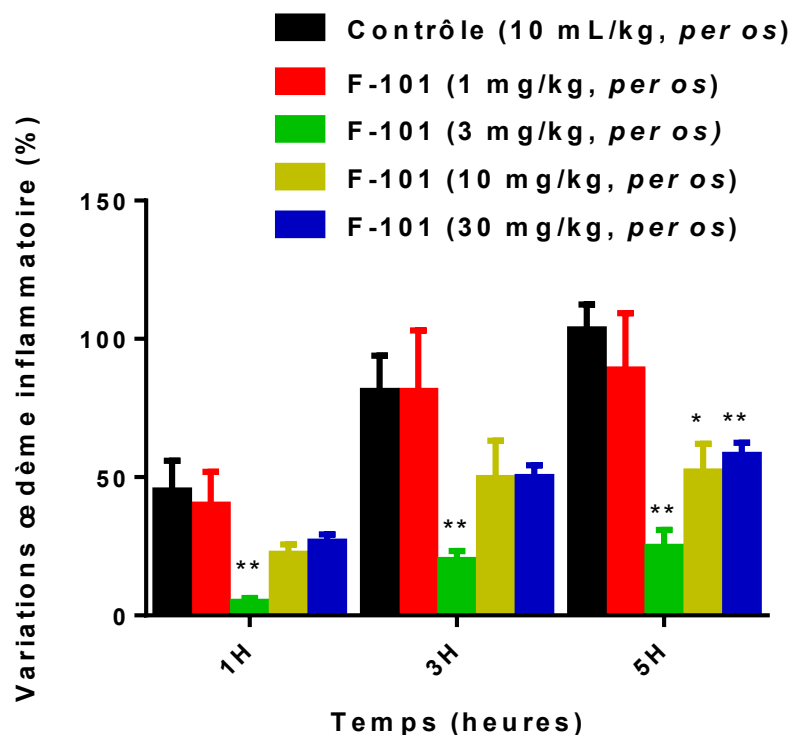


Figure 44 : Effet de la F-101 de l'extrait E-101 des feuilles de LPP-03-2017 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat

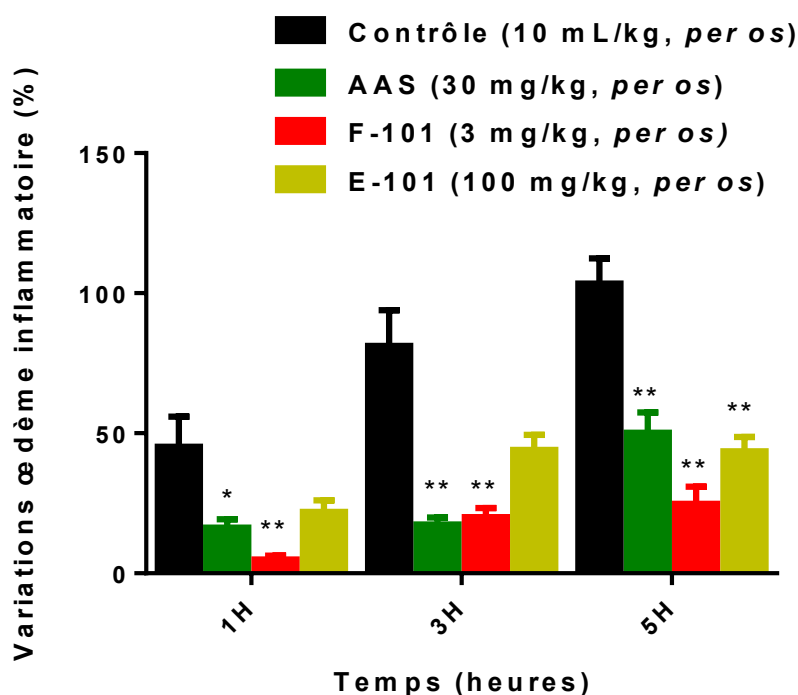


Figure 45 : Comparaison des effets de F-101 (3 mg/kg) de feuilles de LPP-03-2017 à ceux de l'AAS et du E-101 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat (\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle ; n=5)

### III.2.1.6. Effet de la fraction F-102 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

L'administration de 10 mg/kg *per os* de la fraction F-102 de feuilles de LPP-03-2017 ne prévient pas suffisamment l'apparition d'un œdème inflammatoire chez le rat. En effet, la variation du volume de la patte est de  $6,87 \pm 2,28$  % ;  $40,76 \pm 7,81$  % ;  $74,36 \pm 8,79$  % respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Tableau XXII/Annexe**).

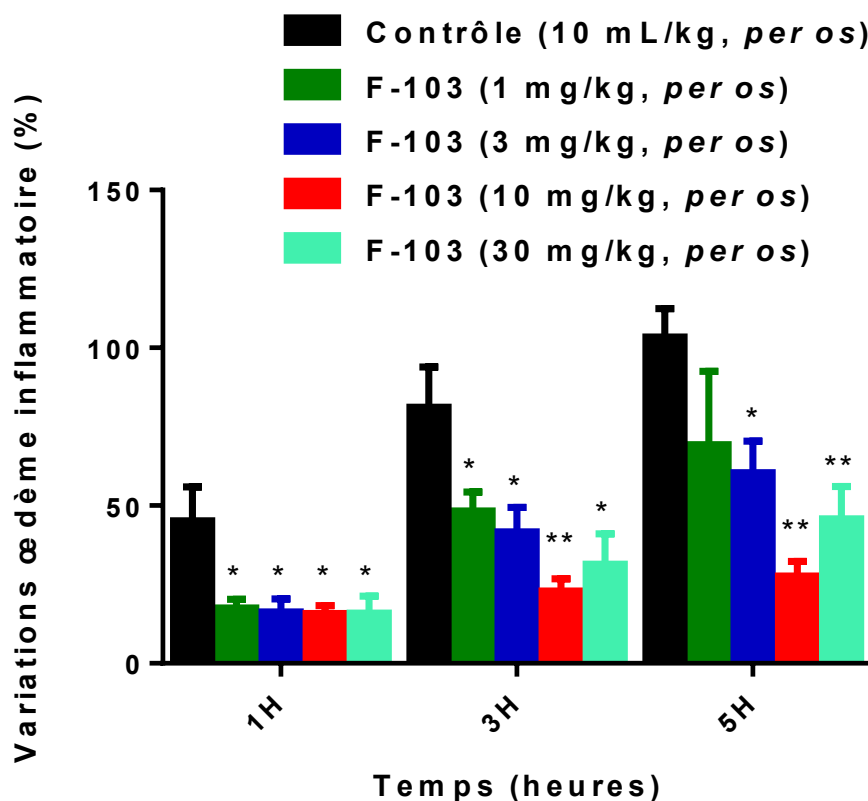
La F-101 provenant de E-101 a ensuite été fractionnée. La **F-103** obtenue a été évaluée.

### III.2.1.7. Effet de la F-103 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

La **F-103** montre une activité dans la prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine chez le rat. Cette action ant-inflammatoire est dépendante de la dose entre 1 et 10 mg/kg (**Figure 46**).

L'administration de la F-103 à la dose de 1 mg/kg s'accompagne en effet d'une variation de l'œdème de la patte de  $17,59 \pm 2,68$  % ;  $48,34 \pm 6,01$  % ;  $69,37 \pm 23,16$  % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ ,  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Figure 46 ; Tableau XXIII/Annexe**). A la dose de 3 mg/kg, la variation de l'œdème est de  $16,35 \pm 4,10$  % ;  $41,67 \pm 7,75$  % ;  $60,42 \pm 9,98$  % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ ,  $T_{5h}$  après injection de la carraghénine (**Tableau XXIV/Annexe**).

Une meilleure activité de la F-103 dans la prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine a été obtenue avec la dose de 10 mg/kg (**Figure 46**). La variation du volume de la patte est de  $15,75 \pm 2,51$  % ;  $22,90 \pm 3,92$  % ;  $27,61 \pm 4,67$  % ; (n=5) aux temps respectifs  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ ,  $T_{5h}$  après injection de la carraghénine (**Tableau XXV/Annexe**).



**Figure 46 : Effet de la fraction F-103 de feuilles de LPP-03-2017 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**  
 (\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle ; n=5)

Une dose de 30 mg/kg de la fraction F-103 ne montre pas une activité anti-inflammatoire dépendante de la dose. La variation de l'œdème est de  $15,89 \pm 5,39$  % ;  $31,41 \pm 9,66$  % ;  $45,79 \pm 10,28$  % ; (n=5) aux temps respectifs  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ ,  $T_{5h}$  après injection de carraghénine (**Tableau XXVI/Annexe**).

Ces résultats ont permis de constater une activité à la fois des fractions F-101 et F-103 sur la prévention de l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine, avec toutefois une plus grande efficacité pour la F-101 à **3 mg/kg** contrairement à la F-103 où la meilleure activité est obtenue à **10 mg/kg**.

Ces observations ont guidé la poursuite des travaux vers la séparation des composés de la F-101 de l'extrait E-101 de poudre feuilles de LPP-03-2017.

Ce fractionnement a donné 5 fractions filles (**F-101-1, F-101-2, F-101-3, F-101-4** et **F-101-5**) qui ont été évaluées sur le modèle de l'œdème à la carraghénine.

### III.2.1.8. Evolution de l'œdème de la patte de rat après administration des fractions filles de la F-101

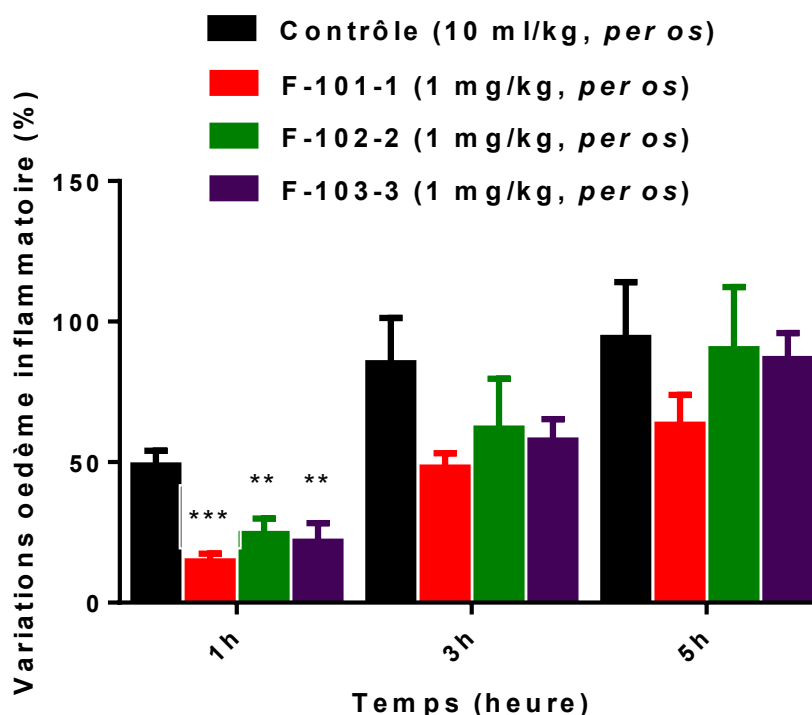
#### III.2.1.8.1. Effet des fractions filles F-101-1 - F-101-2 - F-101-3 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

L'administration préalable de la fraction F-101-1 à la dose de 1 mg/kg *per os* ne prévient pas l'œdème inflammatoire à la carraghénine. En effet, la variation du volume de la patte de rat est de  $15,09 \pm 2,33$  % ;  $48,41 \pm 4,72$  % et  $63,64 \pm 10,26$  % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  (**Tableau XXVII/Annexe**).

De façon identique, l'administration de 1 mg/kg *per os* de la fraction F-101-2 ne prévient pas l'apparition de l'œdème inflammatoire chez le rat. La variation du volume de la patte est de  $24,85 \pm 5,14$  % ;  $62,29 \pm 17,34$  % et  $90,51 \pm 21,79$  % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après injection de carraghénine (**Tableau XXVIII/Annexe**).

A 1 mg/kg *per os*, la fraction F-101-3 n'est également pas efficace dans la prévention de l'apparition de l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. L'augmentation du volume de la patte de rat qui traduit l'existence d'un œdème inflammatoire est de  $22,02 \pm 6,26$  % ;  $58,01 \pm 7,31$  % et  $87,12 \pm 8,81$  % (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  (**Tableau XXIX/Annexe**).

Les fractions filles F-101-1, F-101-2 et F-101-3 ne previennent pas suffisamment l'œdème inflammatoire à la carraghénine chez le rat. Ces résultats montrent l'absence de différence significative avec le groupe contrôle (**Figure 47**).



**Figure 47 : Effet des fractions filles F-101-1, F-101-2 et F-101-3 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**  
 (\*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 ; n=5)

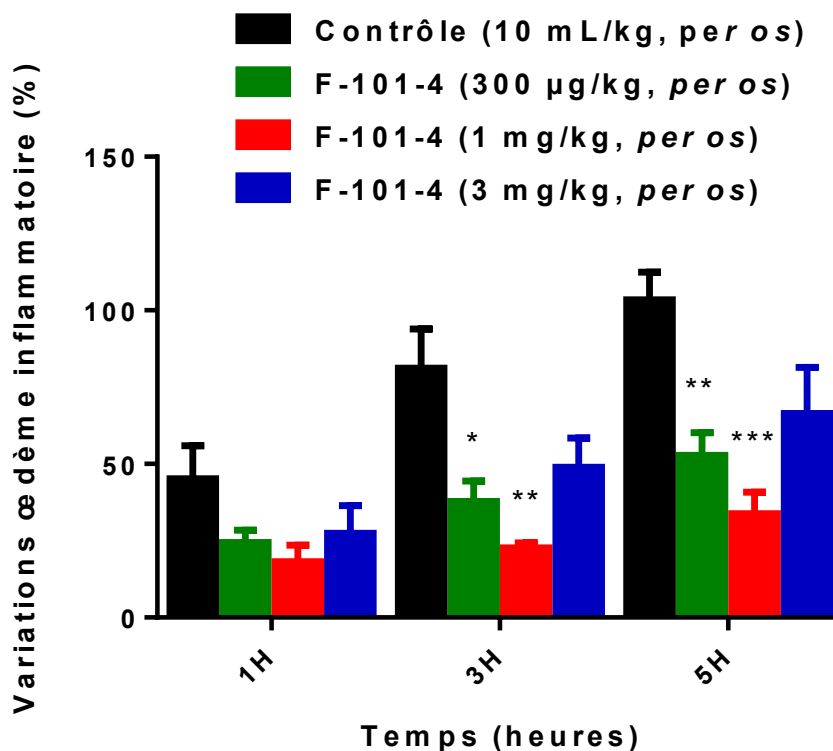
### III.2.1.8.2. Effet de la fraction fille F-101-4 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

La fraction fille F-101-4, après administration *per os*, prévient de façon significative et dépendante de la dose, l'œdème aigu à la carraghénine entre 300 µg/kg et 1 mg/kg (**Figure 48**).

En effet, l'administration de **300 µg/kg per os** de la F-101-4 entraîne une variation du volume de la patte de 24,39±4,07 % ; 37,84±6,61 % et 52,78±7,36 % (n=5) respectivement aux temps T<sub>1h</sub>, T<sub>3h</sub>, et T<sub>5h</sub> après injection de carraghénine (**Tableau XXX/Annexe**).

A la dose de **1 mg/kg per os**, la prévention de l'œdème inflammatoire est **plus efficace** que pour les autres fractions. La variation du volume de la patte est de **18,22±5,32 % ; 22,64±1,67 % et 33,82±6,95 %** (n=5) aux temps respectifs T<sub>1h</sub>, T<sub>3h</sub>, et T<sub>5h</sub> (**Figure 48 ; Tableau XXXI/Annexe**).





**Figure 48 : Effet de la fraction F-101-4 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**

(\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 ; n=5)

En revanche, à **3 mg/kg per os**, la variation de l'œdème est de  $27,48 \pm 8,95$  % ;  $48,88 \pm 9,55$  % et  $66,45 \pm 14,97$  % (n=5) aux temps respectifs  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Tableau XXXII/Annexe**).

Ces résultats illustrent l'efficacité de l'activité anti-inflammatoire de la fraction F-101-4 à des **doses relativement faibles (300 µg/kg ; 1 mg/kg)**. Elle serait environ 100 fois plus efficace que l'acide acétylsalicylique, dans la prévention de l'œdème inflammatoire. Cette activité se rapprocherait de celle de la bétaméthasone administrée dans les mêmes conditions (**Figure 49**). Par contre, à des doses plus élevées, on note une baisse du pouvoir anti-inflammatoire (**Figure 48**).

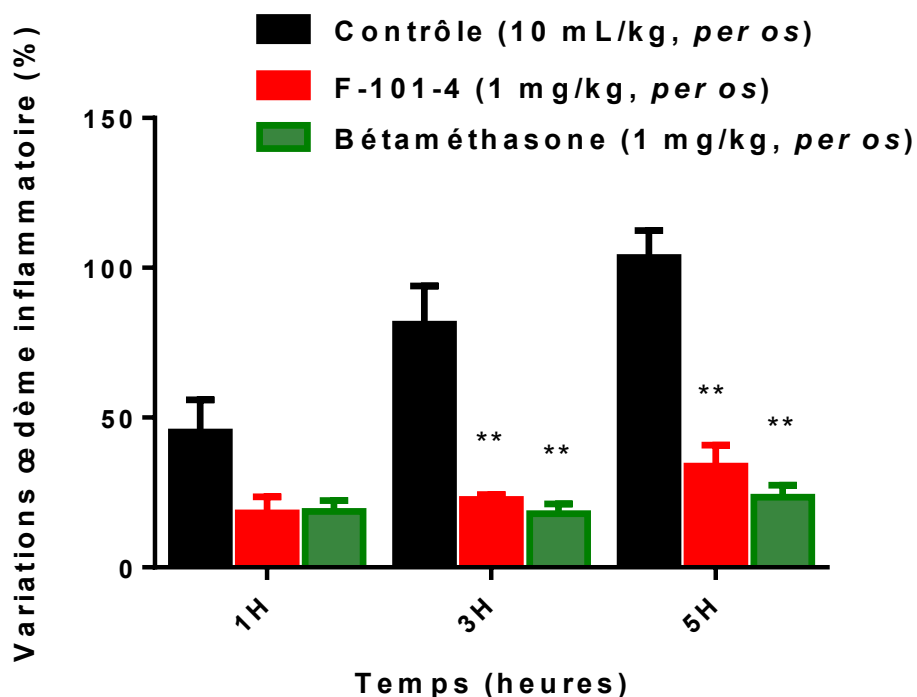


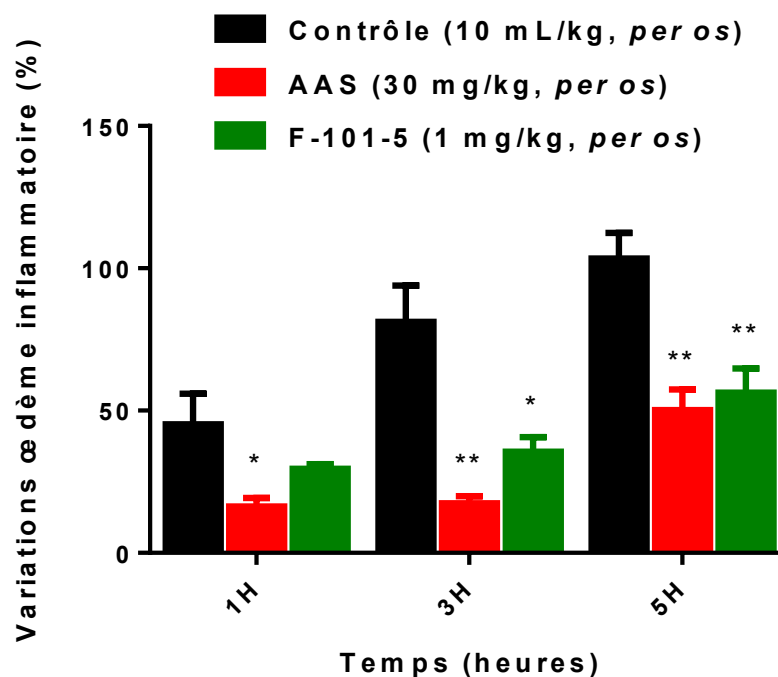
Figure 49 : Effet de la F-101-4 (1 mg/kg) sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat

(\*\*P<0,01 versus contrôle ; n=5)

### III.2.1.8.3. Effet de la fraction F-101-5 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

L'administration de 1 mg/kg *per os* de la fraction fille **F-101-5** de F-101 montre une tendance vers une prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine (Figure 50).

En effet, la variation de l'œdème est de  $29,59 \pm 1,58$  ;  $35,51 \pm 5,11$  et  $56,29 \pm 8,52$  (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$ , et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (Tableau XXXIII/Annexe).



**Figure 50 : Effet de la F-101-5 (1 mg/kg) sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**

(\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle ; n=5)

Ces résultats ont mis en évidence une activité anti-inflammatoire de différents extraits et fractions des feuilles de LPP-03-2017. La purification a permis d'obtenir une fraction fille **F-101-4**, issue de la fraction F-101 de l'extrait E-101, **active** sur le modèle de l'œdème inflammatoire à la carraghénine, à des **doses** relativement **faibles** (**300 µg/kg** et **1 mg/kg**).

Par ailleurs, ces résultats montrent également que sur l'ensemble des extraits et fractions testés, l'augmentation des doses s'accompagne d'une perte ou d'une baisse de l'activité anti-inflammatoire.

Compte tenu de ces observations, l'évaluation de l'activité analgésique de feuilles de LPP-03-2017 a été effectuée uniquement sur les fractions présentant le meilleur effet anti-inflammatoire. Il s'agit notamment de la fraction F-101 de l'extrait E-101 et de la fraction fille F-104-4 de la fraction F-101.

### **III.2.2. Evaluation de l'activité analgésique de feuilles de LPP-03-2017 sur la douleur à l'acide acétique chez la souris**

#### **III.2.2.1. Induction de la douleur après administration de l'eau physiologique**

L'injection intrapéritonéale (IP) d'une solution d'acide acétique à 3 % après gavage avec du sérum physiologique s'accompagne de douleur se traduisant par des contorsions. Chez la souris, le nombre moyen de contorsions est de  $72,60 \pm 7,42$  ( $n=5$ ). Le délai d'apparition des contorsions (temps de latence) est de l'ordre  $6,60 \pm 0,57$  min (**Tableau XXXIV/Annexe**).

#### **III.2.2.2. Prévention de la douleur après administration *per os* de l'acide acétyl salicylique**

L'injection IP d'une solution d'acide acétique à 3 % après gavage à l'AAS (1 mg/kg), prévient l'apparition de contorsions douloureuses. Le nombre moyen de contorsions est de  $47,80 \pm 9,28$  (**Tableau XXXV/Annexe**).

La prévention des contorsions est plus importante après administration de l'AAS aux doses de 30 et 100 mg/kg *per os*. Les moyennes des contorsions sont respectivement de  $45,00 \pm 8,22$  et  $26,80 \pm 5,21$ . Les temps de latence sont de  $6,20 \pm 1,08$  et  $6,60 \pm 0,84$  min (**Tableau XXXVI - XXXVII/Annexe**).

#### **III.2.2.3. Prévention de la douleur après administration *per os* de la bétaméthasone**

A la dose de 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  *per os*, la bétaméthasone prévient de façon significative la douleur induite par l'acide acétique chez la souris. La moyenne des contorsions obtenue est de  $24,80 \pm 5,50$  (**Tableau XXXVIII/Annexe**).

#### **III.2.2.4. Effet de la fraction F-101 sur la prévention de la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

La F-101 du E-101 de feuilles de LPP-03-2017 prévient de façon significative les contorsions induites par l'administration IP de l'acide acétique à 3 % chez la souris.

Cette activité analgésique de la fraction F-101 est dépendante de la dose administrée. En effet, le nombre moyen de contorsions est de  $29,80 \pm 7,74$  et  $17,60 \pm 7,54$ , respectivement aux doses de 1 et 3 mg/kg *per os* (Tableaux XXXIX - XL/Annexe). Cependant, à la dose de 10 mg/kg *per os*, l'activité analgésique de la F-101 diminue. La moyenne des contorsions est de  $37,80 \pm 10,06$  (Tableau XLI/Annexe).

### III.2.2.5. Effet de la fraction F-101-4 sur la prévention de la douleur induite par l'acide acétique chez la souris

La fraction fille F-104-4 prévient également de façon significative l'apparition de contorsions induites par l'administration IP de l'acide acétique à 3 % chez la souris.

A très faible dose, 300 µg/kg *per os*, le nombre de contorsions est de  $21,00 \pm 2,32$ . La moyenne des contorsions est de  $39,00 \pm 5,49$  et  $39,40 \pm 5,72$  respectivement à 1 et 3 mg/kg *per os* (Tableaux XLII - XLIII - XLIV /Annexe).

Les fraction F-101 et F-101-4 ont montré une activité analgésique sur le modèle de la douleur à l'acide acétique chez la souris. Les meilleurs effets ont été observés à faible doses, 3 mg/kg et 300 µg/kg respectivement pour les fractions F-101 (Figure 51) et F-101-4 (Figure 52).

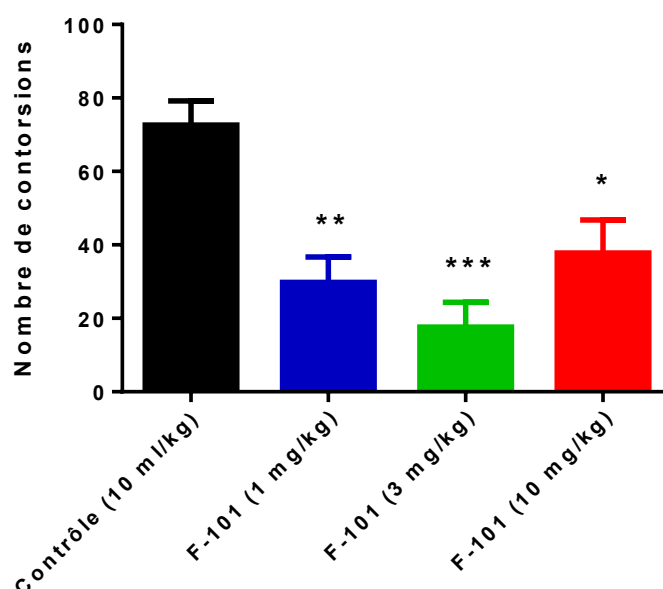
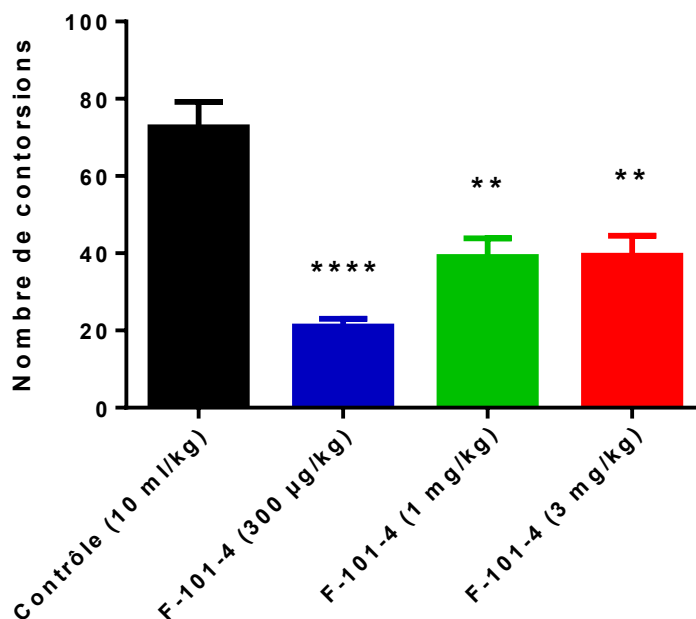


Figure 51 : Effet de la F-101 sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris

(\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 ; n=5 ; per os)



**Figure 52 : Effet de la F-101-4 de la F-101 sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

(\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*\*P<0,0001 versus contrôle versus contrôle ; n=5 ; per os)

Ainsi, à l'image de l'action anti-inflammatoire, l'augmentation de la dose est corrélée à une baisse considérable de l'activité analgésique, mettant en exergue une action biphasique des extraits et fractions.

Des essais pharmacologiques préliminaires de la fraction F-104 du MARC de l'extrait E-101 ont montré une activité anti-inflammatoire, suggérant la présence dans ce MARC de composés résiduels actifs.

### **III.3. Effet de la fraction F-104 de l'extrait E-101 du MARC l'œdème inflammatoire à la carraghénine**

#### **III.3.1. Induction de l'œdème inflammatoire de la patte de rat après administration de l'eau physiologique**

Pour cette partie des travaux, la mesure de l'œdème inflammatoire a été effectuée à l'aide d'un pied à coulisse (Cf. méthodologie II-3-1-1 ; page 170).

L'administration de 100 µL d'une solution de carraghénine à 1 % dans le coussinet plantaire de la patte gauche du rat, induit un œdème inflammatoire, se traduisant par une augmentation du volume de la patte. Le pourcentage de variations du volume de la patte est de  $34,39 \pm 8,81$  ;  $67,77 \pm 6,79$  et  $92,72 \pm 6,05$  (n=5) respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  après administration de la carraghénine (**Tableau XLV/Annexe**).

### III.3.2. Prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine après administration de l'acide acétylsalicylique (AAS)

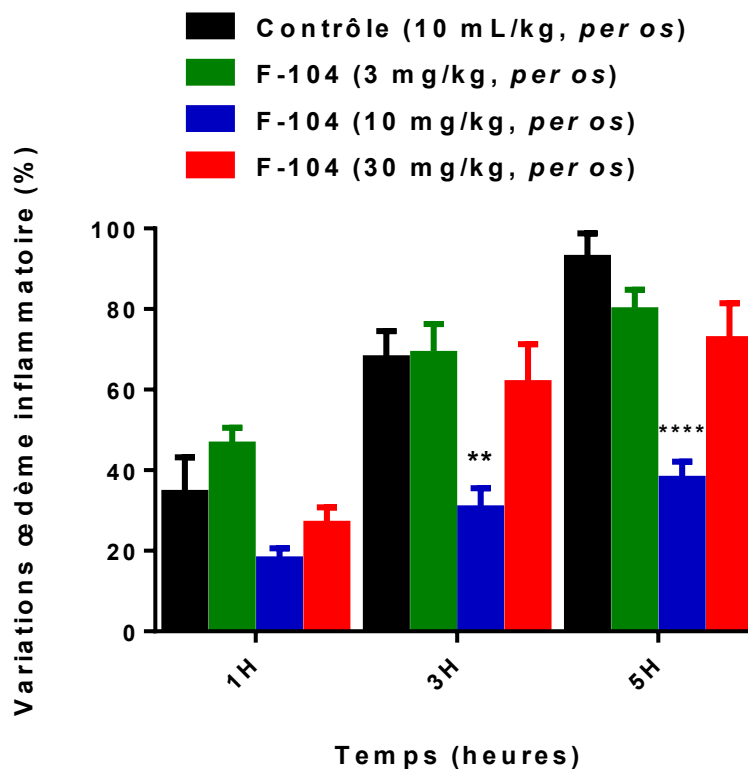
Une administration de 10 mg/kg *per os* de l'AAS prévient de façon significative le développement de l'œdème inflammatoire induit par une injection de la carraghénine. La variation de l'œdème de la patte est de  $21,79 \pm 2,27$  ;  $33,77 \pm 7,08$  ;  $30,96 \pm 7,25$  aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (**Tableau XLVI/Annexe**).

### III.3.3. Effet de la fraction F-104 du MARC de l'extrait E-101 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

La fraction F-104, entre 3 et 10 mg/kg *per os*, prévient de façon dépendante à la dose le développement de l'œdème inflammatoire de la patte de rat induit par la carraghénine.

En effet, à 3 mg/kg de F-104, la prévention de l'œdème n'est significative vis-à-vis du groupe contrôle ( $79,74 \pm 5,06$  % vs  $92,72 \pm 6,05$  %). Toutefois, à la dose de 10 mg/kg *per os*, la F-104 prévient de façon significative l'apparition de l'œdème inflammatoire ( $37,87 \pm 4,26$  % vs  $79,74 \pm 5,06$  %) ( $p < 0,0001$  ; n = 5) (**Figure 53 ; Tableau XLVII - XLVIII/Annexe**).

A une dose supérieure (30 mg/kg, *per os*), l'effet dépendant à la dose de la prévention de l'œdème inflammatoire par la F-104 n'est plus observé. Une baisse de l'activité anti-inflammatoire est même observée. Les valeurs du pourcentage de variations de l'œdème sont  $26,74 \pm 4,06$  ;  $61,63 \pm 9,67$  et  $72,52 \pm 8,94$  respectivement au temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (**Tableau XLIX/Annexe**).



**Figure 53 : Effet de la fraction F-104 sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**

(\*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*\*P<0,0001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

Le MARC montre ainsi un profil similaire avec les extraits et fractions précédents. Cependant, la F-105 (Tableau L/Annexe) dépourvue de stérols et triterpènes et dont la teneur en tanins est importante, n'a pas montré d'activité anti-inflammatoire suffisante. Cette observation pose la question de l'implication des tanins dans l'effet biphasique persistant avec l'augmentation des doses.

A partir de ces observations, il a paru nécessaire d'améliorer le protocole d'extraction de la poudre de feuilles de LPP-03-2017. Il s'agira également d'évaluer l'implication des tanins dans les activités anti-inflammatoire et analgésique de feuilles de LPP-03-2017.

### III.4. Etude *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire et analgésique de la fraction hydrométhanolique de E-101 de feuilles de LPP-03-2017

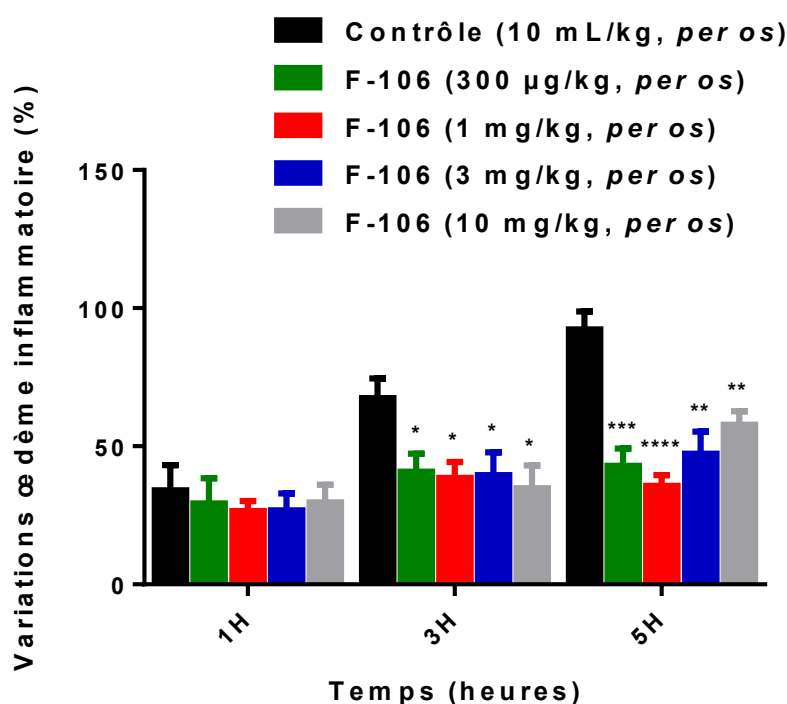
#### III.4.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire



### III.4.1.1. Effet de la fraction F-106 de E-103 de feuilles de LPP-03-2017 sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

La fraction F-106 de E-103 (**F-106**), entre 300 µg/kg et 1 mg/kg *per os*, prévient de façon dépendante à la dose, le développement de l'œdème inflammatoire de la patte de rat induit par la carraghénine. L'activité anti-inflammatoire précédemment dépendante de la dose n'est plus observée entre 3 et 10 mg/kg (**Figure 54**).

En effet, à 1 mg/kg *per os*, les variations de l'œdème inflammatoire sont de 26,99±3,24 % ; 38,97±5,29 % et 36,10±3,42 % contre 29,63±8,75 % ; 41,24±6,06 % et 43,37±5,87% à 300 µg/kg, respectivement aux temps T<sub>1h</sub>, T<sub>3h</sub> et T<sub>5h</sub> (**Tableau LI - LII/Annexe**).



**Figure 54 : Effet de la fraction F-106 de l'extrait E-103 administrée *per os* sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat**  
 (\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001, \*\*\*\*P<0,0001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

Cependant à la dose de 3 mg/kg *per os*, les pourcentages de variations passent de 27,17±5,73 ; 39,96±7,82 et 47,71±7,56 à 30,08±5,97 % ; 35,14±7,98 % et 58,18±4,53 % à la dose de 10 mg/kg *per os*, respectivement aux temps T<sub>1h</sub>, T<sub>3h</sub> et T<sub>5h</sub> après administration de la carraghénine (**Tableau LIII - LIV/Annexe**).

### III.4.1.2. Effet de la fraction F-106-ST sur l'œdème inflammatoire à la carraghénine

L'administration *per os* de la fraction F-106-ST (F-106-ST) à la dose de 1 mg/kg prévient de façon significative l'œdème inflammatoire à la carraghénine. Les valeurs des pourcentages de variations de l'œdème sont de  $18,60 \pm 4,30$  ;  $33,76 \pm 5,10$  et  $39,02 \pm 4,68$  respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (Figure 55 ; Tableau LV/Annexe).

L'absence de tanins dans les extraits a permis de prévenir la perte de l'activité anti-inflammatoire à des doses élevées. En effet, à la dose de 3 mg/kg, les pourcentages de variations de l'œdème sont de  $16,42 \pm 2,73$  ;  $32,42 \pm 6,30$  et  $28,22 \pm 6,76$  respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (Figure 56 ; Tableau LVI/Annexe). Les variations de l'œdème sont de,  $18,42 \pm 3,05$  ;  $41,03 \pm 5,35$  et  $39,71 \pm 5,60$  à la dose de 10 mg/kg, respectivement aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$  (Figure 57 ; Tableau LVII/Annexe).

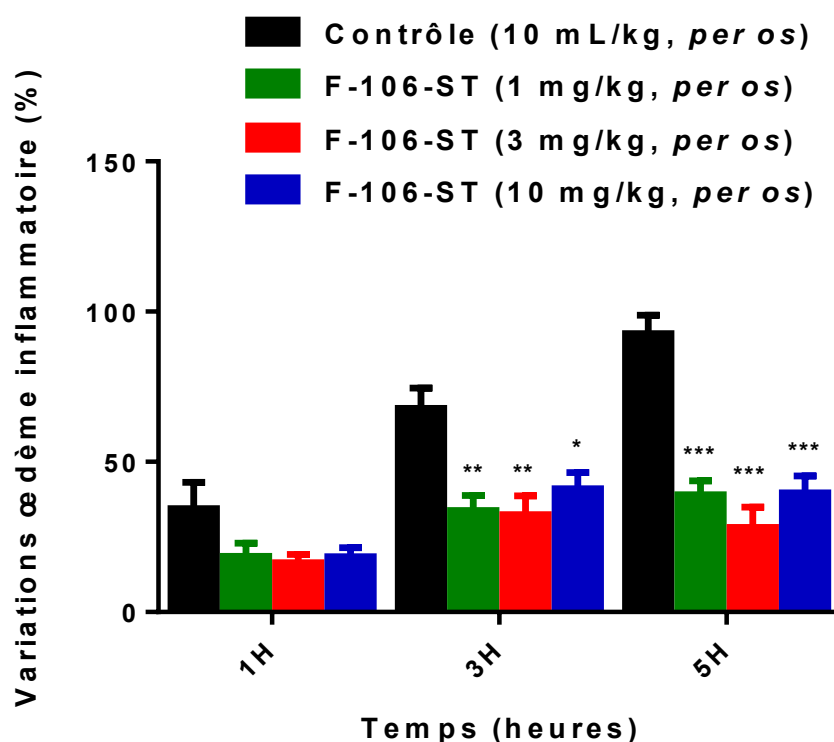


Figure 55 : Effet de la F-106-ST sur l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine chez le rat

(\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

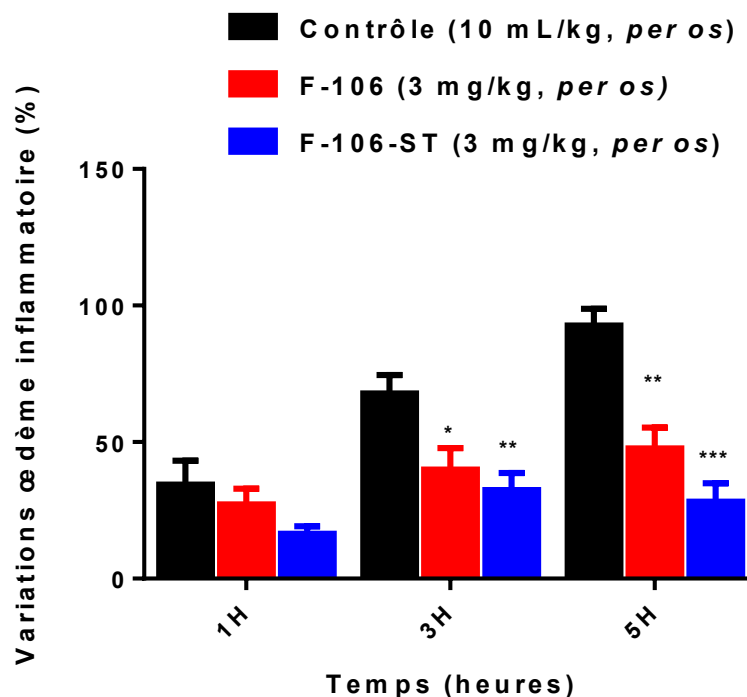


Figure 56 : Comparaison de la prévention de l'œdème inflammatoire entre F-106 et F-106-ST à la dose de 3 mg/kg après administration de la carraghénine chez le rat (\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

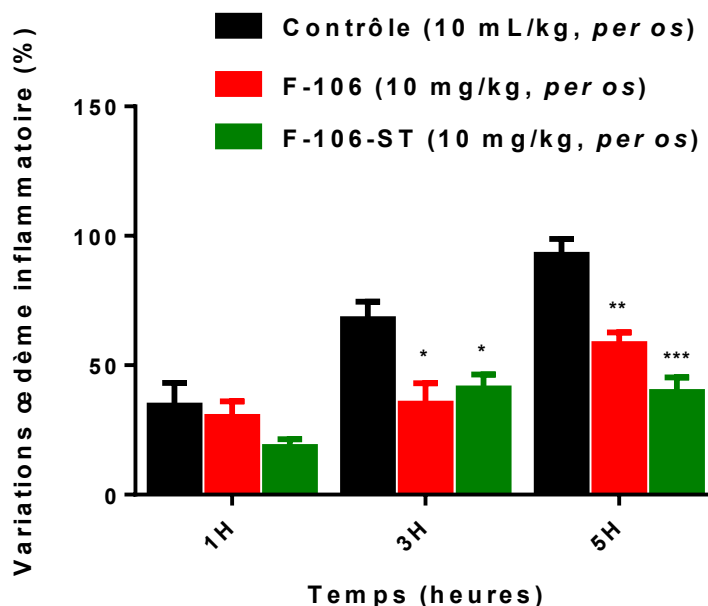


Figure 57 : Comparaison de la prévention de l'œdème inflammatoire entre F-106 et F-106-ST à la dose de 10 mg/kg après administration de la carraghénine chez le rat (\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

Les fractions F-106 et F-106-ST ont aussi été évaluées sur la douleur à l'acide acétique. Les résultats sont résumés ci-après.

### **III.4.2. Evaluation de l'activité analgésique de la fraction F-106 de feuilles de LPP-03-2017 sur la douleur à l'acide acétique chez la souris**

La douleur a été induite chez la souris avec l'administration IP d'une solution d'acide acétique à 3 % après gavage de sérum physiologique. Elle se traduit par l'apparition de contorsions. Le nombre moyen de contorsions est  $78,25 \pm 4,50$  (n= 4). (**Tableau LVIII/Annexe**).

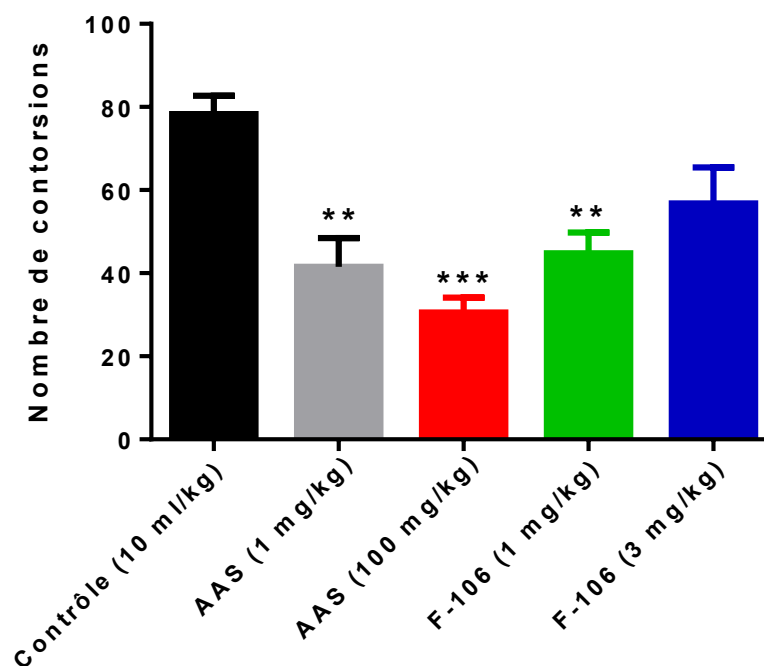
L'AAS a été utilisé comme produit de référence. Il prévient de façon significative la douleur induite par l'injection IP d'une solution d'acide acétique à 3 %.

L'AAS à 1 mg/kg *per os*, réduit considérablement le nombre moyen de contorsions observé chez le groupe contrôle à seulement  $41,50 \pm 6,98$  (**Tableau LIX/Annexe**).

La prévention des contorsions est plus importante après administration de l'AAS à la dose de 100 mg/kg *per os*. La moyenne des contorsions n'est plus que  $30,05 \pm 3,66$  (**Tableau LX/Annexe**).

#### **III.4.2.1. Effet de la F-106 sur la prévention de la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

La F-106, 1 mg/kg *per os*, est la dose la plus efficace dans la prévention de douleur. Elle induit une baisse significative du nombre de contorsions par rapport au groupe contrôle ( $44,75 \pm 5,01$  vs  $78,25 \pm 4,50$ ). L'augmentation de la dose, à 3 mg/kg *per os*, s'accompagne d'une baisse de l'activité antalgique. La diminution du nombre de contorsions n'est plus significative, comparée au groupe contrôle ( $56,75 \pm 8,73$  vs  $78,25 \pm 4,50$ ) (**Figure 58 ; Tableau LXI - LXII/Annexe**).



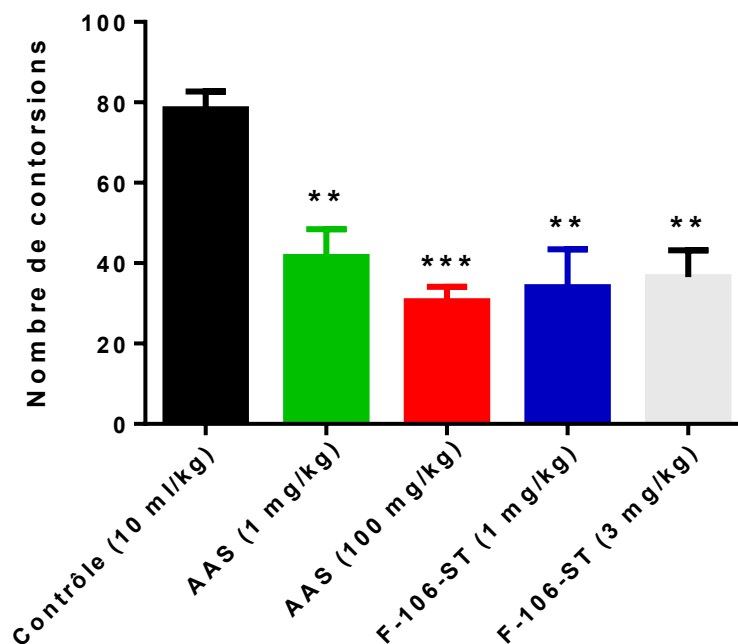
**Figure 58 : Effet de la F-106 sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

(\*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

#### III.4.2.2. Prévention de la douleur induite par l'acide acétique après administration de la fraction F-106-ST

La F-106-ST, à la dose de 1 mg/kg *per os*, présente une meilleure activité dans la prévention de la douleur induite par l'acide acétique chez la souris. La moyenne des contorsions est  $34 \pm 9,48$  vs  $78,25 \pm 4,50$  pour le groupe témoin (**Tableau LXIII/Annexe**).

Avec la fraction F-106-ST, l'augmentation de la dose (3 mg/kg, *per os*) ne s'associe plus à une baisse de l'activité antalgique, qui demeure significative. Le nombre moyen de contorsions est  $36,5 \pm 6,74$  contre  $78,25 \pm 4,50$  pour le lot témoin. (**Figure 59 ; Tableau LXIV/Annexe**).



**Figure 59 : Effet de la F-106-ST sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

(\*P<0,05 versus contrôle, \*\*P<0,01 versus contrôle, \*\*\*P<0,001 versus contrôle versus contrôle ; n=5)

L'activité anti-inflammatoire des fractions F-101 et F-101-4 étant supérieure à celle de l'AAS et identique à celle de la bétaméthasone, l'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> a été utilisée comme stratégie pour élucider le mécanisme d'action.

### III.5. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire de feuilles de LPP-03-2017 : inhibition de la sPLA<sub>2</sub>

La F-101 et la F-101-4 de feuilles de LPP-03-2017, à faible dose, inhibent la sPLA<sub>2</sub> de façon dépendante à la concentration.

En effet, à 300 µg/mL, les pourcentages d'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> sont 17,43 et 16,39 respectivement pour les fractions F-101 et F-101-4 (**Figure 60 ; Tableau LXV**).

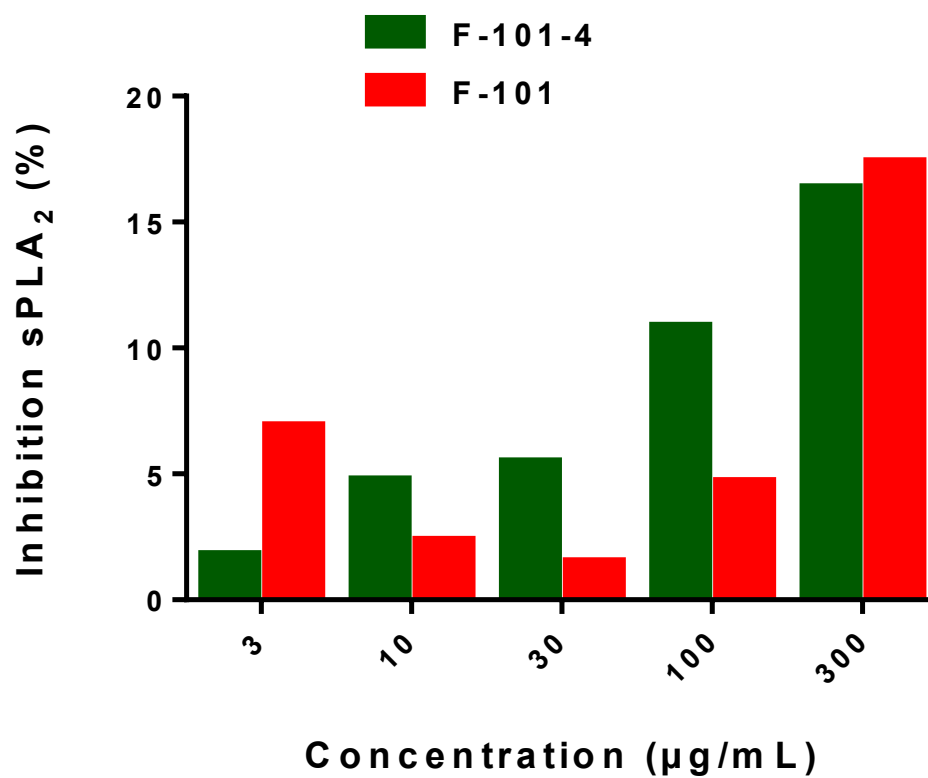


Figure 60 : Inhibition de la sPLA<sub>2</sub> par F-101 et F-101-4

## Discussion



L'extrait E-101 de feuilles de LPP-03-2017 est anti-inflammatoire sur le modèle de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine. L'activité anti-inflammatoire de la fraction **F-101** issue de l'extrait E-101 est plus importante que ce dernier, alors que la **F-102** est dépourvue d'activité anti-inflammatoire.

Toutefois, le pouvoir anti-inflammatoire de la **F-101** n'est pas dépendant de la dose puisqu'en effet, la prévention de l'œdème inflammatoire diminue aux doses élevées, suggérant l'existence probable dans ces conditions, de composés à la fois pro- et anti-inflammatoires dans cette fraction. En effet, à de **faibles doses**, la fraction **F-101** présente une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de la fraction **F-103**. Par contre, à des **doses plus élevées**, le pouvoir anti-inflammatoire de la fraction **F-103** est plus important que celui de la fraction **F-101** et de l'AAS.

Ces résultats suggéreraient probablement une meilleure concentration dans la fraction **F-101** de composés anti et pro-inflammatoires que dans la fraction **F-103**. Cette hypothèse expliquerait une meilleure efficacité de la fraction **F-101** à des doses faibles, dans la prévention de l'œdème inflammatoire et la perte de l'efficacité à des doses supérieures.

La séparation des composés de la fraction **F-101** de l'extrait E-101 de feuilles de LPP-03-2017 a donné 5 fractions filles **F-101-1**, **F-101-2**, **F-101-3**, **F-101-4** et **F-101-5**.

A de faibles doses, les fractions filles **F-101-1**, **F-101-2** et **F-101-3**, issues de la fraction **F-101**, ne préviennent pas l'apparition de l'œdème inflammatoire de la patte de rat induit par la carraghénine. A l'inverse, la fraction **F-101-4** prévient l'apparition de l'œdème inflammatoire de façon dépendante à la dose. Des résultats identiques de prévention de l'œdème ont été observés avec la bétaméthasone. Toutefois, à des doses supérieures, les résultats montrent une baisse sensible de l'activité anti-inflammatoire de la fraction F-101-4, corroborant ainsi les résultats précédents de la fraction **F-101**. L'activité anti-inflammatoire de la fraction F-101-5 est moins importante que celle de la fraction F-101-4.

Sur un modèle de douleur périphérique à l'acide acétique chez la souris la fraction **F-101** est analgésique de façon dépendante à la dose. Toutefois, à des doses

supérieures on observe une baisse de l'activité analgésique. La prévention de la douleur par la fraction **F-101-4** est supérieure à celle de l'AAS administrée dans les mêmes conditions. Par ailleurs, l'efficacité de la fraction **F-101-4** dans la prévention de contorsions sur un modèle de douleur à l'acide acétique est superposable à celle de la bétaméthasone.

Les résultats des fractions F-101 et F-101-4 suggèrent l'existence d'un mécanisme d'action identique dans la prévention de la douleur et de l'œdème inflammatoire. L'effet biphasique sur la douleur et sur l'inflammation observé en fonction des doses administrées des dites fractions, suggérerait l'existence probable dans les extraits, de composés qui agiraient par un mécanisme d'antagonisme fonctionnel.

L'étude phytochimique a révélé la présence de **tanins**, de **stéroïls** et de **triterpènes** dans les fractions F-101 et F-101-4. Les **flavonoïdes** ont été présents dans les extraits et les fractions. Par contre, Les **alcaloïdes** ont été retrouvés exclusivement dans la fraction **F-101-5**.

Des travaux antérieurs avaient rapporté la présence de saponines, de flavonoïdes, de glycosides et de stéroïdes dans les graines de LPP-03-2017 (Yisa, et al., 2010). Des travaux réalisés par Chavan et al. (Chavan, et al., 2011) ont montré que des composés terpéniques sont extractibles au soxhlet avec de l'éther de pétrole à des températures de 40-60°C. Dans la présente étude, les fractions **F-101** et la **F-101-4** renfermant des composés terpéniques, des flavonoïdes, des stéroïls et des tanins, ont été obtenues à partir de l'extrait **E-101** de feuilles de LPP-03-2017. Par ailleurs, des travaux réalisés par Ameen et al. (Ameen, et al., 2011) ont mis en évidence la présence de flavonoïdes et des substances terpéniques dans les feuilles de LPP-03-2017.

Des études réalisées sur des extraits de plantes appartenant à la famille des ANNONACEAE, avaient rapporté l'existence d'une activité anti-inflammatoire et antalgique. En effet, l'oxyde de caryophyllène, un composé isolé des écorces d'*Annona squamosa*, est à la fois analgésique et anti-inflammatoire (Chavan, et al.,

2010). Des molécules de structure terpénique isolées de plusieurs espèces appartenant à la famille des ANNONACEAE ont une activité analgésique et anti-inflammatoire. C'est l'exemple du 18-acétoxy-ent-kaur-16-ène, une molécule isolée des écorces d'*Annona squamosa* qui est analgésique sur un modèle de douleur induit par l'administration intrapéritonéale d'acide acétique chez la souris albinos, et anti-inflammatoire dans la prévention de l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carrhagénine (Chavan, et al., 2011).

Aussi, le berenjenol, une molécule triterpénique isolée d'*Oxandra xylopioides*, une espèce de la famille des ANNONACEAE, est anti-inflammatoire sur des modèles d'inflammation aiguë et subchronique (Aquila, et al., 2009).

L'activité analgésique et anti-inflammatoire des fractions **F-101** et **F-101-4** de feuilles de LPP-03-2017 pourrait être liée à la présence dans les extraits de composés terpéniques.

Les **alcaloïdes** ont été exclusivement retrouvés dans la fraction fille **F-101-5** issue de la fraction **F-101**. De plus, les stérols et les triterpènes, retrouvés dans la fraction F-101-4, sont absents dans la fraction F-101-5.

Sur le modèle de l'œdème à la carrhagénine, la fraction fille **F-101-5** induit une action anti-inflammatoire mais qui est toutefois inférieure à celle de la fraction fille **F-101-4**. Cet effet pourrait être probablement attribué à la présence d'alcaloïdes dans cet extrait.

Des études antérieures avaient décrit l'existence probable d'une relation entre la présence d'alcaloïdes dans certains extraits et leur activité anti-inflammatoire. En effet, l'évodiamine et la rutaecarpine, des molécules appartenant au groupe des alcaloïdes, inhibent la production de prostaglandines E2 pro-inflammatoires. Dans cette même étude, il a été montré que le goshuyamide II (alcaloïde) est un inhibiteur de la 5-lipoxygénase (5-LOX), une enzyme qui transforme l'acide arachidonique en leucotriènes pro-inflammatoires (Choi, et al., 2006).

Les alcaloïdes de la fraction fille **F-101-5** pourraient probablement, à l'instar de l'évodiamine et de goshuyamide II, avoir comme cible protéique des enzymes

impliquées dans la production de médiateurs inflammatoires comme la COX2 ou la 5-LOX.

Au plan phytochimique, toutes les fractions issues de l'extrait total à l'éther, renferment des flavonoïdes. Ces composés ne seraient pas responsables de l'activité analgésique et anti-inflammatoire de ces fractions.

L'action analgésique et anti-inflammatoire des fractions **F-104** et **F-101-4**, mettant en jeu un effet biphasique (anti-inflammatoire et pro-inflammatoire) selon les doses administrées, pourrait être attribuée à la présence de stérols/triterpènes et de tanins dans les extraits.

Des travaux antérieurs réalisés par Ndiaye et al. (2002), avaient mis en évidence l'existence d'un effet biphasique (anti-inflammatoire et pro-inflammatoire) de l'extrait aqueux de racines de *Moringa oleifera* sur le modèle inflammatoire à la carraghénine chez le rat. En effet, cette étude avait montré que de faibles doses de l'extrait de racines de *M. oleifera* prévient de façon significative l'œdème inflammatoire alors qu'à des doses élevées, il y a une potentialisation de l'œdème inflammatoire (Ndiaye, et al., 2002).

Dans cette présente étude, l'action anti-inflammatoire des extraits à de faibles doses pourrait être liée à la présence de stérols/triterpènes. La perte de l'activité anti-inflammatoire à des doses plus élevées serait attribuable à la présence de tanins dans les extraits.

Pour étayer cette hypothèse, la fraction **F-106** de l'extrait E-103 a été purifiée. Ceci a permis l'obtention d'une fraction **F-106-ST**. Cette fraction est anti-inflammatoire et analgésique.

L'absence d'effet biphasique de cette fraction à des doses élevées sur les modèles de douleur et de l'inflammation, attribuerait la perte des activités analgésique et anti-inflammatoire à la présence de tanins dans les extraits de feuilles de LPP-03-2017.

Des travaux de Diaz et al. (Diaz, et al., 2000) ont montré l'action anti-inflammatoire de triterpènes (Acide Oléanique et Acide Ursolique) isolés de feuilles de

*Phillyrea latifolia* L. (OLEACEAE). C'est le cas également des triterpènes isolés de *Diospyros leucomelas* (Bétuline, Acid Betulinique et Acide Ursolique), qui sont anti-inflammatoires sur un modèle animal d'œdème à la carraghénine (Recio, et al., 1995). Dans une autre étude, Forestieri et al. (Forestieri, et al., 1996) ont montré que les extraits de feuilles de *Lantana camara*, arbuste de la famille des VERBENACEAE contenant des triterpènes (Lantaden A et B), prévient de façon significative l'apparition de contorsions sur un modèle de douleur à l'acide acétique chez la souris.

Le pouvoir anti-inflammatoire de la fraction fille **F-101-4** est supérieur à celui de l'AAS, laissant suggérer une action sur **une cible autre que celle** de ce dernier, qui est un inhibiteur **de la cyclo-oxygénase de type 2 (COX2)**. L'action anti-inflammatoire de la fraction fille **F-101-4** riche en stéroïdes et en triterpènes se rapprocherait beaucoup plus de celle des composés glucocorticoïdes comme la bétaméthasone.

Cette observation est confortée par l'analogie structurale existant entre certains stéroïdes/triterpènes et des stéroïdes utilisés en thérapeutique anti-inflammatoire comme la bétaméthasone et la dexaméthasone, considérés comme triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles (Krief, 2003).

Pour conforter l'hypothèse d'un mécanisme identique entre les stéroïdes/triterpènes de feuilles de LPP-03-2017 et les glucocorticoïdes, des expériences d'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> ont été réalisées.

En effet, des résultats préliminaires de la présente étude ont montré que les fractions **F-101** et **F-101-4** de feuilles de LPP-03-2017, inhibent la sPLA<sub>2</sub> de façon dépendante à la concentration.

Plusieurs travaux antérieurs avaient décrit l'action inhibitrice de terpènes sur la production de médiateurs inflammatoires. En effet, le cyclomargenyl-3-O-β-caffeoyl ester, une molécule triterpénique isolée de *Krameria pauciflora* et appartenant au groupe des cycloartanes, inhibe la PLA<sub>2</sub> de façon dépendante à la concentration (Ramírez-Cisneros, et al., 2012). Des résultats similaires ont été rapportés par Bernard et al., avec l'acide bétulinique (Bernard, et al., 2001) et par Vishwanath et al., sur

l'action inhibitrice de la PLA<sub>2</sub> de l'acide aristolochique isolé d'une plante herbacée appartenant à la famille des ARISTOLOCHIACEAE (Vishwanath, et al., 1988).

Dans la présente étude, l'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> par la fraction **F-101** et la fraction fille **F-101-4**, explique en effet l'obtention d'une action analgésique et anti-inflammatoire plus importante que celle de l'AAS, et identique à celle de la bétaméthasone.

Au plan fonctionnel, la douleur neuropathique, peu sensible aux analgésiques à action centrale comme la morphine, s'associe à la production de cytokines inflammatoires comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$  et l'IL-6 (Guillot, et al., 2011).

Des travaux récents réalisés par Li et al. (Li, et al., 2017), ont montré une puissante action analgésique d'extraits coumariniques de racines de *Radix angelica pubescentis* sur un modèle de douleur neuropathique. Cette action est associée à la prévention de la production de cytokines inflammatoires.

L'action analgésique et anti-inflammatoire des extraits de feuilles de LPP-03-2017, identique à celle des glucocorticoïdes, pourrait s'expliquer, en plus de l'inhibition de la PLA<sub>2</sub>, par la prévention de la production de cytokines inflammatoires. Si cette hypothèse de mécanisme d'action identique entre ces extraits et les glucocorticoïdes devait se vérifier, la fraction F-101 et la fraction fille F-101-4 seraient efficaces dans la prévention des douleurs neuropathiques.

## **Conclusion**

L'objectif de cette étude était de contribuer à la valorisation d'une espèce de plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle africaine, de LPP-03-2017 (ANNONACEAE), par une approche *in vivo* et *in vitro* d'étude du mécanisme d'action anti-inflammatoire et analgésique.

La poudre de feuilles de LPP-03-2017 a été soumise à décoction dans de l'éther de pétrole. Les composés de l'extrait total à l'éther ont été séparés avec du méthanol et de l'acétate d'éthyle.

Au plan fonctionnel, la fraction F-101 de l'extrait E-101 est plus efficace que la fraction F-103 dans la prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine.

La séparation des composés de la fraction F-101 a permis ainsi l'obtention de 5 fractions allant de F-101-1 à F-101-5.

L'action anti-inflammatoire de la fraction fille F-101-4 est supérieure à celle de l'acide acétylsalicylique, et identique à celle de la bétaméthasone. Dans les mêmes conditions, l'action anti-inflammatoire de la fraction fille F-101-5 est moins importante que celle de la bétaméthasone, mais tout de même superposable à celle de l'acide acétylsalicylique.

Ces résultats intermédiaires suggèrent déjà la présence dans les feuilles de LPP-03-2017, des composés phytochimiques différents qui agiraient par des mécanismes distincts dans la prévention de l'œdème inflammatoire.

Au plan phytochimique, les flavonoïdes ont été retrouvés dans l'ensemble des fractions. Les stérols/triterpènes ont été retrouvés uniquement dans les fractions F-101 et F-101-4. Les alcaloïdes sont exclusivement présents dans la fraction F-101-5. Les tanins sont présents uniquement dans les fractions F-101 et F-101-4.

Cette répartition des composés phytochimiques dans les extraits permet de suggérer des hypothèses de mécanisme d'action.



En effet, l'action anti-inflammatoire de la fraction F-101-4 pourrait être attribuée à la présence de stérols/triterpènes dans les extraits. Cette hypothèse est d'ailleurs confortée par l'analogie structurale existant entre ces composés et des molécules de structures glucocorticoïdes utilisées en thérapeutique anti-inflammatoire.

L'action anti-inflammatoire de la fraction F-101-5, superposable à celle des anti-inflammatoires non stéroïdiens comme l'acide acétylsalicylique, plaiderait en faveur d'une interaction possible de ces alcaloïdes avec des enzymes impliquées dans la production de médiateurs inflammatoires comme la cyclooxygénase de type 2 et la lipoxygénase (**Figure 64**).

Des expériences *in vitro* préliminaires ont montré l'action inhibitrice des fractions F-101 et F-101-4 sur la phospholipase A2 (**Figure 64**).

L'action anti-inflammatoire des fractions F-101 et F-101-4 est très importante à de faibles doses et limitée à des doses supérieures. Ces résultats suggèrent la présence dans les extraits, à des doses élevées, de composés pouvant engendrer un antagonisme fonctionnel. Pour étayer cette hypothèse, la fraction F-106 renfermant des stérols/triterpènes et des tanins a été séparée, donnant la fraction F-106-ST.

La fraction F-106-ST est anti-inflammatoire de façon dépendante à la dose sans aucune limitation, laissant suggérer l'existence d'une activité pro-inflammatoire des tanins de feuilles de LPP-03-2017.

L'action antalgique puissante des fractions F-101 et F-101-4, superposable à celle des glucocorticoïdes comme la bétaméthasone, vient conforter l'hypothèse de départ selon laquelle, ces extraits agiraient par un mécanisme identique à celui des glucocorticoïdes. Ceci est d'autant plus plausible que la présence de tanins dans les extraits à des doses plus élevées s'associe à une perte de l'activité antalgique.

Les effets antalgique et anti-inflammatoire des fractions F-101 et F-101-4, très importants à de faibles doses, et moins efficaces à des doses plus élevées, laissent suggérer un mécanisme d'action identique à l'origine de la prévention de la douleur et de l'inflammation.

En perspective, la caractérisation de l'action analgésique et anti-inflammatoire des composés des fractions F-101 et F-101-4 devait se poursuivre avec des extraits purifiés sur des modèles d'étude de douleurs neuropathiques et de polyarthrite rhumatoïde. Il serait intéressant de déterminer l'action de ces extraits, par une approche *in vitro*, sur la production de cytokines inflammatoires comme le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$  et l'IL6.

La poursuite de ces travaux implique également l'évaluation d'une interaction possible entre les composés de la fraction F-101-5 et certaines cibles de production des médiateurs inflammatoires comme la cyclooxygénase de type 2 et la lipoxygénase (Figure 64).

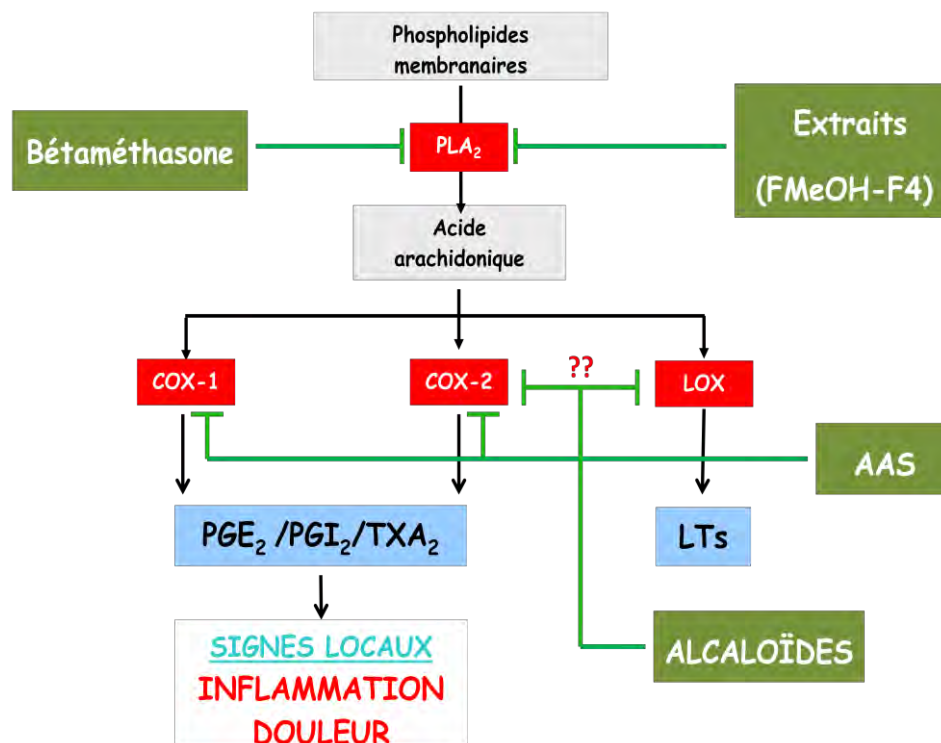


Figure 61 : Mécanismes d'action possibles des composés de feuilles de LPP-03-2017 (ANNONACEAE)

## Références bibliographiques

---

## Références bibliographiques

- Abdullahi, A. A. (2011). Trends and challenges of traditional medicine in Africa. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(5S), 115-123.
- Abuh, L., Onoja, P., & Osabohien, E. (2016). Extraction and Application of Dye stuff from *Pterocarpus Erinaceus*, *Annona Senegalensis* and *Baphia Nitida* Grown in Olamaboro, Kogi State, Nigeria. *International Advanced Journal of Natural and Applied Sciences*, 1(1), 16-23.
- Adam, F. (2014). Physiologie de la douleur. Dans O. Fourcade, T. Geeraerts, V. Minville, & K. Samii (Éds.), *Traité d'anesthésie et de réanimation* (éd. 4e édition, pp. 91-100). Paris: Lavoisier.
- Adesogan, E. K., & Durodola, J. I. (1976). Antitumour and antibiotic principles of *Annona senegalensis*. *Phytochemistry*, 15(8), 1311-1312.
- Adzu, B., Abubakar, M. S., Izebe, K. S., Akumka, D. D., & Gamaniel, K. S. (2005). Effect of *Annona senegalensis* root bark extracts on *Naja nigricotlis nigricotlis* venom in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 507-513.
- Adzu, B., Amos, S., Adamu, M., & Gamaniel, K. (2003). Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of the methanol extract of *Annona senegalensis* root bark. *Journal of Natural Remedies*, 3(1), 63-67.
- Agaba, T., Fawole, B., & Claudius-Cole, A. O. (2015). Screening of Siam Weed (*Chromolaena Odorata*) and African Custard Apple (*Annona Senegalensis*) for Nematicidal Activity. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5(14), 50-56.
- Ahmed, A. L., Bassem, S. E., Mohamed, Y. H., & Gamila, M. W. (2010). Cytotoxic essential oil from *Annona senegalensis* Pers. leaves. *Pharmacognosy research*, 2(4), 211-214.
- Aiyelaja, A., & O., B. (2006). Ethnobotanical Potentials of Common Herbs in Nigeria: A Case Study of Enugu State. *Educational Research and Reviews*, 1(1), 16-22.
- Ajaiyeoba, E., Falade, M., Ogbale, O., Okpako, L., & Akinboye, D. (2006). In vivo antimalarial and Cytotoxic properties of *Annona senegalensis* extract. *African Journal of Traditional, Complementary and alternative Medicine*, 3(1), 137-141.
- Ajboye, T. O., Yakubu, M. T., Salau, A. K., Oladiji, A. T., Akanji, M. A., & Okogun, J. I. (2010). Antioxidant and drug detoxification potential of aqueous extract of *Annona senegalensis* leaves in carbon tetrachloride induced hepatocellular damage. *Pharmaceutical Biology*, 48(12), 1361-1370.
- Alawa, C. B., Adamu, A. M., O., G. J., Ajanusi, O. J., Abdu, P. A., Chiezey, N. P., Alawa, J. N., Bowman, D. D. (2003). In vitro screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary parasitology*, 113(1), 73-81.
- Aley, K. O., Reichling, D. B., & Levine, J. D. (1996). Vincristine hyperalgesia in the rat: a model of painful vincristine neuropathy in humans. *Neuroscience*, 73(1), 259-265.

- Ameen, O. M., Usman, L. A., Oganija, F. S., Hamid, A. A., Muhammed, N. O., Zubair, M. F., & Adebayou, S. A. (2011). Chemical composition of leaf essential oil of *Annona senegalensis* Pers.(ANNONACEAE) growing in North Central Nigeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1), 375-379.
- Amento, E. P., Ehsani, N., Palmer, H., & Libby, P. (1991). Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 11(5), 1223-1230.
- Ankier, S. I. (1974). New hot plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. *European Journal of Pharmacology*, 27, 1-4.
- Apak, L., & Olila, D. (2006). The in-vitro antibacterial activity of *Annona senegalensis*, *Securidacca longipendiculata* and *Steganotaenia araliacea* Ugandan medicinal plants. *African Health Sciences*, 6(1), 31-35.
- Aquila, S., Rojano, B., Recio, M. C., Giner, R., Schinella, R., Debenedetti, S. L., Saez, J., Rios, J. L. (2009). Anti-inflammatory activity of Berenjenol and related compounds. *Planta Medica*, 75(1), 18-23.
- Arbonnier, M. (2009). *Arbres arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest* (éd. 3e édition). Versailles: Quae, MNHN 574p.
- Assogba, M. N. (1984). Quelques enquêtes sur la pharmacopée traditionnelle vétérinaire en République du Bénin. In *Communication faite à la 13è conférence de la Société Ouest Africaine de Pharmacologie*, 23-24.
- Authier, N., Coudore, F., Eschalier, A., & Fialip, J. (1999). Pain related behaviour during vincristine-induced neuropathy in rats. *Neuroreport*, 10(5), 965-968.
- Authier, N., Gillet, J. P., Fialip, J., Eschalier, A., & Coudore, F. (2003). A new animal model of vincristine-induced nociceptive peripheral neuropathy. *Neurotoxicology*, 24(6), 797-805.
- Awa, E. P., Ibrahim, S., & Ameh, D. A. (2012). GC/MS Analysis and Antimicrobial Activity of Diethyl Ether Fraction of Methanolic Extract from the stem bark of *Annona senegalensis* Pers. *Int J Pharm Sci Res*. 3(11). *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 3(11), 4213-4218.
- Bannwarth, B. (2007). Mécanismes physiopathologiques des douleurs inflammatoires aiguës et chroniques. Dans *Douleur, inflammation et interactions système nerveux/système immunitaire* (pp. 31-43). Paris: INSTITUT UPSA DE LA DOULEUR.
- Bardo, M. T., & Hughes, R. A. (1979). Exposure to a nonfunctional hot plate as a factor in the assessment of morphine-induced analgesia and analgesic tolerance in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 10(4), 481-485.
- Basbaum, A., & Fields, H. (1984). Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annual review of neuroscience*, 7(1), 309-338.

- Ben-Bassat, J., Peretz, E., & Sulman, F. G. (1959). Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 122, 434-447.
- Bennett, G. J., & Xie, Y. K. (1988). A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 33(1), 87-107.
- Benyamin, R., Trescot, A. M., Datta, S., Buenaventura, R., Adlaka, R., Sehgal, N., Glaser, S. E., Vallejo, R. (2008). Opioid complications and side effects. *Pain Physician*, 11, S105–120.
- Berger, P., & Tunon de Lara, J. (2007). Mastocytes et asthme. *EMC-Pneumologie*, 1-11.
- Bernard, P., Scior, T., Didier, B., Hibert, M., & Berthon, J. Y. (2001). Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: application to phospholipase A 2 inhibitors. *Phytochemistry*, 58(6), 865-874.
- Bevilacqua, M., Pober, J., Majeau, G., Fiers, W., Cotran, R., & Gimbrone, M. (1986). Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(12), 4533-4537.
- Bharat, B., Shishir, S., & Santosh, K. (2006). Inflammation and cancer: How hot is the link? *Biochemical Pharmacology*, 72, 1605-1621.
- Boue, F. (2007). Réaction inflammatoire : Aspects biologiques et cliniques-Conduite à tenir. *La Revue du praticien*, 57(7), 775-780.
- Boullard, B. (2001). *Plantes médicinales du monde - croyances et réalités* (éd. 1ere édition). Paris: Editions ESTEM.
- Brennan, T. J., Vandermeulen, E. P., & Gebhart, G. (1996). Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain*, 64, 493-501.
- Calle, M. C., & Fernandez, M. L. (2012). Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*, 38(3), 183-191.
- Calvino, B. (2007). Interactions Système Nerveux/Système Immunitaire dans la douleur. Dans F. Béroud (Éd.), *Douleur, Inflammation et Interactions Système Nerveux/Système Immunitaire* (pp. 13-30). Paris: Institut UPSA pour la douleur.
- Calvino, B., & Grilo, R. M. (2006). Central pain control. *Joint Bone Spine*, 73(1), 10-16.
- Calvino, B., & Trèves, R. (2007). Introduction. Dans *Douleur, inflammation et interactions système nerveux/système immunitaire* (éd. 1ère édition, pp. 9-12). Paris: Institut UPSA de la douleur.
- Calvino, B., Crepon-Bernard, M. O., & Le Bars, D. (1987). Parallel clinical and behavioural studies of adjuvant-induced arthritis in the rat: possible relationship with 'chronic pain'. *Behavioural Brain Research*, 24(1), 11-29.

- Cavaillon, J. M. (1995). L'inflammation: un équilibre précaire entre cytokines pro-et anti-inflammatoires. *Revue Francaise des Laboratoires*, 1995(276), 27-35.
- Cavaillon, J.-M. (1996). *Les cytokines* (éd. 2e édition). Paris: Masson.
- Cavaillon, J.-M. (2005). Médiateurs de l'inflammation. Dans C. Martin, & J.-L. Vincent (Éds.), *Sepsis sévère et choc septique* (pp. 23-49). Paris: Springer-Verlag.
- Chavan, M. J., Wakte, P. S., & Shinde, D. B. (2010). Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. *Phytomedicine*, 17(2), 149-151.
- Chavan, M. J., Wakte, P. S., & Shinde, D. B. (2011). Analgesic and anti-inflammatory activities of 18-acetoxy-ent-kaur-16-ene from *Annona squamosa* L. bark. *Inflammopharmacology*, 19(2), 111-115.
- Chen, S. (2011). Natural products triggering biological targets-a review of the anti-inflammatory phytochemicals targeting the arachidonic acid pathway in allergy asthma and rheumatoid arthritis. *Current drug targets*, 12(3), 288-301.
- Chernov, H. I., Wilson, D. E., Fowler, W. F., & Plummer, A. J. (1967). Nonspecificity of the mouse writhing test. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*, 167(1), 171-178.
- Choi, Y. H., Shin, E. M., Kim, Y. S., Cai, X. F., Lee, J. J., & Kim, H. P. (2006). Anti-inflammatory principles from the fruits of *Evodia rutaecarpa* and their cellular action mechanisms. *Archives of Pharmaceutical Research*, 59(4), 293-297.
- Clavelou, P., Dallel, R., Orliaguet, T., Woda, A., & Raboisson, P. (1995). The orofacial formalin test in rats : Effects of different formalin concentrations. *Pain*, 62, 295-301.
- Cohen, Y., & Jacquot, C. (2008). *Pharmacologie* (éd. 6e édition). Paris: Masson.
- Colpaert, F. C., Meert, T., De, W. P., & Schmitt, P. (1982). Further evidence validating adjuvant arthritis as an experimental model of chronic pain in the rat. *Life sciences*, 31(1), 67-75.
- Courteix, C., Eschalier, A., & Lavarenne, J. (1993). Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain*, 53(1), 81-88.
- Coutaux, A., Adam, F., Willer, J.-C., & Le Bars, D. (2005). Hyperalgésie et allodynie : les mécanismes périphériques. *Revue du rhumatisme*, 72(9), 770-783.
- D'Amour, F. E., & Smith, D. L. (1941). A method for determining loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 72(1), 74-79.
- Dambatta, S. H., & Aliyu, B. S. (2011). A survey of major ethno medicinal plants of kano north, Nigeria, their knowledge and uses by traditional healers. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(2), 28-34.
- Dandona, P., Aljada, A., & Bandyopadhyay, A. (2004). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends in immunology*, 25(1), 4-7.

- Dantzer, R. (1989). L'immunologie monte à la tête. Dans *L'illusion psychosomatique* (pp. 213-267). Editions Odile Jacob.
- De Castro, C. M., De, S. P., Gybels, J., & Van, H. J. (1981). Adjuvant-induced arthritis in rats: a possible animal model of chronic pain. *Pain, 10*, 173-185.
- Diaz, A. M., Abad, M. J., Fernandez, L., Recuero, C., Villaescusa, L., Silvan, A. M., & Bermejo, P. (2000). In vitro anti-inflammatory activity of iridoids and triterpenoid compounds isolated from *Phillyrea latifolia* L. *Biological and Pharmaceutical bulletin, 23*(11), 1307-1313.
- Dubuisson, D., & Dennis, S. G. (1977). The formalin test : a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain, 4*, 161-174.
- Ekundayo, O., & Oguntimein, B. (1986). Composition of the essential oils of *Annona senegalensis* var. *senegalensis*. *Planta medica, 52*(3), 202-204.
- Emanuela, F., Grazia, M., Marco, D. R., Maria Paola, L., Giorgio, F., & Marco, B. (2012). Inflammation as a link between obesity and metabolic syndrome. *Journal of nutrition and metabolism, 2012*, 1-7.
- Emmanuel, A., Ebinbin, A., & Amlabu, W. (2014). Detoxification of *Echis ocellatus* venom-induced toxicity by *Annona senegalensis* Pers. *Journal of Complementary and Integrative Medicine, 11*(2), 93-97.
- Emmanuel, N., & Mamoudou, S. (2015). Some Investigations on the Traditional Pharmacopoeia about Venomous Bites and Stings from Scorpions, Snakes and Spiders; in the Hina Subdivision, Far-North, Cameroon. *British Journal of Pharmaceutical Research, 5*(5), 344-358.
- Endo, H., Akahoshi, T., Takagishi, K., Kashiwazaki, S., & Matsushima, K. (1991). Elevation of interleukin-8 (IL-8) levels in joint fluids of patients with rheumatoid arthritis and the induction by IL-8 of leukocyte infiltration and synovitis in rabbit joints. *Lymphokine and cytokine research, 10*(4), 245-252.
- Eshiet, I. T., Akisanya, A., & Taylor, D. A. (1971). Diterpenes from *Annona senegalensis*. *Phytochemistry, 10*(12), 3294-3295.
- Faleyimu, O. I., Ahmad, I. H., & Akinyemi, O. (2010). Herbal Approach to the Treatment of Chicken pox: A Case study of Giwa Local Government, Kaduna State. *International Journal of Biomedical and Health Sciences, 6*(1), 13-18.
- Fall, D., Badiane, M., Ba, D., Loiseau, P., Bories, C., Gleye, C., Laurens, A. Hocquemiller, R. (2003). Activité antiparasitaire d'Annonaceae du Sénégal utilisées en médecine traditionnelle. *Dakar Médical, 48*(2), 112-116.
- Fall, D., Sambou, B., Seck, M., Wele, A., Ndoeye, I., Gleye, C., & Laurens, A. (2007). Enhancing the anthelmintic activity roots of *Annona senegalensis*. *Dakar medical, 53*(1), 61-67.



- Fatope, M., Audu, O., Takeda, Y., Zeng, L., Shi, G., Shimada, H., & Mclaughlin, J. (1996). Bioactive entkaurene diterpenoids from *Annona senegalensis*. *Journal Nature Production*, 59(3), 301-303.
- Forestieri, A., Monforte, M., Ragusa, S., Trovato, A., & Iauk, L. (1996). Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activity in rodents of plant extracts used in African medicine. *Phytotherapy Research*, 10(2), 100-106.
- Forman, L. J., Estilow, S., Lewis, M., & Vasilenko, P. (1986). Streptozocin diabetes alters immunoreactive  $\beta$ -endorphin levels and pain perception after 8 wk in female rats. *Diabetes*, 35(12), 1309-1313.
- Fradelizi, D. (2002). Cytokines: médiateurs de la réponse immunitaire, de la réaction inflammatoire et de l'hématopoïèse. *Hématologie*, 35(3), 68-73.
- Fürst, R., & Zündorf, I. (2014). Plant-derived anti-inflammatory compounds: hopes and disappointments regarding the translation of preclinical knowledge into clinical progress. *Mediators of inflammation*, 2014, 1-9.
- Furuzawa-Carballeda, J., & Alcocer-Varela, J. (1999). Interleukin-8, interleukin-10, intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 expression levels are higher in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis than in osteoarthritis. *Scandinavian journal of immunology*, 50(2), 215-222.
- Galanaud, P. (2003). Inflammation et anti-inflammatoires. *LA REVUE DU PRATICIEN*, 53(5), 476-477.
- Galis, Z. S., Sukhova, G. K., Lark, M. W., & Libby, P. (1994). Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *Journal of Clinical Investigation*, 94(6), 2493.
- Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H. (2010). Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. *Cell*, 140(6), 918–934.
- Green, A., Young, P. A., & Godfrey, E. I. (1951). A comparison of heat and pressure analgesiometric methods in rats. *British Journal of Pharmacology*, 6, 572-585.
- Griendling, K. K., Ushio-Fukai, M., Lassègue, B., & Alexander, R. W. (1997). Angiotensin II signaling in vascular smooth muscle new concepts. *Hypertension*, 29(1), 366-370.
- Gueye, M. T. (2000, Novembre 24). Ecophysiologie, structure et évolution des peuplements de *Caryedon serratus* (Olivier) déprédateur de l'arachide entreposée en milieu sahélien. Dakar, Sénégal.
- Gueye, M., Cissé, A., Diatta, C. D., Diop, S., & Koma, S. (2012). Etude ethnobotanique des plantes utilisées contre la constipation chez les Malinké de la communauté rurale de Tomboronkoto, Kédougou (Sénégal). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(2), 773-781.
- Gueye, S., Thiam, D. M., Seck, D., & Mbacké, S. (2011). Biochemical fractions activity of *Annona senegalensis* pers. extract leaves to protect groundnut against the seed-beetle *Caryedon*

- serratus ol. (Coleoptera, Chrysomelidea, Bruchinae). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 1(2), 122-130.
- Guillot, X., Semerano, L., Decker, P., Falgarone, G., & Boissier, M. C. (2011). Douleur et immunité. *Revue du rhumatisme*, 78(6), 503-511.
- Guirimand, F. (2003). Physiologie de la douleur: données récentes. *Néphrologie*, 24(7), 401-410.
- Gupta, S., Pablo, A. M., c Jiang, X., Wang, N., Tall, A. R., & Schindler, C. (1997). IFN-gamma potentiates atherosclerosis in ApoE knock-out mice. *Journal of Clinical Investigation*, 99(11), 2752.
- Hammond, D. L. (1989). Inference of pain and its modulation from simple behaviors. Dans C. R. Chapman, & J. D. Loeser (Éds.), *Issues in pain measurement. Advances in pain research and therapy* (Vol. 12, pp. 69-91). New York: Raven Press.
- Hellal, M. (2007). Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : synthèses et activités anti-cytokine. Strasbourg: Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur.
- Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6), 433-442.
- Hirosumi, J., Tuncman, G., Chang, L., Görgün, C. Z., Uysal, K. T., Maeda, K., & Hotamisligil, G. S. (2002). A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 420(6913), 333-336.
- Hoesel, B., & Schmid, J. A. (2013). The complexity of NF-κB signaling in inflammation and cancer. *Molecular cancer*, 12(1), 1-15.
- Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S., & Spiegelman, B. M. (1993). Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance. *Science-New York then Washigton*, 259, 87-87.
- Hunnskaar, H., Berge, O. G., & Hole, K. (1986). A modified hot-plate test sensitive to mild analgesic. *Behavioural brain research*, 21(2), 101-108.
- Hunnskaar, S., & Hole, K. (1987). The formalin test in mice : Dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 30, 103-114.
- Hussain, H. S. (1989). Traditional medicinal plants used by Hausa tribe of Kano State of Nigeria. *International journal of crude drug research*, 27(4), 211-216.
- Igoli, J. O., Ogaji, O. G., Tor-Anyiin, T. A., & Igoli, N. P. (2005). Traditional medicine practice amongst the Igede people of Nigeria. Part II. *african journal of traditional complementary and alternative medicines*, 2(2), 134-152.
- Jachak, S. M., & Saklani, A. (2007). Challenges and opportunities in drug discovery from plants. *Current Science*, 92(9), 1251-1257.
- Jett, M. F., & Michelson, S. (1996). The formalin test in rat : validation of an automated system. *Pain*, 64, 19-25.

- Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Nkongmeneck, B. A., Mapongmetsem, P. M., Tsabang, N. (2009). Ethnobotanical uses of some plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(13), 664-684.
- Johnson, T. O., & Olatoye, R. S. (2012). Phytochemical and Antimicrobial Screening of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Annona senegalensis* Leaf. *Journal of Medicine in the Tropics*, 14(2).
- Jourdan, D., Ardid, D., Bardin, L., Bardin, M., Neuzeret, D., & Lanphouthacoul, L. (1997). A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats. *Pain*, 71, 265-270.
- Karin, M., Lawrence, T., & Nizet, V. (2006). Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer. *Cell*, 124(4), 823-835.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Basic & Clinical Pharmacology* (éd. 12e édition). New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill.
- Kawada, N., Moriyama, T., Kitamura, H., Yamamoto, R., Furumatsu, Y., Matsui, I., Takabatake, Y., Nagasawa, Y., Imai, E., Wilcox, C. S., Rakugi, H., Isaka, Y. (2012). Towards developing new strategies to reduce the adverse side-effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Exp. Nephrol.*, 16, 25–29.
- Kayser, V., & Guilbaud, G. (1987). Local and remote modifications of nociceptive sensitivity during carrageenin-induced inflammation in the rat. *Pain*, 28, 99-107.
- Kerharo, J., & Adams, J. (1974). *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques*. Paris: Edition Vigot et frères.
- Kim, S. H., & Chung, J. M. (1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 50(3), 355-363.
- Kisangau, D. P., Lyaruu, H. V., Hosea, K. M., & Joseph, C. C. (2007). Use of traditional medicines in the management of HIV/AIDS opportunistic infections in Tanzania: a case in the Bukoba rural district. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(1), 29.
- Konate, A., Sawadogo, W. R., Dubruc, F., Caillard, O., Ouedraogo, M., & Guissou, I. P. (2012). Phytochemical and Anticonvulsant Properties of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae), Plant Used in Burkina Folk Medicine to Treat Epilepsy and Convulsions. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(5), 245-250.
- Koster, R., Anderson, M., & Beer, E. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *proceedings*, 18(412).
- Kranzhöfer, R., Schmidt, J., Pfeiffer, C. A., Hagl, S., Libby, P., & Kübler, W. (1999). Angiotensin induces inflammatory activation of human vascular smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 19(7), 1623-1629.
- Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en

- Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Paris: Thèse de doctorat. Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
- Kundu, J. K. (2008). Inflammation: gearing the journey to cancer. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 659(1), 15-30.
- Kundu, J., & Surh, Y.-J. (2005). Breaking the relay in deregulated cellular signal transduction as a rationale for chemoprevention with anti-inflammatory phytochemicals. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591(1), 123-146.
- Lame, Y., Nukenine, E. N., Pierre, D. Y., & Esimone, C. O. (2014). Larvicidal activity of *Annona senegalensis* and *Boswellia dalzielii* leaf fractions against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*, 1(4), 25-29.
- Le Bars, D., & Adam, F. (2002, Avril). Nocicepteurs et médiateurs dans la douleur aiguë inflammatoire. *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation. Elsevier Masson*, 21(4), 315-335.
- Le Bars, D., & Willer, J. (2004). Physiologie de la douleur. *EMC-Anesthésie Réanimation*, 1(4), 227-266.
- Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. (2001). Evaluation de le douleur aiguë chez l'animal d'expérience. Première partie. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 20, 347-365.
- Li, R., Zhao, C., Yao, M., Song, Y., Wu, Y., & Wen, A. (2017). Analgesic effect of coumarins from *Radix angelicae pubescentis* is mediated by inflammatory factors and TRPV1 in a spared nerve injury model of neuropathic pain. *Journal of Ethnopharmacology*, 195, 81-88.
- Libby, P., Ridker, P. M., & Maseri, A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105(9), 1135-1143.
- Liechti, M. E. (2015). Traitement médicamenteux des douleurs neuropathiques . *Forum Médical Suisse*, 15(19), 446–452.
- Lo Fall, K. M., 2010. *Activité anti-inflammatoire de la fraction méthanolique de l'extrait éthéré de feuilles d'Annona senegalensis Pers. (Annonaceae)*. Dakar: Thèse Doctorat d'Etat de Pharmacie, UCAD.
- Loux, J. J., Smith, S., & Salem, H. (1978). Comparative analgesic testing of various compounds in mice using writhing techniques. *Arzneimittelforschung*, 28, 1644-1647.
- Luttinger, D. (1985). Determination of antinociceptive efficacy of drugs in mice using different water temperatures in a tail immersion test. *Journal of pharmacological methods*, 13(4), 351-357.
- Mach, F., Schönbeck, U., Sukhova, G. K., Bourcier, T., Bonnefoy, J. Y., Pober, J. S., & Libby, P. (1997). Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(5), 1931-1936.
- Mahmoud, S. J., Wurochekke, A. U., & Ajayi, O. O. (2015). Crude Flavonoids Isolated from the Stem Bark of *Annona senegalensis* have Antimicrobial Activity. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 2(1), 24-29.

- Mahmoud, S. J., Wurochekke, A. U., & Ya'u, A. (2014). In vitro Antimicrobial Effect of Crude Tannins Isolated from the Leaf of *Annona senegalensis*. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 4(5), 615-623.
- Malmberg, A. B., & Yaksh, T. L. (1992). Antinociceptive actions of spinal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 263(1), 136-146.
- Manabe, I. (2011). Chronic inflammation links cardiovascular, metabolic and renal diseases. *Circulation Journal*, 75(12), 2739-2748.
- Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., & Balkwill, F. (2008). Cancer-related inflammation. *Nature*, 454(7203), 436-444.
- Marchand, F., Alloui, A., Pelissier, T., Hernandez, A., Authier, N., Alvarez, P., & Ardid, D. (2003). Evidence for an antihyperalgesic effect of venlafaxine in vincristine-induced neuropathy in rat. *Brain research*, 980(1), 117-120.
- Matig, O. E., Ndoye, O., Kengue, J., & Awono, A. (2006). *Les fruitiers forestiers comestibles du Cameroun*. Cotonou: Bioversity International.
- Mazluca, M. (2007). Canaux ioniques, douleur et analgésie Effets analgésiques du blocage d'ASIC1a par la Psalmotoxine 1. Nice: Thèse de doctorat en neurosciences, Université Nice Sophia Antipolis.
- Melzack, R., & Wall, P. (1965). Pain mechanisms: a new theory. *Sci*, 150, 971-979.
- Ménager–Marcq, I., Pomié, C., Romagnoli, P., & Van Meerwijk, J. P. (2006). CD8+ CD28- Regulatory T Lymphocytes Prevent Experimental Inflammatory Bowel Disease in Mice. *GASTROENTEROLOGY*, 1775-1785.
- Meunier, A., Braz, J., Cesselin, F., Hamon, M., & Pohl, M. (2004). Inflammation et douleur: thérapie génique expérimentale. *M/S: médecine sciences*, 20(3), 325-330.
- Michael, O. G., Abimbade, F. I., & Mofoluso, O. (2014). Effect of aqueous extract of *Annona senegalensis* leaves on the spermogram of male albino rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 408-418.
- Michael-Titus, A., & Costentin, J. (1988). Multiplicity and limits of nociceptive tests performed for the screening of analgesic agents. *Actual Chim Ther*, 15, 311-323.
- Milligan, E. D., & Watkins, L. R. (2009). Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(1), 23-26.
- Mustapha, A., Owuna, G., & Uthman, I. (2013). Plant Remedies Practiced by Keffi People in the Management of Dermatitis. *Journal of Medicinal Plants.*, 1(5), 112-118.
- Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 1(1), 21-29.

- National Research Council. (2008). Custard Apples (*Annona* species). Dans *Lost Crops of Africa: Volume III: Crops*. (pp. 244-246). Washington, D.C.: National Academies Press.
- Ndiaye, M., Dieye, A. M., Mariko, F., Tall, A., Sall-Diallo, A., & Faye, B. (2002). Contribution to the study of the anti-inflammatory activity of *Moringa oleifera* (MORINGACEAE). *Dakar Medical*, 47(2), 210-212.
- Neuwinger, H. D. (1996). *African Ethnobotany : Poisons and Drugs : Chemistry, Pharmacology, Toxicology* (éd. CRC Press. p941). Stuttgart: chapman & Hall.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. 2007;70:. *Journal of natural products*, 70(3), 461–477.
- Ngbolua, K., Mudogo, V., Mpiana, P., Tshibangu, D., Tshilanda, D., & Ashande, M. (2014). In vitro and in vivo anti-malarial and cytotoxic activities of ethanolic extracts of *Annona senegalensis* Pers (Annonaceae) from Democratic Republic of the . *Journal of Modern Drug Discovery and Drug Delivery Research*.
- Nwogwugwu, J. C., Adejobi, O. I., Oyebanji, A. O., & Babalola, O. O. (2015). Assessment of the Protective Potential of *Annona senegalensis* Leaf Extract against Selected Fungal Pathogens of Sorghum, Tomato and Okra Seeds. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 6(9), 1056-1067.
- Nwonuma, C. O., Irokanulo, E. O., Jolaiya, A. E., & Ore, A. (2015). Effect of Aqueous Leaf Extract of *Annona senegalensis* on Selected Testicular Function Indices of Wistar Rats. *American Journal of Life Sciences*, 3(3), 203-212.
- Odegaard, J. I., & Chawla, A. (2013). Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science*, 339(6116), 172–177.
- Ofukwu, R., & Ayoola, A. A. (2008). Medicinal Plants Used in the Management of Tuberculosis in Humans and Animals by Idoma Tribe of North Central Nigeria. *Nigerian Veterinary Journal*, 29(2), 25-30.
- Ogbadoyi, E. O., Akinsunbo, A. O., Adama, T. Z., & Okogun, J. I. (2007). In vivo Trypanocidal activity of *Annona senegalensis* leaf extract against *Trypanosoma brucei brucei*. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 85-89.
- Okhale, S. E., Akpan, E., Fatokun, O., Esievo, K., & Kunle, O. (2016). *Annona senegalensis* Persoon (Annonaceae): A review of its ethnomedicinal uses, biological activities and phytochemicals. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(2), 211-219.
- Okoli, C. O., Onyeto, C. A., Akpa, B. P., Ezike, A. C., Akah, P. A., & Okoye, T. C. (2010). Neuropharmacological evaluation of *Annona senegalensis* leaves. *African Journal of Biotechnology*, 9(49), 8435-8444.
- Okoye, T. C., Akah, P. A., & Omeke, C. P. (2010). Evaluation of the anticonvulsant and muscle relaxant effects of the methanol root bark extracts of *Annona senegalensis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 25-28.

- Okoye, T. C., Akah, P. A., Ezike, A. C., Okoye, M. O., Onyeto, C. A., Ndukwu, F., & Ikele, L. (2012). Evaluation of the acute and sub acute toxicity of *Annona senegalensis* root bark extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(4), 277-282.
- Okoye, T. C., Akah, P. A., Nworu, C. S., & Ezike, A. C. (2014). Kaurenoic Acid Isolated from the Root Bark of *Annona senegalensis* Induces Cytotoxic and Antiproliferative Effects against PANC-1 and HeLa cells. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(5), 579-589.
- Okoye, T. C., Akah, P. A., Okoli, C. O., Ezike, A. C., Omeje, E. O., & Odoh, U. E. (2012). Antimicrobial Effects of a Lipophilic Fraction and Kaurenoic Acid Isolated from the Root Bark Extracts of *Annona senegalensis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 25-34.
- Okoye, T. C., Akah, P. A., Omeje, E. O., Okoye, F. B., & Nworu, C. S. (2013). Anticonvulsant effect of kaurenoic acid isolated from the root bark of *Annona senegalensis*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 109, 38-43.
- Olefsky, J. M., & Glass, C. K. (2010). Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annual review of physiology*, 72, 219-246.
- OMS. (2014). *Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014–2023*. Hong Kong: Organisation mondiale de la Santé.
- Onwusonye, J. C., Uwakwe, A. A., & Iwuanyanwu, P. (2014). (2014). Effect of *Alstonia Boonei* and *Annona Senegalensis* Combination on Histopathological Damages Caused by *Plasmodium Berghei* in the Liver of Infected Albino Mice. *International Journal of Innovative Research and Development*, 3(6), 334-336.
- Onwusonye, J. C., Uwakwe, A. A., Iwuanyanwu, P., & Iheagwam, U. (2014). Oral acute toxicity (LD50) study of methanol extract of *Annona senegalensis* leaf in albino mice. *Sky Journal of Biochemistry Research*, 3(5), 46-48.
- Orliaguet, G., Gall, O., & Lambert-Benabess, F. (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Mapar*, 557-571.
- Ouattara, F. O. (2005). Traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles au Mali : étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Annona senegalensis* L. (ANNONACEAE) et *Stachytarpheta angustifolia* V ALH (VERBENACEAE). (65), 223. Bamako (Mali), Mali: Thèse de pharmacie N°65.
- Parle, M., & Yadav, M. (2013). Laboratory models for screening analgesics. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(1), 15-19.
- Parne, M., & Yadav, M. (2013). Laboratory models for screening analgesics. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(1), 15-19.
- Patel, M., Murugananthan, G., & Gowda, K. P. (2012). In Vivo Animal Models in Preclinical Evaluation of Anti-Inflammatory Activity- A Review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 1(2), 1-5.

- Philipov, S., Kande, K., & Machev, K. (1995). Alkaloids of *Annona senegalensis*. *Fitoterapia*, *66*(3), 275-276.
- Pinto, A. D., Cordeiro, M. C., De Andrade, S. R., Ferreira, F. R., Filgueiras, H. A., Alves, R. E., & Haq, N. (2005). *Annona species* (éd. 1e édition). University of Southampton: International Centre for Underutilised Crops.
- Pomié, C., Vicente, R., Vuddamalay, Y., Lundgrend, B. A., Van Der Hoek, M., Enault, G., Kagan, J., Fazilleau, N., Scott, H. S., Romagnoli, P., Van Meerwijk, J. P. (2011). Autoimmune regulator (AIRE)-deficient CD8<sup>+</sup>CD28<sup>low</sup> regulatory T lymphocytes fail to control experimental colitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 12437-12442.
- Potchoo, Y., Guissou, I. P., Lompo, M., Sakie, E., & Yaro, B. (2008). Antioxidant activity of aqueous methanol and ethyl acetate extract of leaves of *Annona senegalensis* Pers from Togo versus the one originates from Burkina Faso. *International Journal of Pharmacology*, *4*(2), 120-124.
- Pousset, J. L. (2006). Place des médicaments traditionnels en Afrique. Politiques Nationales. *Méd. Trop*, *66*(6), 606-609.
- Prin, L., Hachulla, E., Hennache, B., Bonnotte, B., Dubucquoi, S., Abbal, M., & Faure, G. (2006). Réaction inflammatoire.
- Qatanani, M., & Lazar, M. A. (2007). Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes & development*, *21*(12), 1443-1455.
- Ramírez-Cisneros, M. Á., Rios, M. Y., Ríos-Gómez, R., & Aguilar-Guadarrama, A. B. (2012). Cycloartanes from *Krameria pauciflora* and their in vitro PLA<sub>2</sub>, COX-1, and COX-2 enzyme inhibitory activities. *Planta medica*, *78*(18), 1942-1948.
- Raouf, R., Quick, K., & Wood, J. N. (2010). Pain as a channelopathy. *The Journal of clinical investigation*, *120*(11), 3745-3752.
- Raymondjean, M. (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires*, *2007*(389), 21-28.
- Recio, M. D., Giner, R. M., Manez, S., Gueho, J., Julien, H. R., Hostettmann, K., & Rios, J. L. (1995). Investigations on the steroidal anti-inflammatory activity of triterpenoids from *Diospyros leucomelas*. *Planta medica*, *61*(1), 9-12.
- Reimund, J. M., Duclos, B., Dumont, S., Muller, C., Baumann, R., & Poindron, P. (1997). L'interleukine-8 est un médiateur inflammatoire important au cours de la rectocolite hémorragique et de la maladie de Crohn. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, *21*, 131-137.
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *31*(5), 986-1000.
- Ridker, P. M., Rifai, N., Rose, L., Buring, J. E., & Cook, N. R. (2002). Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *New England journal of medicine*, *347*(20), 1557-1565.



- Rosland, J. H., Tjølsen, J. H., Mæhle, B., & K., H. (1990). The formalin test in mice : effects of formalin concentration. *Pain*, 42, 235-242.
- Rukayyah, S., & Onyinyechi, M. (2016). Determination of acute toxicity and effects of dried carpel of *Annona senegalensis* extract on alkaline phosphatase, amino transferases and body weight in mice. *International Journal of Nutrition and Metabolism Research*, 1(1), 1-11.
- Russo-Marie, F. (1998). *L'inflammation* (éd. 1ère édition). Paris: John Libbey Eurotext.
- Sahpaz, S., Bories, C., Loiseau, P., Cortès, D., Hocquemiller, R., & Laurens, A. (1994). Cytotoxic and Antiparasitic Activity from *Annona senegalensis*. *Planta Medica*, 60(6), 538-540.
- Sahpaz, S., Carmen, G., Hocquemiller, R., Zafra-Polo, M., & Cortes, D. (1996). Annosenegalin and annogalene: Two cytotoxic monotetrahydrofuran acetogenins from *Annona senegalensis* and *Annona cherimolia*. *Phytochemistry*, 42(1), 103-107.
- Sambou, M. (1998). *Enquêtes ethnopharmacologiques en milieu diola (Casamance). Exemple de 78 plantes médicinales sénégalaises utilisées dans la thérapeutique des plaies et brûlures*. Dakar (Sénégal): Thèse de pharmacie n°21.
- Samuel, V. T., & Shulman, G. I. (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, 148(5), 852-871.
- Scarpati, E. M., & Sadler, J. E. (1989). Modulation of tissue factor, plasminogen activator inhibitors, and thrombomodulin by phorbol 12-myristate 13-acetate and tumor necrosis factor. *Journal of Biological Chemistry*, 264(34), 20705-20713.
- Schumacher, G. A., Goodell, H., Hardy, J. D., & Wolff, H. G. (1940). Uniformity of the pain threshold in man. *Science*, 92, 110-112.
- Scrive, R., Vasile, M., Bartosiewicz, I., & Valesini, G. (2011). Inflammation as “common soil” of the multifactorial diseases. *Autoimmunity reviews*, 10(7), 369-374.
- Seltzer, Z. E., Dubner, R., & Shir, Y. (1990). A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain*, 43(2), 205-218.
- Sethi, G., Shanmugam, M. K., Ramachandran, L., Kumar, A. P., & Tergaonkar, V. (2012). Multifaceted link between cancer and inflammation. *Bioscience reports*, 32(1), 1-15.
- Sewell, R. D., & Spencer, P. (1976). Antinociceptive activity of narcotic agonist and partial agonist analgesics and other agents in the tail-immersion test in mice and rats. *Neuropharmacology*, 15, 683-688.
- Shah, B. N., Seth, A. K., & Maheshwari, K. M. (2011). A review on medicinal plants as a source of anti-inflammatory agents. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5(2), 101–115.
- Shaikh, P. Z., Sharma, M., Shah, A., Sharma, P., & Darwhekar, G. N. (2011). Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: A review . *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 2(11), 1247-1263.

- Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H., & Inoki, R. (1989). Modified formalin test : characteristic biphasic pain response. *Pain*, 38, 347-352.
- Shull, M., Ormsby, I., & Kier, A. (1992). Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*, 359, 693-699.
- Sibilia, J. (2007). comment définir et classer les maladies inflammatoires ? *Revue du Rhumatisme*, 74, 714-725.
- Stevens, A., & Lowe, J. (2001). *Anatomie pathologique générale et spéciale* (éd. 1e édition). De Boeck Supérieur.
- Suleiman, M. M., Dzenda, T., & Sani, C. A. (2008). Antidiarrhoeal activity of the methanol stem-bark extract of *Annona senegalensis* pers. (Annonaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 125-130.
- Suleiman, M. M., Mamman, M., Igomu, E. E., Muhammad, Y., Abdullahi, A., & Talba, A. M. (2014). Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effects of the crude methanol extract of the stem-bark of *Annona senegalensis* Pers. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 4(2), 88-96.
- Talbert, M., Willoquet, G., & Gervais, R. (2009). *Le guide pharmaco clinique*. France: Le Moniteur des pharmacies.
- Tedgui, A., & Mallat, Z. (2001). Athérosclérose et inflammation. *médecine/sciences*, 17(2), 162-169.
- Thériault, O. (2014). Implication des canaux sodiques dans la transmission de l'influx nociceptif périphérique et leurs modulations pharmacologiques. Québec: Thèse doctorat en médecine expérimentale, Université Laval.
- Thibault, K. (2009). Etude comparative de trois modèles de douleurs neuropathiques chez le rat : étude comportementale, pharmacologique et analyse transcriptomique. Paris: Thèse Doctorat, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
- Tijjani, M. A., Abdurahaman, F. I., Abba, Y. S., Idris, A., Baburo, B., Mala, G., Dungus, M.H.M., Aji, B.M., Abubakar, K. I. (2013). Evaluation of Proximate and Phytochemical Composition of leaves of *Annona senegalensis*. *Journal of Pharmaceutical & Scientific Innovation*, 2(1), 7-9.
- Tornatore, L., Thotakura, A. K., Bennett, J., Moretti, M., & Franzoso, G. (2012). The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. *Trends in Cell Biology*, 22(11), 557-566.
- Toyang, N. J., Nuwanyakpa, M., Ndi, C., Django, S., & Kinyuy, W. C. (1995). Ethnoveterinary medicine practices in the Northwest province of Cameroon. *Indigenous Knowledge and Development Monitor*, 3(3), 20-22.
- Traore, M. S., Baldé, M. A., Diallo, M. S., Baldé, E. S., Diané, S., Camara, A., Diallo, A., Balde, A., Keïta, A., Keita, S.M., Oularé, K., Magassouba, F.B., Diakité, I. Diallo, A., Pieters, L. Baldé, A. (2013). Ethnobotanical survey on medicinal plants used by Guinean traditional healers in the treatment of malaria. *Journal of ethnopharmacology*, 150(3), 1145-1153.

- Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., & Coulibaly, A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied Biosciences*, *58*, 4234-4242.
- Trape, J. F., Pison, G., Guyavarch, E., & Mane, Y. (2001). High mortality from snakebite in south-eastern Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *95*(4), 420-423.
- Van de Weerd, M. L., Desmecht, D., & Lekeux, P. (1995). Physiologie et physiopathologie du facteur d'activation plaquettaire et perspectives thérapeutiques de ses antagonistes. In *Annales de Médecine Vétérinaire*, *139*, 99-119.
- Van Steenwinckel, J. B., Fischer, J., Verge, D., Gingrich, J. A., Bourgoïn, S., Hamon, M., Bernard, R., Conrath, M. (2008). Role of spinal serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor in 2',3'dideoxycytidine-induced neuropathic pain in the rat and the mouse. *Pain*, *137*(1), 66-80.
- Vane, J. R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, *231*(25), 232–235.
- Vishwanath, B. S., Fawzy, A. A., & Franson, R. C. (1988). Edema-inducing activity of phospholipase A<sub>2</sub> purified from human synovial fluid and inhibition by aristolochic acid. *Inflammation*, *12*(6), 549-561.
- Vogel, H. G. (2008). *Drug Discovery and Evaluation : Pharmacological Assays* (éd. 3e édition). New York: Springer.
- Vos, B. P., Strassman, A. M., & Maciewicz, R. J. (1994). Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. *The Journal of neuroscience*, *14*(5), 2708-2723.
- Vuillet-A-Ciles, H., & Billet, F. (2013). L'essentiel pour comprendre la douleur. *Actualités pharmaceutiques*, *52*(527), 18-20.
- Vyklicky, L. (1979). Techniques for the study of pain in animals. Dans J. J. Bonica, J. C. Liebeskind, & D. G. Albe-Fessard (Éds.), *Advances in pain research and therapy* (Vol. 3, pp. 727-745). New York: Raven Press.
- Wall, P. (1978). The gate control theory of pain mechanisms: are-examination and re-statement. *Brain*, *101*, 1-18.
- Wélé, A., Zhang, Y., Caux, C., Brouard, J. P., Dubost, L., Guette, C., Pousset, J.L., Badiane, M., Bodo, B. (2002). Isolation and structure of cycloenegalins A and B, novel cyclopeptides from the seeds of *Annona senegalensis*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*(23), 2712-2718.
- Wheeler-Aceto, H., & Cowan, A. (1991). Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacology (Berl)*, *104*, 35-44.
- WHO. (2014). A global brief on vector-borne diseases. *World Health Organization*, 1-56.

- Wilhelmi, G. (1949). Ueberdiepharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreihe. *Schweiz Med Wschr*, 79, 577–582 .
- Windebank, A. J. (1999). Chemotherapeutic neuropathy. *Current opinion in neurology*, 12(5), 565-571.
- Winter, C. A., & Flataker, L. (1965). Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaws of rats and responses to analgesic drugs. *ournal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 150(1), 165-171.
- Winter, C. A., Risley, F. A., & Nuss, G. (1962). Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Experimental Biology and Medicine*, 111(3), 544-547.
- Wolff, H. G., Hardy, J. D., & Goodell, H. (1940). Studies on pain. Measurement of the effect of morphine, codeine, and other opiates on the pain threshold and an analysis of their relation to the pain experience. *Journal of Clinical Investigation*, 19(4), 659-680.
- Woolfe, G., & Mac Donald, A. L. (1944). The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80(3), 300-307.
- Yashpal, K., & Coderre, T. J. (1998). Influence of formalin concentration on the antinociceptive effects of anti-inflammatory drugs in the formalin test in rats : separate mechanisms underlying the nociceptive effects of low- and high-concentration formalin. *European Journal of Pain*, 2(1), 63-68.
- Yeo, D., Dinica, R., Yapi, H. F., Furdui, B., Praisler, M., Djaman, A. J., & N'Guessan, J. D. (2011). Evaluation of the anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Annona senegalensis* leaves. *Thérapie*, 66(1), 73-80.
- Yisa, J., Egila, J. N., & Darlinton, A. O. (2010). Chemical composition of *Annona senegalensis* from Nupe land, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 9(26), 4106-4109.
- You, M., Wickramaratne, D. M., Silva, G. L., Chai, H., Chagwedera, T. E., Farnsworth, N. R., Cordell, G.A., Kinghorn, A.D. Pezzuto, J. M. (1995). (-)-Roemerine, an aporphine alkaloid from *Annona senegalensis* that reverses the multidrug-resistance phenotype with cultured cells. *Journal of natural products*, 58(4), 598-604.
- Zahn, P. K., Gysbers, D., & Brennan, T. J. (1997). Effect of systemic and intrathecal morphine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology*, 86, 1066-1077.

## Webographie

- Boissier, M.-C. (2013, Octobre 24). *Maladies Inflammatoires : un bien qui tourne mal!* Huffington Post. Consulté le Septembre 15, 2016, sur [http://www.huffingtonpost.fr/mariechristophe-boissier/maladies-inflammatoires-u\\_b\\_4154699.html](http://www.huffingtonpost.fr/mariechristophe-boissier/maladies-inflammatoires-u_b_4154699.html)

- Collège Français des Pathologistes (CoPath). (2012, Juillet 1). *Université Numérique Francophone des Sciences de la Santé et du Sport*. Consulté le Juillet 30, 2016, sur [http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath\\_3/site/html/cours.pdf](http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_3/site/html/cours.pdf)
- Gougerot-Pocidallo, M., Prin, L., & Chollet-Martin, S. (2011, Octobre 2). *assim*. Consulté le Août 28, 2016, sur [http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02\\_files/page82-11.-polynucleaires-monocytes-et-macrophages.pdf](http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-11.-polynucleaires-monocytes-et-macrophages.pdf)
- King, M. W. (2016, mai 6). *The medical biochemistry page*. Consulté le Août 2, 2016, sur <http://themedicalbiochemistrypage.org/eicosanoids.php>
- Larsonneur, R. (2017). France Hypnose Formation. Consulté le Février 9, 2017, sur <http://france-hypnose-formation.com/formations/douleur-et-hypnose/>
- Lazorthes, Y. (2010, Janvier 27). *www.medecine.ups-tlse.fr*. Consulté le Février 2, 2017, sur [http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module6/arielle/chapitre\\_01.pdf](http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module6/arielle/chapitre_01.pdf)
- Mann, C. (2012, Novembre 15). Soins palliatifs - Accompagnement - UFR de Médecine - UM1. Consulté le Août 30, 2016, sur [http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle\\_2/MID/Ressources\\_locales/Spal/MID\\_Spal\\_Item\\_65-1\\_Douleur\\_%20bases\\_neurophysiologiques.pdf](http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_2/MID/Ressources_locales/Spal/MID_Spal_Item_65-1_Douleur_%20bases_neurophysiologiques.pdf)
- Mathieu, M., & Guimezanes, A. (2011, Avril 11). Inflammation et maladies : clés de compréhension Inserm. Consulté le Janvier 6, 2015, sur Site Web Inserm: <http://www.inserm.fr/associations-de-malades/seminaires-de-formation-ketty-schwartz/inflammation-et-maladies-cles-de-comprehensio>
- Nutranews. (2003, Novembre). NUTRANEWS Science, Nutrition, Prévention et Santé. Consulté le Août 9, 2016, sur <http://www.nutranews.org/data/pdf/numeros/fr/nutranews200311.pdf>
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. (2009). *World Agroforestry Centre*. Consulté le Juillet 16, 2015, sur World Agroforestry Centre: <http://www.worldagroforestry.org/treedb2/speciesprofile.php?Spid=213>
- Rousselet, M., Vignaud, J., Hofman, P., & Chatelet, F. (2005, Mai). *Inflammation et pathologie inflammatoire*. Consulté le Juillet 31, 2016, sur site Web medidacte.timone.univ-mrs.fr: <http://umvf.irenala.edu.mg/UMVFmiroir/campus-numeriques/campus-anatomie-pathologie/disciplines/niveaudiscipline/niveaumodule/chapitre3/leconimprim.pdf>

## **Annexes**

## **Annexe 1 : Tableaux**

Tableau VII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration de l'eau physiologique (10 mL/kg, per os)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	153	0,89	1,59	<b>78,65</b>	1,93	<b>116,85</b>	1,98	<b>122,47</b>	2,04	<b>129,21</b>	2,1	<b>135,96</b>
R2	135	0,87	1,08	<b>24,14</b>	1,17	<b>34,48</b>	1,26	<b>44,83</b>	1,37	<b>57,47</b>	1,59	<b>82,76</b>
R3	133	0,84	1,29	<b>53,57</b>	1,33	<b>58,33</b>	1,47	<b>75,00</b>	1,54	<b>83,33</b>	1,62	<b>92,86</b>
R4	111	0,76	1,14	<b>50,00</b>	1,17	<b>53,95</b>	1,3	<b>71,05</b>	1,47	<b>93,42</b>	1,53	<b>101,32</b>
R5	129	0,91	1,09	<b>19,78</b>	1,5	<b>64,84</b>	1,75	<b>92,31</b>	1,84	<b>102,20</b>	1,86	<b>104,40</b>
<b>Moyenne % AUG</b>				<b>45,23</b>		<b>65,69</b>		<b>81,13</b>		<b>93,13</b>		<b>103,46</b>
<b>ESM</b>				<b>10,73</b>		<b>13,76</b>		<b>12,83</b>		<b>11,73</b>		<b>8,95</b>

Tableau VIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de l'acide acétylsalicylique (1 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	103	0,69	0,825	<b>19,57</b>	0,865	<b>25,36</b>	0,895	<b>29,71</b>	1,14	<b>65,22</b>	1,155	<b>67,39</b>
R2	128	0,94	1,08	<b>14,89</b>	1,125	<b>19,68</b>	1,14	<b>21,28</b>	1,225	<b>30,32</b>	1,295	<b>37,77</b>
R3	119	0,79	1,355	<b>71,52</b>	1,415	<b>79,11</b>	1,395	<b>76,58</b>	1,45	<b>83,54</b>	1,545	<b>95,57</b>
R4	117	0,785	0,905	<b>15,29</b>	0,97	<b>23,57</b>	1,015	<b>29,30</b>	1,045	<b>33,12</b>	1,09	<b>38,85</b>
R5	133	0,91	1,13	<b>24,18</b>	1,135	<b>24,73</b>	1,19	<b>30,77</b>	1,215	<b>33,52</b>	1,22	<b>34,07</b>
<b>Moyenne % AUG</b>				<b>29,09</b>		<b>34,49</b>		<b>37,53</b>		<b>49,14</b>		<b>54,73</b>
<b>ESM</b>				<b>10,74</b>		<b>11,19</b>		<b>9,91</b>		<b>10,71</b>		<b>11,82</b>



Tableau IX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de l'acide acétylsalicylique (10 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	145	1,04	1,08	<b>3,85</b>	1,13	8,65	1,21	<b>16,35</b>	1,21	16,35	1,32	<b>26,92</b>
<b>R2</b>	119	1,07	1,15	<b>7,48</b>	1,19	11,21	1,27	<b>18,69</b>	1,78	66,36	1,83	<b>71,03</b>
<b>R3</b>	119	0,95	1,03	<b>8,42</b>	1,1	15,79	1,2	<b>26,32</b>	1,52	60,00	1,77	<b>86,32</b>
<b>R4</b>	129	1,02	1,05	<b>2,94</b>	1,09	6,86	1,14	<b>11,76</b>	1,25	22,55	1,53	<b>50,00</b>
<b>R5</b>	124	0,98	1,07	<b>9,18</b>	1,11	13,27	1,22	<b>24,49</b>	1,58	61,22	1,66	<b>69,39</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>6,37</b>		11,16		<b>19,52</b>		45,29		<b>60,73</b>
<b>ESM</b>				<b>1,25</b>		1,59		<b>2,66</b>		10,65		<b>10,23</b>

Tableau X : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de l'acide acétylsalicylique (30 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	129	0,87	1,11	<b>27,59</b>	1,09	<b>25,29</b>	1,08	<b>24,14</b>	1,35	<b>55,17</b>	1,55	<b>78,16</b>
<b>R2</b>	140	0,93	1,04	<b>11,83</b>	1,02	<b>9,68</b>	1,04	<b>11,83</b>	1,21	<b>30,11</b>	1,29	<b>38,71</b>
<b>R3</b>	138	0,91	1,02	<b>12,09</b>	1,05	<b>15,38</b>	1,02	<b>12,09</b>	1,12	<b>23,08</b>	1,28	<b>40,66</b>
<b>R4</b>	124	0,9	1,03	<b>14,44</b>	1,03	<b>14,44</b>	1,06	<b>17,78</b>	1,24	<b>37,78</b>	1,35	<b>50,00</b>
<b>R5</b>	148	0,88	1,02	<b>15,91</b>	1,03	<b>17,05</b>	1,07	<b>21,59</b>	1,1	<b>25,00</b>	1,26	<b>43,18</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>16,37</b>		<b>16,37</b>		<b>17,48</b>		<b>34,23</b>		<b>50,14</b>
<b>ESM</b>				<b>2,90</b>		<b>2,54</b>		<b>2,47</b>		<b>5,82</b>		<b>7,26</b>

Tableau XI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de l'acide acétylsalicylique (100 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	148	1,11	1,13	<b>1,80</b>	1,19	7,21	1,25	<b>12,61</b>	1,38	24,32	1,51	<b>36,04</b>
R2	128	1,15	1,18	<b>2,61</b>	1,19	3,48	1,23	<b>6,96</b>	1,34	16,52	1,4	<b>21,74</b>
R3	127	1,04	1,1	<b>5,77</b>	1,1	5,77	1,11	<b>6,73</b>	1,16	11,54	1,22	<b>17,31</b>
R4	136	1,02	1,07	<b>4,90</b>	1,19	16,67	1,4	<b>37,25</b>	1,5	47,06	1,51	<b>48,04</b>
R5	129	1,07	1,09	<b>1,87</b>	1,13	5,61	1,26	<b>17,76</b>	1,3	21,50	1,46	<b>36,45</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>3,39</b>		7,75		<b>16,26</b>		24,19		<b>31,91</b>
<b>ESM</b>				<b>0,82</b>		<b>2,31</b>		<b>5,63</b>		<b>6,12</b>		<b>5,54</b>

Tableau XII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de bétaméthasone (300 µg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	110	0,77	0,88	<b>14,29</b>	0,83	7,79	0,79	<b>1,95</b>	0,90	16,88	1,01	<b>31,17</b>
R2	120	0,87	1,06	<b>22,54</b>	1,09	25,43	1,01	<b>16,76</b>	1,16	33,53	1,09	<b>26,01</b>
R3	139	0,93	1,08	<b>16,13</b>	1,07	14,52	0,97	<b>3,76</b>	1,05	12,37	1,07	<b>15,05</b>
R4	138	0,94	1,06	<b>12,23</b>	1,11	18,09	1,06	<b>12,77</b>	1,06	12,77	1,08	<b>14,36</b>
R5	143	0,91	1,11	<b>22,65</b>	1,07	18,23	1,01	<b>11,05</b>	1,07	18,23	1,15	<b>26,52</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>17,57</b>		16,81		<b>9,26</b>		18,75		<b>22,62</b>
<b>ESM</b>				<b>2,14</b>		<b>2,87</b>		<b>2,79</b>		<b>3,86</b>		<b>3,36</b>

**Tableau XIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de bétaméthasone (1 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	173	1,05	1,205	<b>14,76</b>	1,175	<b>11,90</b>	1,24	<b>18,10</b>	1,275	<b>21,43</b>	1,29	<b>22,86</b>
R2	143	0,95	1,09	<b>14,74</b>	1,125	<b>18,42</b>	1,19	<b>25,26</b>	1,215	<b>27,89</b>	1,13	<b>18,95</b>
R3	141	1,03	1,145	<b>11,17</b>	1,115	<b>8,25</b>	1,175	<b>14,08</b>	1,215	<b>17,96</b>	1,23	<b>19,42</b>
R4	126	0,795	1,045	<b>31,45</b>	0,995	<b>25,16</b>	0,99	<b>24,53</b>	1,06	<b>33,33</b>	1,105	<b>38,99</b>
R5	110	0,905	1,1	<b>21,55</b>	1,025	<b>13,26</b>	0,975	<b>7,73</b>	1,05	<b>16,02</b>	1,06	<b>17,13</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>18,73</b>		<b>15,40</b>		<b>17,94</b>		<b>23,33</b>		<b>23,47</b>
<b>ESM</b>				3,60		2,93		3,29		3,22		3,99

**Tableau XIV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de bétaméthasone (3 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	124	0,99	1,135	<b>14,65</b>	1,12	<b>13,13</b>	1,12	<b>13,13</b>	1,11	<b>12,12</b>	1,125	<b>13,64</b>
R2	115	0,74	0,945	<b>27,70</b>	0,97	<b>31,08</b>	0,82	<b>10,81</b>	0,905	<b>22,30</b>	0,94	<b>27,03</b>
R3	145	0,865	1,045	<b>20,81</b>	1,09	<b>26,01</b>	1,03	<b>19,08</b>	1,05	<b>21,39</b>	1,13	<b>30,64</b>
R4	120	0,965	1,05	<b>8,81</b>	1,01	<b>4,66</b>	1,11	<b>15,03</b>	1,09	<b>12,95</b>	1,02	<b>5,70</b>
R5	120	0,75	0,95	<b>26,67</b>	0,94	<b>25,33</b>	0,925	<b>23,33</b>	0,93	<b>24,00</b>	0,94	<b>25,33</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>19,73</b>		<b>20,04</b>		<b>16,28</b>		<b>18,55</b>		<b>20,47</b>
<b>ESM</b>				3,59		4,85		2,22		2,49		4,66

**Tableau XV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de E-101 (30 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	134	0,99	1,06	<b>7,07</b>	1,31	32,32	1,42	<b>43,43</b>	1,78	79,80	1,89	<b>90,91</b>
<b>R2</b>	126	0,79	0,98	<b>24,05</b>	1,04	31,65	1,14	<b>44,30</b>	1,37	73,42	1,41	<b>78,48</b>
<b>R3</b>	135	0,86	0,96	<b>11,63</b>	1,22	41,86	1,19	<b>38,37</b>	1,4	62,79	1,56	<b>81,40</b>
<b>R4</b>	134	0,94	0,98	<b>4,26</b>	1,05	11,70	1,15	<b>22,34</b>	1,25	32,98	1,29	<b>37,23</b>
<b>R5</b>	125	0,92	1,07	<b>16,30</b>	1,03	11,96	1,12	<b>21,74</b>	1,23	33,70	1,28	<b>39,13</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>12,66</b>		25,90		<b>34,04</b>		56,54		<b>65,43</b>
<b>ESM</b>				<b>3,51</b>		6,02		<b>5,00</b>		9,85		<b>11,32</b>

**Tableau XVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de E-101 (100 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	120	0,695	0,955	<b>37,41</b>	1,05	51,08	1,085	<b>56,12</b>	1,085	56,12	1,07	<b>53,96</b>
<b>R2</b>	143	0,745	0,87	<b>16,78</b>	1,075	44,30	1,075	<b>44,30</b>	1,08	44,97	1,08	<b>44,97</b>
<b>R3</b>	165	0,895	1,025	<b>14,53</b>	1,3	45,25	1,31	<b>46,37</b>	1,33	48,60	1,33	<b>48,60</b>
<b>R4</b>	140	0,815	0,965	<b>18,40</b>	1,01	23,93	1,01	<b>23,93</b>	1,02	25,15	1,01	<b>23,93</b>
<b>R5</b>	140	0,69	0,845	<b>22,46</b>	1,025	48,55	1,03	<b>49,28</b>	1,025	48,55	1,01	<b>46,38</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>21,92</b>		42,62		<b>44,00</b>		44,68		<b>43,57</b>
<b>ESM</b>				<b>4,08</b>		4,83		<b>5,40</b>		5,21		<b>5,14</b>

**Tableau XVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de E-101 (300 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	144	0,78	1,12	<b>43,59</b>	1,18	51,28	1,33	<b>70,51</b>	1,55	98,72	1,6	<b>105,13</b>
<b>R2</b>	124	0,82	1,08	<b>31,71</b>	1,2	46,34	1,56	<b>90,24</b>	1,73	110,98	1,8	<b>119,51</b>
<b>R3</b>	156	1,02	1,19	<b>16,67</b>	1,32	29,41	1,36	<b>33,33</b>	1,53	50,00	1,67	<b>63,73</b>
<b>R4</b>	146	0,95	1,09	<b>14,74</b>	1,34	41,05	1,56	<b>64,21</b>	1,62	70,53	1,73	<b>82,11</b>
<b>R5</b>	126	0,88	0,93	<b>5,68</b>	1,13	28,41	1,52	<b>72,73</b>	1,63	85,23	1,75	<b>98,86</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>22,48</b>		39,30		<b>66,21</b>		83,09		<b>93,87</b>
<b>ESM</b>				<b>6,73</b>		4,54		<b>9,28</b>		10,68		<b>9,63</b>

**Tableau XVIII :Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101 (1 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	190	0,95	1,445	<b>52,11</b>	1,685	<b>77,37</b>	1,885	<b>98,42</b>	2,05	<b>115,79</b>	2,045	<b>115,26</b>
<b>R2</b>	146	0,805	0,92	<b>14,29</b>	1,09	<b>35,40</b>	1,09	<b>35,40</b>	1,19	<b>47,83</b>	1,22	<b>51,55</b>
<b>R3</b>	185	0,8	1,445	<b>80,63</b>	2,015	<b>151,88</b>	2,015	<b>151,88</b>	1,975	<b>146,88</b>	1,995	<b>149,38</b>
<b>R4</b>	137	0,77	0,99	<b>28,57</b>	1,16	<b>50,65</b>	1,43	<b>85,71</b>	1,45	<b>88,31</b>	1,46	<b>89,61</b>
<b>R5</b>	160	0,86	1,07	<b>24,42</b>	1,14	<b>32,56</b>	1,155	<b>34,30</b>	1,16	<b>34,88</b>	1,195	<b>38,95</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>40,00</b>		<b>69,57</b>		<b>81,14</b>		<b>86,74</b>		<b>88,95</b>
<b>ESM</b>				<b>11,90</b>		22,06		<b>21,92</b>		<b>20,82</b>		<b>20,30</b>

**Tableau XIX :Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101 (3 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	110	0,78	0,855	<b>9,62</b>	0,84	<b>7,69</b>	0,84	<b>7,69</b>	0,87	<b>11,54</b>	0,865	<b>10,90</b>
R2	149	0,915	0,96	<b>4,92</b>	1,025	<b>12,02</b>	1,135	<b>24,04</b>	1,215	<b>32,79</b>	1,265	<b>38,25</b>
R3	140	0,9	0,95	<b>5,56</b>	0,98	<b>8,89</b>	1,105	<b>22,78</b>	0,985	<b>9,44</b>	1,09	<b>21,11</b>
R4	120	0,9	0,915	<b>1,67</b>	1,015	<b>12,78</b>	1,12	<b>24,44</b>	1,23	<b>36,67</b>	1,265	<b>40,56</b>
R5	130	0,81	0,835	<b>3,09</b>	0,895	<b>10,49</b>	0,985	<b>21,60</b>	0,915	<b>12,96</b>	0,915	<b>12,96</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>4,97</b>		<b>10,37</b>		<b>20,11</b>		<b>20,68</b>		<b>24,76</b>
<b>ESM</b>				<b>1,35</b>		1,06		<b>3,14</b>		<b>6,48</b>		<b>6,23</b>

**Tableau XX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101 (10 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	120	0,905	1,105	<b>22,10</b>	1,3	<b>43,65</b>	1,455	<b>60,77</b>	1,49	<b>64,64</b>	1,46	<b>61,33</b>
R2	144	0,93	1,065	<b>14,52</b>	1,155	<b>24,19</b>	1,195	<b>28,49</b>	1,305	<b>40,32</b>	1,285	<b>38,17</b>
R3	130	0,97	1,12	<b>15,46</b>	1,155	<b>19,07</b>	1,205	<b>24,23</b>	1,24	<b>27,84</b>	1,34	<b>38,14</b>
R4	115	0,735	0,94	<b>27,89</b>	0,945	<b>28,57</b>	1,01	<b>37,41</b>	1,01	<b>37,41</b>	0,995	<b>35,37</b>
R5	144	0,76	1	<b>31,58</b>	1,095	<b>44,08</b>	1,5	<b>97,37</b>	1,5	<b>97,37</b>	1,425	<b>87,50</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>22,31</b>		<b>31,91</b>		<b>49,66</b>		<b>53,52</b>		<b>52,10</b>
<b>ESM</b>				<b>3,35</b>		5,71		<b>13,50</b>		<b>14,01</b>		<b>10,02</b>

**Tableau XXI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101 (30 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	125	0,78	1,07	<b>37,18</b>	1,175	<b>50,64</b>	1,225	<b>57,05</b>	1,36	<b>74,36</b>	1,345	<b>72,44</b>
R2	139	0,82	1,015	<b>23,78</b>	1,12	<b>36,59</b>	1,305	<b>59,15</b>	1,355	<b>65,24</b>	1,345	<b>64,02</b>
R3	127	0,91	1,135	<b>24,73</b>	1,135	<b>24,73</b>	1,235	<b>35,71</b>	1,345	<b>47,80</b>	1,355	<b>48,90</b>
R4	130	0,825	1,01	<b>22,42</b>	1,01	<b>22,42</b>	1,255	<b>52,12</b>	1,22	<b>47,88</b>	1,255	<b>52,12</b>
R5	134	0,795	0,995	<b>25,16</b>	0,995	<b>25,16</b>	1,165	<b>46,54</b>	1,22	<b>53,46</b>	1,215	<b>52,83</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>26,65</b>		<b>31,91</b>		<b>50,11</b>		<b>57,75</b>		<b>58,06</b>
<b>ESM</b>				<b>2,67</b>		5,29		<b>4,21</b>		<b>5,23</b>		<b>4,41</b>

**Tableau XXII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-102 (10 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	138	1	1,04	<b>4,00</b>	1,22	<b>22,00</b>	1,36	<b>36,00</b>	1,43	<b>43,00</b>	1,76	<b>76,00</b>
R2	138	1,07	1,2	<b>12,15</b>	1,62	<b>51,40</b>	1,74	<b>62,62</b>	1,8	<b>68,22</b>	2,16	<b>101,87</b>
R3	153	1,06	1,08	<b>1,89</b>	1,43	<b>34,91</b>	1,62	<b>52,83</b>	1,71	<b>61,32</b>	1,89	<b>78,30</b>
R4	131	1,08	1,12	<b>3,70</b>	1,13	<b>4,63</b>	1,27	<b>17,59</b>	1,46	<b>35,19</b>	1,59	<b>47,22</b>
R5	129	0,95	1,07	<b>12,63</b>	1,15	<b>21,05</b>	1,28	<b>34,74</b>	1,32	<b>38,95</b>	1,6	<b>68,42</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>6,87</b>		<b>26,80</b>		<b>40,76</b>		<b>49,34</b>		<b>74,36</b>
<b>ESM</b>				<b>2,28</b>		7,81		<b>7,81</b>		<b>6,51</b>		<b>8,79</b>

Tableau XXIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-103 (1 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	185	0,91	1	<b>9,29</b>	1,14	<b>24,59</b>	1,27	<b>38,80</b>	1,31	<b>43,17</b>	1,32	<b>44,81</b>
R2	195	0,77	0,95	<b>24,03</b>	1	<b>29,87</b>	1,25	<b>62,34</b>	2	<b>159,74</b>	1,99	<b>159,09</b>
R3	147	0,72	0,84	<b>15,86</b>	1,16	<b>60,00</b>	1,17	<b>61,38</b>	1,2	<b>65,52</b>	1,21	<b>67,59</b>
R4	167	0,78	0,91	<b>15,92</b>	1,10	<b>40,51</b>	1,15	<b>47,13</b>	1,13	<b>43,95</b>	1,12	<b>43,31</b>
R5	165	0,92	1,13	<b>22,83</b>	1,21	<b>32,07</b>	1,21	<b>32,07</b>	1,22	<b>33,15</b>	1,21	<b>32,07</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>17,59</b>		<b>37,41</b>		<b>48,34</b>		<b>69,11</b>		<b>69,37</b>
<b>ESM</b>				<b>2,68</b>		6,20		<b>6,01</b>		<b>23,27</b>		<b>23,16</b>

Tableau XXIV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-103 (3 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (ml)	V <sub>1h</sub> (ml)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (ml)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (ml)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (ml)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (ml)	%AUG <sub>5</sub>
R1	130	0,84	0,86	<b>2,99</b>	0,91	<b>8,38</b>	1,00	<b>19,76</b>	1,13	<b>35,33</b>	1,09	<b>29,94</b>
R2	130	0,95	1,11	<b>17,46</b>	1,22	<b>28,57</b>	1,34	<b>41,27</b>	1,57	<b>65,61</b>	1,67	<b>76,72</b>
R3	115	0,90	1,095	<b>22,35</b>	1,22	<b>36,31</b>	1,26	<b>40,22</b>	1,44	<b>60,34</b>	1,50	<b>67,60</b>
R4	143	0,89	1	<b>12,36</b>	1,12	<b>25,28</b>	1,24	<b>38,76</b>	1,26	<b>41,01</b>	1,29	<b>44,94</b>
R5	129	0,79	1	<b>26,58</b>	1,11	<b>40,51</b>	1,33	<b>68,35</b>	1,42	<b>79,11</b>	1,45	<b>82,91</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>16,35</b>		<b>27,81</b>		<b>41,67</b>		<b>56,28</b>		<b>60,42</b>
<b>ESM</b>				<b>4,10</b>		5,56		<b>7,75</b>		<b>8,05</b>		<b>9,98</b>



Tableau XXV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-103 (10 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	120	0,85	1,04	<b>22,35</b>	0,94	<b>10,59</b>	1,01	<b>18,82</b>	1,155	<b>35,88</b>	1,09	<b>28,24</b>
R2	122	0,89	0,955	<b>7,30</b>	0,965	<b>8,43</b>	1	<b>12,36</b>	1,06	<b>19,10</b>	1,06	<b>19,10</b>
R3	122	0,975	1,145	<b>17,44</b>	1,13	<b>15,90</b>	1,195	<b>22,56</b>	1,1215	<b>15,03</b>	1,235	<b>26,67</b>
R4	120	0,87	1,025	<b>17,82</b>	1,075	<b>23,56</b>	1,185	<b>36,21</b>	1,21	<b>39,08</b>	1,26	<b>44,83</b>
R5	127	0,795	0,905	<b>13,84</b>	0,895	<b>12,58</b>	0,99	<b>24,53</b>	0,94	<b>18,24</b>	0,95	<b>19,50</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>15,75</b>		<b>14,21</b>		<b>22,90</b>		<b>25,47</b>		<b>27,67</b>
<b>ESM</b>				<b>2,51</b>		<b>2,64</b>		<b>3,92</b>		<b>4,98</b>		<b>4,67</b>

Tableau XXVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-103 (30 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	149	0,865	0,975	<b>12,72</b>	0,98	<b>13,29</b>	0,975	<b>12,72</b>	0,98	<b>13,29</b>	1	<b>15,61</b>
R2	135	0,93	0,995	<b>6,99</b>	0,995	<b>6,99</b>	1,025	<b>10,22</b>	1,095	<b>17,74</b>	1,31	<b>40,86</b>
R3	148	0,865	0,96	<b>10,98</b>	1,07	<b>23,70</b>	1,115	<b>28,90</b>	1,245	<b>43,93</b>	1,21	<b>39,88</b>
R4	135	0,815	0,91	<b>11,66</b>	0,93	<b>14,11</b>	1,17	<b>43,56</b>	1,2	<b>47,24</b>	1,255	<b>53,99</b>
R5	149	0,795	1,09	<b>37,11</b>	1,085	<b>36,48</b>	1,285	<b>61,64</b>	1,285	<b>61,64</b>	1,42	<b>78,62</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>15,89</b>		<b>18,91</b>		<b>31,41</b>		<b>36,77</b>		<b>45,79</b>
<b>ESM</b>				<b>5,39</b>		<b>5,14</b>		<b>9,66</b>		<b>9,20</b>		<b>10,28</b>

**Tableau XXVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-1 (1 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	102	0,735	0,82	<b>11,56</b>	0,965	<b>31,29</b>	1,06	<b>44,22</b>	1,09	<b>48,30</b>	1,06	<b>44,22</b>
R2	129	0,7	0,805	<b>15,00</b>	0,905	<b>29,29</b>	1,09	<b>55,71</b>	1,2	<b>71,43</b>	1,195	<b>70,71</b>
R3	133	0,745	0,9	<b>20,81</b>	1,06	<b>42,28</b>	1,205	<b>61,74</b>	1,39	<b>86,58</b>	1,49	<b>100,00</b>
R4	128	0,765	0,83	<b>8,50</b>	0,92	<b>20,26</b>	1,03	<b>34,64</b>	1,12	<b>46,41</b>	1,115	<b>45,75</b>
R5	120	0,765	0,915	<b>19,61</b>	0,96	<b>25,49</b>	1,115	<b>45,75</b>	1,21	<b>58,17</b>	1,205	<b>57,52</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>15,09</b>		<b>29,72</b>		<b>48,41</b>		<b>62,18</b>		<b>63,64</b>
<b>ESM</b>				<b>2,33</b>		<b>3,66</b>		<b>4,72</b>		<b>7,54</b>		<b>10,26</b>

**Tableau XXVIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-2 (1 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	122	0,76	0,95	<b>25,00</b>	1,165	<b>53,29</b>	1,44	<b>89,47</b>	1,555	<b>104,61</b>	1,605	<b>111,18</b>
R2	130	0,76	0,97	<b>27,63</b>	1,17	<b>53,95</b>	1,28	<b>68,42</b>	1,48	<b>94,74</b>	1,655	<b>117,76</b>
R3	125	0,84	1	<b>19,05</b>	1,06	<b>26,19</b>	1,065	<b>26,79</b>	1,25	<b>48,81</b>	1,18	<b>40,48</b>
R4	171	0,93	1,03	<b>10,75</b>	1,15	<b>23,66</b>	1,105	<b>18,82</b>	1,16	<b>24,73</b>	1,28	<b>37,63</b>
R5	155	0,945	1,34	<b>41,80</b>	1,73	<b>83,07</b>	1,965	<b>107,94</b>	2,02	<b>113,76</b>	2,32	<b>145,50</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>24,85</b>		<b>48,03</b>		<b>62,29</b>		<b>77,33</b>		<b>90,51</b>
<b>ESM</b>				<b>5,14</b>		<b>10,87</b>		<b>17,34</b>		<b>17,25</b>		<b>21,79</b>

Tableau XXIX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-3 (1 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	134	0,87	1,03	<b>18,39</b>	1,23	<b>41,38</b>	1,435	<b>64,94</b>	1,63	<b>87,36</b>	1,7	<b>95,40</b>
R2	127	0,805	0,865	<b>7,45</b>	1,05	<b>30,43</b>	1,18	<b>46,58</b>	1,255	<b>55,90</b>	1,48	<b>83,85</b>
R3	124	0,695	0,835	<b>20,14</b>	0,97	<b>39,57</b>	0,975	<b>40,29</b>	1,21	<b>74,10</b>	1,155	<b>66,19</b>
R4	133	0,8	0,95	<b>18,75</b>	1,115	<b>39,38</b>	1,25	<b>56,25</b>	1,385	<b>73,13</b>	1,39	<b>73,75</b>
R5	146	0,915	1,33	<b>45,36</b>	1,56	<b>70,49</b>	1,665	<b>81,97</b>	1,935	<b>111,48</b>	1,98	<b>116,39</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>22,02</b>		<b>44,25</b>		<b>58,01</b>		<b>80,39</b>		<b>87,12</b>
<b>ESM</b>				<b>6,26</b>		<b>6,83</b>		<b>7,31</b>		<b>9,24</b>		<b>8,81</b>

Tableau XXX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-4 (300 µg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	120	0,91	1,01	<b>10,38</b>	1,15	<b>26,23</b>	1,14	<b>24,59</b>	1,18	<b>29,51</b>	1,19	<b>30,05</b>
R2	147	0,92	1,15	<b>25,54</b>	1,31	<b>42,39</b>	1,33	<b>44,57</b>	1,41	<b>53,26</b>	1,37	<b>48,91</b>
R3	110	0,68	0,93	<b>35,77</b>	0,99	<b>45,26</b>	1,10	<b>60,58</b>	1,15	<b>68,61</b>	1,19	<b>73,72</b>
R4	124	0,77	0,96	<b>23,87</b>	1,02	<b>32,26</b>	1,01	<b>30,97</b>	1,20	<b>55,48</b>	1,26	<b>62,58</b>
R5	115	0,72	0,91	<b>26,39</b>	0,89	<b>23,61</b>	0,92	<b>28,47</b>	1,09	<b>52,08</b>	1,07	<b>48,61</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>24,39</b>		<b>33,95</b>		<b>37,84</b>		<b>51,79</b>		<b>52,78</b>
<b>ESM</b>				<b>4,07</b>		<b>4,29</b>		<b>6,61</b>		<b>6,31</b>		<b>7,36</b>

Tableau XXXI :Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-4 (1 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	123	0,845	1,145	<b>35,50</b>	1,085	<b>28,40</b>	1,075	<b>27,22</b>	1,21	<b>43,20</b>	1,27	<b>50,30</b>
R2	118	0,79	0,99	<b>25,32</b>	0,93	<b>17,72</b>	0,99	<b>25,32</b>	1,125	<b>42,41</b>	1,155	<b>46,20</b>
R3	122	0,84	0,93	<b>10,71</b>	1,01	<b>20,24</b>	0,99	<b>17,86</b>	1,01	<b>20,24</b>	0,94	<b>11,90</b>
R4	142	0,88	0,94	<b>6,82</b>	1,025	<b>16,48</b>	1,06	<b>20,45</b>	1,055	<b>19,89</b>	1,11	<b>26,14</b>
R5	130	0,94	1,06	<b>12,77</b>	1,09	<b>15,96</b>	1,15	<b>22,34</b>	1,29	<b>37,23</b>	1,265	<b>34,57</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>18,22</b>		<b>19,76</b>		<b>22,64</b>		<b>32,59</b>		<b>33,82</b>
<b>ESM</b>				<b>5,32</b>		<b>2,28</b>		<b>1,67</b>		<b>5,22</b>		<b>6,95</b>

Tableau XXXII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-4 (3 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
R1	109	0,72	0,95	<b>31,72</b>	0,99	<b>37,24</b>	1,07	<b>47,59</b>	1,00	<b>38,62</b>	1,12	<b>54,48</b>
R2	179	0,82	1,26	<b>53,33</b>	1,42	<b>72,73</b>	1,44	<b>74,55</b>	1,49	<b>81,21</b>	1,69	<b>105,45</b>
R3	145	0,84	1,15	<b>37,50</b>	1,26	<b>50,60</b>	1,39	<b>66,07</b>	1,47	<b>75,00</b>	1,67	<b>98,81</b>
R4	109	0,79	0,83	<b>5,06</b>	0,96	<b>22,15</b>	1,02	<b>29,75</b>	1,05	<b>33,54</b>	1,10	<b>39,24</b>
R5	125	1,02	1,12	<b>9,80</b>	1,24	<b>21,57</b>	1,29	<b>26,47</b>	1,32	<b>29,41</b>	1,37	<b>34,31</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>27,48</b>		<b>40,86</b>		<b>48,88</b>		<b>51,56</b>		<b>66,46</b>
<b>ESM</b>				<b>8,95</b>		<b>9,61</b>		<b>9,55</b>		<b>10,98</b>		<b>14,97</b>

**Tableau XXXIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de F-101-5 (1 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	V <sub>0</sub> (mL)	V <sub>1h</sub> (mL)	%AUG <sub>1</sub>	V <sub>2h</sub> (mL)	%AUG <sub>2</sub>	V <sub>3h</sub> (mL)	%AUG <sub>3</sub>	V <sub>4h</sub> (mL)	%AUG <sub>4</sub>	V <sub>5h</sub> (mL)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	152	0,805	1,07	<b>32,92</b>	1,13	<b>40,37</b>	1,205	<b>49,69</b>	1,295	<b>60,87</b>	1,37	<b>70,19</b>
<b>R2</b>	114	0,805	1,015	<b>26,09</b>	1,09	<b>35,40</b>	1,16	<b>44,10</b>	1,345	<b>67,08</b>	1,47	<b>82,61</b>
<b>R3</b>	141	0,88	1,13	<b>28,41</b>	1,14	<b>29,55</b>	1,17	<b>32,95</b>	1,22	<b>38,64</b>	1,275	<b>44,89</b>
<b>R4</b>	124	0,83	1,11	<b>33,73</b>	1,115	<b>34,34</b>	1,005	<b>21,08</b>	1,14	<b>37,35</b>	1,15	<b>38,55</b>
<b>R5</b>	135	0,84	1,065	<b>26,79</b>	1,16	<b>38,10</b>	1,09	<b>29,76</b>	1,12	<b>33,33</b>	1,22	<b>45,24</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>29,59</b>		<b>35,55</b>		<b>35,52</b>		<b>47,45</b>		<b>56,29</b>
<b>ESM</b>				<b>1,58</b>		<b>1,83</b>		<b>5,11</b>		<b>6,87</b>		<b>8,52</b>

**Tableau XXXIV : Effet de l'eau physiologique (10 mL/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	20	7,00	69,00
S2	21	7,00	82,00
S3	23	6,00	89,00
S4	21	5,00	73,00
S5	23	8,00	50,00
<b>Moyenne</b>		<b>6,60</b>	<b>72,60</b>
<b>ESM</b>		<b>0,51</b>	<b>6,64</b>

**Tableau XXXV : Effet de l'AAS (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	28	9,00	47,00
S2	23	5,00	26,00
S3	21	6,00	35,00
S4	22	7,00	73,00
S5	20	7,00	58,00
<b>Moyenne</b>		<b>6,80</b>	<b>47,80</b>
<b>ESM</b>		<b>0,66</b>	<b>8,30</b>

**Tableau XXXVI : Effet de l'AAS (30 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	21	6,00	43,00
S2	19	5,00	64,00
S3	19	5,00	50,00
S4	20	5,00	49,00
S5	21	10,00	19,00
<b>Moyenne</b>		<b>6,20</b>	<b>45,00</b>
<b>ESM</b>		<b>0,97</b>	<b>7,36</b>

**Tableau XXXVII Effet de l'AAS (100 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	20	7,00	12,00
S2	20	7,00	21,00
S3	21	9,00	34,00
S4	20	5,00	38,00
S5	20	5,00	29,00
<b>Moyenne</b>		<b>6,60</b>	<b>26,80</b>
<b>ESM</b>		<b>0,75</b>	<b>4,66</b>

**Tableau XXXVIII : Effet de la bétaméthasone (300 µg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	20	6,00	15,00
S2	21	5,00	21,00
S3	24	7,00	17,00
S4	24	3,00	42,00
S5	19	10,00	29,00
<b>Moyenne</b>		<b>6,20</b>	<b>24,80</b>
<b>ESM</b>		<b>1,16</b>	<b>4,92</b>

**Tableau XXXIX : : Effet de F-101 (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	24	8,00	43,00
S2	24	8,00	8,00
S3	24	8,00	38,00
S4	21	8,00	19,00
S5	19	8,00	41,00
<b>Moyenne</b>		<b>8,00</b>	<b>29,80</b>
<b>ESM</b>		<b>0,00</b>	<b>6,92</b>

**Tableau XL : Effet de F-101 (3 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	19	7,00	37,00
S2	24	15,00	6,00
S3	20	10,00	27,00
S4	21	9,00	18,00
<b>Moyenne</b>		<b>10,25</b>	<b>22,00</b>
<b>ESM</b>		<b>1,70</b>	<b>6,60</b>

**Tableau XLI : Effet de F-101 (10 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	26	7	63
S2	21	8	50
S3	25	9	38
S4	24	16	27
S5	22	12	11
<b>Moyenne</b>		<b>10,40</b>	<b>37,80</b>
<b>ESM</b>		<b>1,60</b>	<b>9,00</b>

**Tableau XLII : Effet de F-101-4 (300 µg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	21	6,00	20,00
S2	20	5,00	17,00
S3	20	6,00	23,00
S4	19	7,00	17,00
S5	20	7,00	28,00
<b>Moyenne</b>		<b>6,20</b>	<b>21,00</b>
<b>ESM</b>		<b>0,37</b>	<b>2,07</b>



**Tableau XLIII Effet de F-101-4 (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique  
chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	24	7,00	46,00
S2	23	8,00	32,00
S3	24	9,00	55,00
S4	22	7,00	31,00
S5	27	6,00	31,00
<b>Moyenne</b>		<b>7,40</b>	<b>39,00</b>
<b>ESM</b>		<b>0,51</b>	<b>4,91</b>

**Tableau XLIV : Effet de F-101-4 (3 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique  
chez la souris**

N° souris	Poids (g)	Tps latence (min)	Nombre contorsions
S1	19	9	50
S2	29	8	46
S3	22	8	32
S4	22	8	46
S5	24	4	23
<b>Moyenne</b>		<b>7,40</b>	<b>39,40</b>
<b>ESM</b>		<b>0,87</b>	<b>5,11</b>

**Tableau XLV : Variations de l'œdème inflammatoire de la patte de rat après administration *per os* de l'eau physiologique (10 ml/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	236	4,54	5,38	<b>18,50</b>	6,74	<b>48,46</b>	7,3	<b>60,79</b>	7,99	<b>75,99</b>	8,48	<b>86,78</b>
R2	190	4,23	6,7	<b>58,39</b>	7,13	<b>68,56</b>	7,37	<b>74,23</b>	8,58	<b>102,84</b>	8,52	<b>101,42</b>
R3	222	4,27	5,87	<b>37,47</b>	6,29	<b>47,31</b>	7,13	<b>66,98</b>	8,21	<b>92,27</b>	8,37	<b>96,02</b>
R4	245	4,83	5,35	<b>10,77</b>	6,59	<b>36,44</b>	7,15	<b>48,03</b>	8,24	<b>70,60</b>	8,33	<b>72,46</b>
R5	155	3,48	5,11	<b>46,84</b>	5,66	<b>62,64</b>	6,57	<b>88,79</b>	7,17	<b>106,03</b>	7,2	<b>106,90</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>34,39</b>		<b>52,68</b>		<b>67,77</b>		<b>89,55</b>		<b>92,72</b>
<b>ESM</b>				<b>8,81</b>		<b>5,75</b>		<b>6,79</b>		<b>7,07</b>		<b>6,05</b>

**Tableau XLVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de l'acide acétylsalicylique (10 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	165	4,68	5,47	<b>16,88</b>	5,13	<b>9,62</b>	5,09	<b>8,76</b>	4,96	<b>5,98</b>	4,81	<b>2,78</b>
R2	199	4,28	5,07	<b>18,46</b>	5,23	<b>22,20</b>	6,16	<b>43,93</b>	5,84	<b>36,45</b>	5,98	<b>39,72</b>
R3	175	4,07	5	<b>22,85</b>	5,25	<b>28,99</b>	5,31	<b>30,47</b>	5,56	<b>36,61</b>	5,44	<b>33,66</b>
R4	160	4,13	4,99	<b>20,82</b>	5,49	<b>32,93</b>	5,61	<b>35,84</b>	5,78	<b>39,95</b>	5,59	<b>35,35</b>
R5	153	3,81	4,95	<b>29,92</b>	5,27	<b>38,32</b>	5,71	<b>49,87</b>	5,5	<b>44,36</b>	5,46	<b>43,31</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>21,79</b>		<b>26,41</b>		<b>33,77</b>		<b>32,67</b>		<b>30,96</b>
<b>ESM</b>				<b>2,27</b>		<b>4,95</b>		<b>7,08</b>		<b>6,82</b>		<b>7,25</b>

**Tableau XLVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration per os de la F-104 (3 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	240	3,85	6,09	<b>58,18</b>	7,08	<b>83,90</b>	7,26	<b>88,57</b>	7,7	<b>100,00</b>	7,53	<b>95,58</b>
<b>R2</b>	190	3,72	5,7	<b>53,23</b>	5,93	<b>59,41</b>	6,62	<b>77,96</b>	6,8	<b>82,80</b>	6,81	<b>83,06</b>
<b>R3</b>	180	4,22	5,73	<b>35,78</b>	5,78	<b>36,97</b>	6,11	<b>44,79</b>	6,7	<b>58,77</b>	7,12	<b>68,72</b>
<b>R4</b>	202	4,19	5,84	<b>39,38</b>	6,07	<b>44,87</b>	6,84	<b>63,25</b>	7,1	<b>69,45</b>	7,07	<b>68,74</b>
<b>R5</b>	197	3,96	5,75	<b>45,20</b>	6,03	<b>52,27</b>	6,73	<b>69,95</b>	7,35	<b>85,61</b>	7,23	<b>82,58</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>46,35</b>		<b>55,48</b>		<b>68,90</b>		<b>79,32</b>		<b>79,74</b>
<b>ESM</b>				<b>4,18</b>		<b>8,03</b>		<b>7,36</b>		<b>7,07</b>		<b>5,06</b>

**Tableau XLVIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration per os de la F-104 (10 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	167	4,03	4,69	<b>16,38</b>	4,61	<b>14,39</b>	5,32	<b>32,01</b>	5,41	<b>34,24</b>	5,82	<b>44,42</b>
<b>R2</b>	170	3,88	4,9	<b>26,29</b>	5,18	<b>33,51</b>	5,32	<b>37,11</b>	5,49	<b>41,49</b>	5,37	<b>38,40</b>
<b>R3</b>	157	4,3	4,85	<b>12,79</b>	5,03	<b>16,98</b>	4,8	<b>11,63</b>	5,26	<b>22,33</b>	5,34	<b>24,19</b>
<b>R4</b>	152	4,05	4,93	<b>21,73</b>	5,61	<b>38,52</b>	5,68	<b>40,25</b>	5,72	<b>41,23</b>	6,02	<b>48,64</b>
<b>R5</b>	194	4,24	4,76	<b>12,26</b>	5,06	<b>19,34</b>	5,59	<b>31,84</b>	5,72	<b>34,91</b>	5,67	<b>33,73</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>17,89</b>		<b>24,55</b>		<b>30,57</b>		<b>34,84</b>		<b>37,87</b>
<b>ESM</b>				<b>2,69</b>		<b>4,81</b>		<b>4,99</b>		<b>3,48</b>		<b>4,26</b>

**Tableau XLIX : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration per os de la F-104 (30 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	200	4,4	5,72	<b>30,00</b>	6,28	42,73	6,95	<b>57,95</b>	7,57	72,05	7,48	<b>70,00</b>
<b>R2</b>	213	4,43	5,37	<b>21,22</b>	6,8	53,50	7,07	<b>59,59</b>	7,28	64,33	7,77	<b>75,40</b>
<b>R3</b>	211	4,21	5,57	<b>32,30</b>	6,21	47,51	7,15	<b>69,83</b>	7,73	83,61	7,59	<b>80,29</b>
<b>R4</b>	198	4,98	5,67	<b>13,86</b>	5,98	20,08	6,5	<b>30,52</b>	6,77	35,94	7,03	<b>41,16</b>
<b>R5</b>	182	3,99	5,44	<b>36,34</b>	6,13	53,63	7,59	<b>90,23</b>	7,43	86,22	7,81	<b>95,74</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>26,74</b>		43,49		<b>61,63</b>		68,43		<b>72,52</b>
<b>ESM</b>				<b>4,06</b>		6,20		<b>9,67</b>		9,03		<b>8,94</b>

**Tableau L : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration per os de la F-105 (3 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	195	3,95	5,68	<b>43,80</b>	6,19	<b>56,71</b>	6,98	<b>76,71</b>	7,42	<b>87,85</b>	6,47	<b>63,80</b>
<b>R2</b>	172	3,6	5,62	<b>56,11</b>	6,19	<b>71,94</b>	7,21	<b>100,28</b>	7,29	<b>102,50</b>	7,01	<b>94,72</b>
<b>R3</b>	185	4,06	5,35	<b>31,77</b>	6,01	<b>48,03</b>	6,94	<b>70,94</b>	7,44	<b>83,25</b>	7,41	<b>82,51</b>
<b>R4</b>	192	3,55	5,23	<b>47,32</b>	6,05	<b>70,42</b>	6,3	<b>77,46</b>	6,53	<b>83,94</b>	6,82	<b>92,11</b>
<b>R5</b>	190	4,58	5,04	<b>10,04</b>	5,96	<b>30,13</b>	6,68	<b>45,85</b>	6,94	<b>51,53</b>	6,92	<b>51,09</b>
<b>Moyenne %Aug</b>				<b>37,81</b>		<b>55,45</b>		<b>74,25</b>		<b>81,81</b>		<b>76,85</b>
<b>Esm</b>				<b>7,96</b>		<b>7,73</b>		<b>8,69</b>		<b>8,33</b>		<b>8,42</b>

Tableau LI: Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de la F-106 (300 µg/kg)

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	197	4,92	5,36	<b>8,94</b>	6,28	<b>27,64</b>	6,43	<b>30,69</b>	7,13	<b>44,92</b>	6,49	<b>31,91</b>
R2	195	4,53	4,87	<b>7,51</b>	5,33	<b>17,66</b>	5,62	<b>24,06</b>	5,8	<b>28,04</b>	5,91	<b>30,46</b>
R3	195	4,23	6,04	<b>42,79</b>	6,01	<b>42,08</b>	6,61	<b>56,26</b>	7,03	<b>66,19</b>	6,88	<b>62,65</b>
R4	203	5,04	7,25	<b>43,85</b>	7,34	<b>45,63</b>	7,6	<b>50,79</b>	7,42	<b>47,22</b>	7,27	<b>44,25</b>
R5	205	4,37	6,34	<b>45,08</b>	6,17	<b>41,19</b>	6,31	<b>44,39</b>	6,1	<b>39,59</b>	6,45	<b>47,60</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>29,63</b>		34,84		<b>41,24</b>		45,19		<b>43,37</b>
<b>ESM</b>				<b>8,75</b>		5,27		<b>6,06</b>		6,21		<b>5,87</b>

Tableau LII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de la F-106 (1 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	167	4,15	5,65	<b>36,14</b>	5,71	<b>37,59</b>	5,91	<b>42,41</b>	5,78	<b>39,28</b>	5,93	<b>42,89</b>
R2	199	4,36	5,7	<b>30,73</b>	6,41	<b>47,02</b>	6,75	<b>54,82</b>	6,44	<b>47,71</b>	6,19	<b>41,97</b>
R3	193	4,47	5,33	<b>19,24</b>	5,22	<b>16,78</b>	5,52	<b>23,49</b>	5,22	<b>16,78</b>	5,76	<b>28,86</b>
R4	175	4,58	5,9	<b>28,82</b>	5,8	<b>26,64</b>	6,05	<b>32,10</b>	6,04	<b>31,88</b>	6,41	<b>39,96</b>
R5	185	4,4	5,28	<b>20,00</b>	5,83	<b>32,50</b>	6,25	<b>42,05</b>	5	<b>13,64</b>	5,58	<b>26,82</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>26,99</b>		32,10		<b>38,97</b>		29,86		<b>36,10</b>
<b>ESM</b>				<b>3,24</b>		5,09		<b>5,29</b>		6,50		<b>3,42</b>

Tableau LIII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de la F-106 (3 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	187	4,4	5,85	<b>32,95</b>	5,37	<b>22,05</b>	5,93	<b>34,77</b>	5,28	<b>20,00</b>	6,05	<b>37,50</b>
R2	199	4,82	5,56	<b>15,35</b>	5,89	<b>22,20</b>	5,86	<b>21,58</b>	5,36	<b>11,20</b>	6,37	<b>32,16</b>
R3	163	3,58	5,12	<b>43,02</b>	6,03	<b>68,44</b>	6,01	<b>67,88</b>	5,45	<b>52,23</b>	5,94	<b>65,92</b>
R4	195	4,74	5,34	<b>12,66</b>	6,51	<b>37,34</b>	6,25	<b>31,86</b>	5,62	<b>18,57</b>	6,48	<b>36,71</b>
R5	199	4,3	5,67	<b>31,86</b>	6,37	<b>48,14</b>	6,18	<b>43,72</b>	6,31	<b>46,74</b>	7,15	<b>66,28</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>27,17</b>		39,63		<b>39,96</b>		29,75		<b>47,71</b>
<b>ESM</b>				<b>5,73</b>		8,72		<b>7,82</b>		8,24		<b>7,56</b>

Tableau LIV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de la F-106 (10 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	173	4,16	5,61	<b>34,86</b>	5,58	<b>34,13</b>	6,22	<b>49,52</b>	5,78	<b>38,94</b>	6,27	<b>50,72</b>
R2	200	4,35	5,58	<b>28,28</b>	5,96	<b>37,01</b>	6,29	<b>44,60</b>	5,67	<b>30,34</b>	6,5	<b>49,43</b>
R3	187	4,46	5,15	<b>15,47</b>	4,93	<b>10,54</b>	4,74	<b>6,28</b>	5,28	<b>18,39</b>	7,74	<b>73,54</b>
R4	195	3,91	5,87	<b>50,13</b>	6,01	<b>53,71</b>	5,7	<b>45,78</b>	6,39	<b>63,43</b>	6,38	<b>63,17</b>
R5	193	4,57	5,56	<b>21,66</b>	5,32	<b>16,41</b>	5,92	<b>29,54</b>	6,19	<b>35,45</b>	7,04	<b>54,05</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>30,08</b>		30,36		<b>35,14</b>		37,31		<b>58,18</b>
<b>ESM</b>				<b>5,97</b>		7,72		<b>7,98</b>		7,40		<b>4,53</b>

Tableau LV : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de la F-106-ST

(1 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	215	4,58	5,33	<b>16,38</b>	5,71	<b>24,67</b>	5,88	<b>28,38</b>	6,23	<b>36,03</b>	6,22	<b>35,81</b>
R2	230	4,61	5,45	<b>18,22</b>	5,89	<b>27,77</b>	5,96	<b>29,28</b>	5,99	<b>29,93</b>	6,67	<b>44,69</b>
R3	250	5,2	5,5	<b>5,77</b>	5,99	<b>15,19</b>	6,8	<b>30,77</b>	7,27	<b>39,81</b>	6,38	<b>22,69</b>
R4	220	4,28	5,68	<b>32,71</b>	6	<b>40,19</b>	6,59	<b>53,97</b>	6,77	<b>58,18</b>	6,42	<b>50,00</b>
R5	240	4,77	5,72	<b>19,92</b>	5,98	<b>25,37</b>	6,03	<b>26,42</b>	7,02	<b>47,17</b>	6,77	<b>41,93</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>18,60</b>		<b>26,64</b>		<b>33,76</b>		<b>42,22</b>		<b>39,02</b>
<b>ESM</b>				<b>4,30</b>		<b>4,01</b>		<b>5,10</b>		<b>4,87</b>		<b>4,68</b>

Tableau LVI : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration *per os* de la F-106-ST

(3 mg/kg)

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
R1	245	4,78	5,37	<b>12,34</b>	5,96	<b>24,69</b>	6,01	<b>25,73</b>	5,91	<b>23,64</b>	5,54	<b>15,90</b>
R2	210	4,47	5,38	<b>20,36</b>	5,49	<b>22,82</b>	5,2	<b>16,33</b>	5,5	<b>23,04</b>	5,59	<b>25,06</b>
R3	220	4,66	5,11	<b>9,66</b>	5,13	<b>10,09</b>	5,9	<b>26,61</b>	5,88	<b>26,18</b>	5,59	<b>19,96</b>
R4	220	4,28	5,34	<b>24,77</b>	5,13	<b>19,86</b>	6,06	<b>41,59</b>	5,61	<b>31,07</b>	5,39	<b>25,93</b>
R5	200	4	4,6	<b>15,00</b>	5,4	<b>35,00</b>	6,07	<b>51,75</b>	6,04	<b>51,00</b>	6,17	<b>54,25</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>16,42</b>		<b>22,49</b>		<b>32,40</b>		<b>30,99</b>		<b>28,22</b>
<b>ESM</b>				<b>2,73</b>		<b>4,01</b>		<b>6,30</b>		<b>5,20</b>		<b>6,76</b>

**Tableau LVII : Variation de l'œdème aigu de la patte de rat à la carraghénine après administration per os de la F-106-ST  
(10 mg/kg)**

N° Rat	Poids (g)	E <sub>0</sub> (mm)	E <sub>1h</sub> (mm)	%AUG <sub>1</sub>	E <sub>2h</sub> (mm)	%AUG <sub>2</sub>	E <sub>3h</sub> (mm)	%AUG <sub>3</sub>	E <sub>4h</sub> (mm)	%AUG <sub>4</sub>	E <sub>5h</sub> (mm)	%AUG <sub>5</sub>
<b>R1</b>	220	4,44	5,25	<b>18,24</b>	5,59	<b>25,90</b>	6,68	<b>50,45</b>	6,08	<b>36,94</b>	6,8	<b>53,15</b>
<b>R2</b>	180	3,97	4,85	<b>22,17</b>	5,62	<b>41,56</b>	5,87	<b>47,86</b>	5,8	<b>46,10</b>	5,48	<b>38,04</b>
<b>R3</b>	220	4,38	4,85	<b>10,73</b>	6,14	<b>40,18</b>	6,17	<b>40,87</b>	6,35	<b>44,98</b>	5,62	<b>28,31</b>
<b>R4</b>	190	4,37	4,95	<b>13,27</b>	5,58	<b>27,69</b>	5,27	<b>20,59</b>	5,7	<b>30,43</b>	5,55	<b>27,00</b>
<b>R5</b>	205	3,9	4,98	<b>27,69</b>	5,63	<b>44,36</b>	5,67	<b>45,38</b>	5,84	<b>49,74</b>	5,93	<b>52,05</b>
<b>Moyenne %AUG</b>				<b>18,42</b>		<b>35,94</b>		<b>41,03</b>		<b>41,64</b>		<b>39,71</b>
<b>ESM</b>				<b>3,05</b>		<b>3,80</b>		<b>5,35</b>		<b>3,50</b>		<b>5,60</b>



**Tableau LVIII : Effet de l'eau physiologique (10 mL/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

<b>N° souris</b>	<b>Nombre contorsions</b>
S1	69,00
S2	82,00
S3	89,00
S4	73,00
<b>Moyenne</b>	<b>78,25</b>
<b>ESM</b>	<b>4,50</b>

**Tableau LIX : Effet de l'AAS (1 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

<b>N° souris</b>	<b>Nombre contorsions</b>
S1	47,00
S2	26,00
S3	35,00
S4	58,00
<b>Moyenne</b>	<b>41,50</b>
<b>ESM</b>	<b>6,98</b>

**Tableau LX Effet de l'AAS (100 mg/kg) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

<b>N° souris</b>	<b>Nombre contorsions</b>
S1	21,00
S2	34,00
S3	38,00
S4	29,00
<b>Moyenne</b>	<b>30,50</b>
<b>ESM</b>	<b>3,66</b>

**Tableau LXI : Effet de la F-106 (1 mg/kg, *per os*) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Nombre contorsion
S1	31
S2	47
S3	55
S4	46
<b>Moyenne</b>	<b>44,75</b>
<b>Esm</b>	<b>5,01</b>

**Tableau LXII : Effet de la F-106 (3 mg/kg, *per os*) sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Nombre contorsion
S1	57
S2	32
S3	70
S4	68
<b>Moyenne</b>	<b>56,75</b>
<b>Esm</b>	<b>8,73</b>

**Tableau LXIII : Effet de la F-106-ST 1 mg/kg, *per os* sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Nombre contorsion
S1	31
S2	47
S3	55
S4	46
<b>Moyenne</b>	<b>44,75</b>
<b>Esm</b>	<b>5,01</b>

**Tableau LXIV : Effet de la F-106-ST 3 mg/kg, *per os* sur la douleur induite par l'acide acétique chez la souris**

N° souris	Nombre contorsion
S1	57
S2	32
S3	70
S4	68
<b>Moyenne</b>	<b>56,75</b>
<b>Esm</b>	<b>8,73</b>

**Tableau LXV : Effet inhibiteur des fractions F-101 et F-101-4 des feuilles de LPP-03-2017 sur la sPLA<sub>2</sub>**

	% INHIBITION DE LA sPLA <sub>2</sub>				
	300 µg/mL	100 µg/mL	30 µg/mL	10 µg/mL	3 µg/mL
<b>F-101-4</b>	<b>16,39</b>	10,89	5,50	4,79	1,82
<b>F-101</b>	<b>17,43</b>	4,72	1,55	2,39	6,95

## **Annexe 2 : Publication**

Full Length Research Paper

## Analgesic and anti-inflammatory activity of methanolic fraction of total ethereal leaf extract of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae)

Madièye Sene<sup>1</sup>, Firmin S. Barboza<sup>1</sup>, Abdou Sarr<sup>3</sup>, Dominique Tchemy Outouen<sup>1</sup>, Alassane Wele<sup>2</sup>, Emmanuel Bassene<sup>3</sup> and Guata Yoro S.Y.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie, FMPO, UCAD, BP 5005, Dakar-Fann, Senegal.

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, FMPO, UCAD, BP 5005, Dakar-Fann, Senegal.

<sup>3</sup>Laboratoire de Pharmacognosie, FMPO, UCAD, BP 5005, Dakar-Fann, Senegal.

Received 15 January 2017, Accepted 20 February 2017

*Annona senegalensis* leaves are used in African Traditional Medicine as analgesic and anti-inflammatory drugs. This study aimed to investigate the analgesic and anti-inflammatory activities of total ethereal leaf extract (TEE) of *A. senegalensis* and its methanolic fraction (MF). Experiments were performed in acetic acid induced contortions in mice and carrageenan rat paw edema. The preventive effect of TEE (100 mg/kg, per os) and MF (1 mg/kg, 3 mg/kg and 10 mg/kg, per os) was evaluated in carrageenan induced edema at 1, 3 and 5 h. The analgesic effect of MF (1, 3 and 10 mg/kg, per os) was tested in mice contortions. Oral administration of MF (3 mg/kg) showed an analgesic activity less similar than 100 mg/kg of acetylsalicylic acid (ASA) administered in the same conditions (17.60±6.74 vs 26.80±4.66 contortions). The analgesic activity of MF is dose dependent at the lower doses (1 and 3 mg/kg, per os). However, the prevention of mice contortions with MF is less important at a higher dose (30 mg/kg, per os). In rat paw edema, TEE (100 mg/kg, per os) and MF (1 and 3 mg/kg, per os), significantly prevented carrageenan induced edema, as compared to the control and ASA groups. The dose of 3 mg/kg per os of MF induced an edema percentage inhibition similar to 100 mg/kg per os of ASA. Similarly to analgesic activity, the prevention of rat paw edema with MF is less important at a higher dose (10 mg/kg, per os). These results show an analgesic and anti-inflammatory activity of *A. senegalensis* leaf extracts, justifying the use of this plant leaves in African Traditional Medicine to prevent or treat pain and inflammation.

**Keys words:** *Annona senegalensis*, leaves, pain, inflammation.

### INTRODUCTION

Inflammation treatment requires glucocorticoids and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). However, they are limited by the several adverse effects such as

peptic ulcer disease and immunosuppression (Wirtha et al., 2006; Henzen, 2003).

Several studies had shown the interest of plant extracts

\*Corresponding author, E-mail: [guata.sy@gmail.com](mailto:guata.sy@gmail.com).

Author(s) agree that this article remain permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

on *in-vivo* and *in vitro* experimental models of inflammatory and pain processes (Phanse et al., 2012; Hegde et al., 2014). It was reported that the leaves of *A. senegalensis* possess anticonvulsant, central depressant and anxiolytic-like properties attributable to flavonoids (Okoli et al., 2010). An anticonvulsant effect of kaurenoic acid isolated from the root bark of *A. senegalensis* was also described by Okoye et al. (2013). A recent study had shown a toxicity of N-hexane and chloroform fractions of *A. senegalensis* leaf extract on immature stage of mosquito species such as *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* (Lame et al., 2015).

In African traditional medicine, the leaves of *A. senegalensis* Pers. are used to treat pain and inflammation (Akah and Nwambie, 1994). Yeo et al. (2011) had shown the *in-vitro* anti-inflammatory activity of leaf extract. *A. senegalensis* leaves contain flavonoids, terpenes, glycosides and steroids substances (Ameen et al., 2011; Yisa et al., 2010). Terpene molecules structure isolated from several species belonging to the family Annonaceae showed an analgesic and anti-inflammatory activity.

The aim of the present study was to investigate analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *A. senegalensis* on contortions-induced acetic acid in mice and carrageenan rat paw edema.

## MATERIALS AND METHODS

### Study species

*A. senegalensis* Pers. is an annual shrub or small tree widely distributed in Africa. It is found in semi-arid to subhumid regions of Africa. Leaves are alternate, simple, oblong, ovate or elliptic, green to bluish green, almost without hairs on upper surface but often with brownish hairs on the lower surface. Its aromatic flowers are used to flavour food (Adzu et al., 2005; Ogbadoyi et al., 2007; Orwa et al., 2009).

### Plant material and extraction

*A. senegalensis* leaves were collected from Pout (Senegal). Botanical samples were identified at the Department of Botany and Pharmacognosy, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Dakar, where the voucher specimen (DPB-15-03) was deposited. *A. senegalensis* powder (300 g) was mixed with petroleum ether (2 L), boiled for 2 h and filtered. The ethereal leaf extract filtrate was removed with methanol. The ethereal and methanolic phases were recovered and evaporated to dryness.

### Animals

Adult Wistar rats (110 - 160 g) and mice (19 - 26 g) were used for the experiments. The animals had free access to food and water.

### Experimental procedures

#### Anti-inflammatory activity

The rat paw edema was induced with carrageenan 1% (100  $\mu$ l)

(Winter et al., 1962). The rats were distributed in groups of 5 and fasted 12 h before the experiment, with free access to water. The initial volume of right hind paw was measured using a plethysmometre.

The total ethereal extract (TEE, 100 mg/kg), methanolic fraction (MF; 1, 3, 10 mg/kg), acetyl salicylic acid (ASA, 100 mg/kg) and vehicle (1 mL/100 g) were given orally to different groups, one hour prior to the local injection of carrageenan 1% into the plantar aponeurosis. The volume of rat hind paw was measured during 5 h, the percentages of increase (INC%) of rat hind paw were determined.

$$\text{INC (\%)} = (V_{T\text{minutes}} - V_0) \times 100/V_0$$

$V_{T\text{minutes}}$ : rat hind paw volume at Tminutes;  $V_0$ : initial volume of rat hind paw. The anti-inflammatory activity is evaluated by calculating the mean percentage inhibition (%INH) of edema.

$$\text{INH (\%)} = (\% \text{INC}_{\text{control}} - \% \text{INC}_{\text{test compound}}) \times 100/\% \text{INC}_{\text{control}}$$

#### Analgesic activity

The writhing test in mice was used (Koster et al., 1959). Contortions were induced by intraperitoneal injection of acetic acid 3%. The animals were divided into groups of 5 mice each. Different doses (1, 3 and 10 mg/kg) of methanolic fraction (MF) of *A. senegalensis* total ethereal leaf extract, acetyl salicylic acid (ASA) (1, 100 mg/kg) and physiological water (Control, 1 mL/100 g) were administered orally to groups, one hour prior to acetic acid 3% (20  $\mu$ L) injection. The total number of contortions was counted at observation time of 30 min.

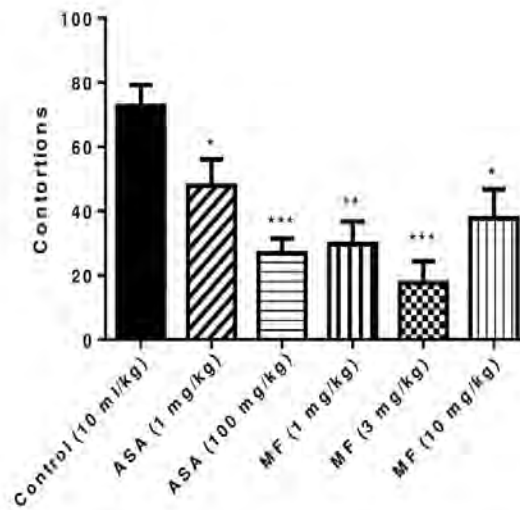
#### Statistical analysis

The means of contortions in treated groups were compared to control with Student t-test. A value of  $p < 0.05$  had been considered as significant and  $n = 5$  represent the number of mice in each group. The means of rat hind paw volumes were compared by an analysis of variance (ANOVA), in order to prove homogeneity between groups. The means of percentages of rat hind paw oedema variations at the 1 and 5 h were also compared to control group with t-test. A value of  $p < 0.05$  had been considered as significant and  $n = 5$  represent the number of rats in each group. Statistical analysis was done using a GraphPad Prism 5 software.

## RESULTS

### Effect of methanolic fraction of total ethereal leaf extract of *A. senegalensis* on contortions induced with acetic acid 1% in mice

Intraperitoneal acetic acid 3% induced contortions (72.60 $\pm$ 6.64) in mice which were treated with vehicle *per os*. Pre-treatment with acetylsalicylic acid (1 and 100 mg/kg, *per os*) prevented significantly and dose dependent manner the writhes induced with acetic acid, as compared to the control group. In fact, contortions were respectively 47.80 $\pm$ 8.30 and 26.80 $\pm$ 4.66 at 1 and 100 mg/kg *per os* in acetylsalicylic groups. Prior administration of *A. senegalensis* methanolic fraction (MF) of total ethereal leaf extract (TEE), dose



**Figure 1.** Analgesic activity of methanolic fraction (MF) of total ethereal leaf extract of *A. senegalensis* on contortions induced with acetic acid 3% in mice \* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$  vs. control group, ( $n=5$ ). ASA = Acetylsalicylic acid.

independently prevented the number of contortions at 1 ( $29.80 \pm 6.92$ ) and 3 mg/kg *per os* ( $17.60 \pm 6.74$ ). However, the prevention of contortions was less important with 10 mg/kg of methanolic fraction ( $37.80 \pm 9.00$ ) (Figure 1).

#### Effect of total ethereal leaf extract of *A. senegalensis* (TEE) on carrageenan induced rat paw edema

The oral administration of the TEE (100 mg/kg, *per os*) significantly prevented the increase of rat paw edema induced with carrageenan, as compared to group control treated with normal saline (10 mL/kg, *per os*) (Table 1).

#### Effect of methanolic fraction (MF) of *A. senegalensis* total ethereal leaf extract on carrageenan induced rat paw edema

Oral administration of MF (1 mg/kg, *per os*) did not prevent the inflammatory edema. MF (3 mg/kg, *per os*), significantly prevented the rat paw edema. However, the prevention of inflammatory edema with 10 mg/kg of MF is less important than the prior dose of 3 mg/kg previously tested (Table 2).

The percentage inhibition evaluation shows that MF relatively low dose (3 mg/kg) induced anti-inflammatory activity. The percentages of inhibition were  $87.62 \pm 3.16$  and  $74.12 \pm 8.38$ , respectively at 1 and 5 h, showing a

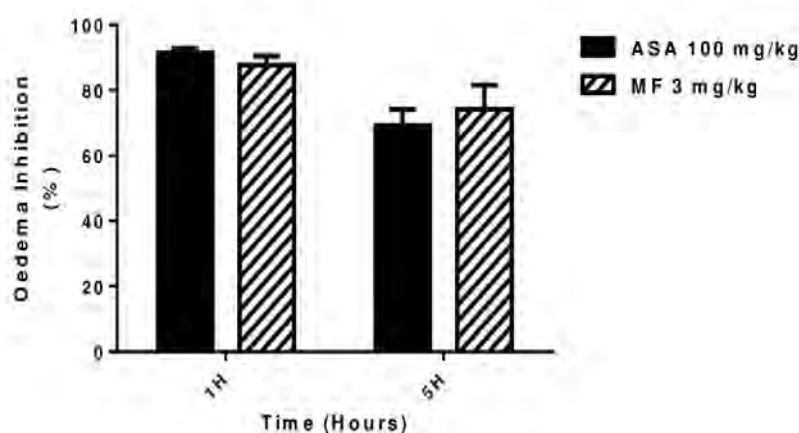
similar edema inhibition than ASA (100 mg/kg, *per os*) reference group ( $91.88 \pm 1.79$ ,  $69.25 \pm 5.48$ ) (Figure 2).

## DISCUSSION

The aim of the present study was to evaluate the analgesic and anti-inflammatory extracts of *A. senegalensis* leaves, an African traditional medicine plant. Preliminary experiments had shown a similar anti-inflammatory activity between *A. senegalensis* total ethereal leaf extract and acetylsalicylic acid used in the same conditions.

The analgesic and anti-inflammatory activity of methanolic fraction of total ethereal leaf extract was evaluated on contortions-induced acetic acid in mice and carrageenan-induced paw edema in rats. The methanolic fraction is analgesic and anti-inflammatory at dose dependent manner (1 and 3 mg/kg, *per os*). However, at a higher dose (10 mg/kg, *per os*), both decrease of analgesic and anti-inflammatory activity of methanolic fraction was noted. These results suggest the existence of identical mechanism of action of the methanolic fraction in the prevention of pain and inflammatory edema. This biphasic effect on pain and inflammation observed with the methanolic fraction relative to dose, suggest the probable existence in the extract, compounds which probably act by a functional antagonism mechanism.





**Figure 2.** Inhibition of carrageenan induced rat paw edema by oral administration of methanolic fraction (MF) of total ethereal leaf extract of *A. senegalensis*. (n=5). ASA = Acetylsalicylic acid.

**Table 1.** Effect of total ethereal leaf extract of *A. senegalensis* on carrageenan induced rat paw edema. (n=5). \*\*P<0.01; \*\*\* P<0.001 vs. control group. p.o. (per os). ASA = acetylsalicylic acid.

Groups	Doses (mL/kg p.o.)	Increased edema (%)		
		1 h	3 h	5 h
Control	10	45.23±11.99	81.13±14.34	103.46±10.01
ASA	100	3.39±0.91**	16.26±6.29***	31.91±6.20***
<i>A. senegalensis</i> (TEE)	100	21.92±4.57	44.00±6.04**	43.57±5.75***

**Table 2.** Effect of methanolic fraction (MF) of total ethereal leaf extract of *A. senegalensis* on carrageenan induced rat paw edema. (n=5) \*P<0.05; \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001 vs. control group; p.o. (per os). ASA = acetylsalicylic acid.

Groups	Doses (mL/kg p.o.)	Increased edema (%)		
		1 h	3 h	5 h
Control	10	45.23±11.99	81.13±14.34	103.46±10.01
ASA	100	3.39±0.91	16.26±6.29	31.91±6.20
<i>A. senegalensis</i> (MF)	1	40.00±13.30	81.14±24.51	88.95±22.70
<i>A. senegalensis</i> (MF)	3	4.97±1.51*	20.11±3.52**	24.76±6.96***
<i>A. senegalensis</i> (MF)	10	22.31±3.75	49.66±15.09	52.10±11.20**

At phytochemical level, *A. senegalensis* leaves contain flavonoids and terpenics substances (Ameen et al., 2011). Terpenics molecules isolated from several species of Annonaceae have analgesic and anti-inflammatory activity. This is the example of 18-acetoxy-ent-kaur-16-ene, an isolated molecule of *A. squamosa* bark which is analgesic on model induced by intraperitoneal administration of acetic acid in the albino mice and anti-

inflammatory in the prevention of acute paw edema carrageenan-induced rats (Chavan et al., 2011). The berenjenol triterpenic molecules were isolated from *Oxandra xylopioides*, a species of the family Annonaceae which is anti-inflammatory on the acute and sub-chronic inflammation models (Aquila et al., 2009). Works performed by Chavan et al. (2011) showed that terpenic compounds are extractables in the Soxhlet with



petroleum ether at temperatures of 40 to 60°C.

In this study, the total ethereal leaf extract and its methanolic fraction could probably contain terpenic compounds of *A. senegalensis* leaves. The presence of these molecules may explain the origin of analgesic and anti-inflammatory activity of the total ethereal leaf extract of *A. senegalensis* and its methanolic fraction.

### Conclusion

The leaf extracts of *A. senegalensis* prevented pain and inflammation in experimental acetic acid induced contortions in mice and carrageenan rat paw edema. These results justify the use of this plant leaves in African traditional medicine to prevent or treat pain and inflammatory processes.

### CONFLICT OF INTERESTS

The authors have not declared any conflict of interests.

### REFERENCES

- Adzu B, Abubakar M, Izebe K, Akumka D, Gamaniel K (2005). Effect of *Annona senegalensis* root bark extracts on *naja nigricollis nigricollis* venom in rats. *J. Ethnopharmacol.* 96:507-513.
- Akah PA, Nwambie AI (1994). Evaluation of Nigerian traditional medicines: 1. Plants used for rheumatic (inflammatory) disorders. *J. Ethnopharmacol.* 42(3):179-182.
- Ameen OM, Usman LAS, Oganija FA, Hamid A, Muhammed NO, Zubair MF, Adebayou SA (2011). Chemical composition of leaf essential oil of *Annona senegalensis* Pers. (ANNONACEAE) growing in North Central Nigeria. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(1):375-379.
- Aquila S, Rojano B, Recio MC, Giner RM, Schinella GR, Debenedetti SL, Rios JL (2009). Anti-inflammatory activity of berenjenol and related compounds. *Planta Medica.* 75(01):18-23.
- Chavan MJ, Wakte PS, Shinde DB (2011). Analgesic and anti-inflammatory activities of 18-acetoxy-ent-kaur-16-ene from *Annona squamosa* L. bark. *Inflammopharmacol.* 19:111-115.
- Hegde S, Sham BS, Chandrashekhar S, Manikkoth S (2014). Pre-clinical screening of indigenous medicinal plant *phyllanthus amarus* for its analgesic activity. *Int. J. App. Biol. Pharm. Technol.* 5(4):215-218.
- Henzen C (2003). Traitement aux glucocorticoides : risques et effets secondaires. *Forum Med Suisse.* 19:442-446.
- Koster R, Anderson M, Beer E (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Proceedings* 18-412.
- Lame Y, Nukenine EN, Pierre DYS, Elijah AE, Esimone CO (2015). Laboratory evaluations of the fractions efficacy of *Annona senegalensis* (Annonaceae) leaf extract on immature stage development of malarial and filarial mosquito vectors. *J. Arthropod-Borne Dis.* 9(2):226-237.
- Ogbadoyi E, Abdulganiy A, Adama T, Okogun J (2007). In vivo trypanocidal activity of *Annona senegalensis* Pers. Leaf extract against *Trypanosoma brucei*. *J. Ethnopharmacol.* 112(1):85-89.
- Okoli CO, Onyeto CA, Akpa BP, Ezike AC, Akah PA, Okoye TC (2010). Neuropharmacological evaluation of *Annona senegalensis* leaves. *Afr. J. Biotechnol.* 9(49):8435-8444.
- Okoye TC, Akah PA, Omeje EO, Okoye FBC, Nworu GS (2013). Anticonvulsant effect of kaurenic acid isolated from the root bark of *Annona senegalensis*. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 109:38-43.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S (2009). *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0.*
- Phanse MA, Patil MJ, Abbulu K, Chaudhari PD, Patel B (2012). In-vivo and in-vitro screening of medicinal plants for their anti-inflammatory activity: an overview. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2(6):19-33.
- Winter CA, Risley FA, Nuss G (1962). Carrageenin induced oedema in hand paw of the rat as assays anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111:544-547.
- Wirtha HP, Hürimann R, Flückiger T (2006). Les AINS et les inhibiteurs de la COX-2 : principaux effets indésirables. *Forum Med. Suisse* 6:284-290.
- Yeo D, Dinica R, Yapi HF, Furdul B, Praisler M, Djaman AJ, N'Guessan JD (2011). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire et screening phytochimique des feuilles de *Annona senegalensis*. *Thérapie* 66(1):73-80.
- Yisa J, Egila JN, Darlinton AO (2010). Chemical composition of *Annona senegalensis* from Nlupe land, Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 9(26):4106-4109.

## **Annexe 3 : Communications**



**Activité anti-inflammatoire et analgésique de composés  
de feuilles de LPP-03-2017**

**UER 104**

*Sciences du  
médicament*

**Madièye SENE**

Directeur de thèse : Professeur Guata Yoro SY

Adresse : Laboratoire de pharmacologie et pharmacodynamie, BP  
5005 Dakar-Fann, Sénégal ; Email : guata.sy@gmail.com

**FER 01**

*Biologie, nutrition  
et pathologie  
humaines*

**Introduction**

LPP-03-2017 est une plante de la famille des ANNONACEAE. Des enquêtes ethnopharmacologiques ont montré l'utilisation de plusieurs parties de cette plante en médecine traditionnelle. Au Sénégal, ses feuilles sont utilisées en milieu traditionnel dans le traitement de l'inflammation et de la douleur. Des travaux préliminaires avaient montré l'activité anti-inflammatoire de l'extrait total étheré de feuilles de cette plante. La présente étude avait pour objectif de mettre en évidence les bases pharmacologiques de l'utilisation traditionnelle des feuilles de LPP-03-2017 dans le traitement de l'inflammation et de la douleur.

**Méthodes**

La poudre de feuilles de LPP-03-2017 a été extraite par décoction avec de l'éther. L'extrait total étheré a été fractionné avec du méthanol. Les composés de la F-101 ont été séparés par chromatographie d'exclusion diffusion sur gel de Sephadex.

Les différents extraits ont été testés sur des modèles animaux d'étude de l'inflammation et de la douleur.

**Résultats**

L'administration de la F-101 de l'extrait total étheré de feuilles de LPP-03-2017 (3 mg/kg, *per os*) prévient de façon significative l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine. En effet, la variation de l'œdème inflammatoire est de 4,97±1,51 % ; 20,11±3,52 % et 24,76±6,96 % aux temps T<sub>1h</sub>, T<sub>3h</sub> et T<sub>5h</sub>. La fraction fille F-101-4 de la F-101 prévient l'apparition de l'œdème inflammatoire à la carraghénine de façon dépendante à la dose. A 300 µg/kg *per os* de la F-101-4, la variation de l'œdème inflammatoire observée au bout de 5 h est de 52,77±7,36 %, elle est de 33,81±6,94 % à la dose de 1 mg/kg, 5 h après induction de l'œdème.

La variation de l'œdème inflammatoire à la carraghénine après administration *per os* de la Bétaméthasone à la dose de 1 mg/kg est de 23,46±3,99 % au bout de 5 h. La prévention de l'œdème inflammatoire par la Bétaméthasone n'est pas significativement différente de celle observée avec la F-101-4 administrée dans les mêmes conditions.

A la dose de 300 µg/kg *per os*, la F-101-4 prévient de façon significative la douleur induite par l'acide acétique chez la souris. Le nombre de contorsions observé chez la souris après administration de la F-101-4 est de 21 versus 72 dans le groupe contrôle.

**Conclusions**

Les composés de la F-101-4 de la F-101 possèdent une puissante activité anti-inflammatoire et analgésique comparable à celle des glucocorticoïdes.

**Retombées scientifiques**

Cette étude participera à mettre en évidence les bases scientifiques de l'utilisation traditionnelle des feuilles de LPP-03-2017.

**Impacts socio-économiques**

L'isolement d'une molécule de pouvoir anti-inflammatoire identique à celle des glucocorticoïdes permettrait la synthèse d'analogues candidats au développement de médicaments.

## Communication orale N°2 :

Deuxièmes journées scientifiques du CAMES  
23 - 25 novembre 2015, UCAD, DAKAR, SENEGAL

Madièye SENE<sup>1</sup>, Awa NDONG<sup>1</sup>, Alassane WELE<sup>2</sup>, Emmanuel BASSENE<sup>3</sup>, Guata Yoro SY<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie, FMPO, UCAD, BP 5005 Dakar-Fann  
<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, FMPO, UCAD, BP 5005 Dakar-Fann  
<sup>3</sup>Laboratoire de Pharmacognosie, FMPO, UCAD, BP 5005 Dakar-Fann

### ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DE FRACTIONS ISSUES DE L'EXTRAIT TOTAL ETHERE DE FEUILLES LPP-03-2017 (ANNONACEAE).

**Programme thématique :** Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines (PMTA)

**Réseau de recherche :** Développement de phytomédicaments contre la douleur et l'inflammation

#### **Objectif**

LPP-03-2017 (ANNONACEAE) est une plante de la pharmacopée traditionnelle africaine. Au Sénégal, ses feuilles sont utilisées en milieu traditionnel dans le traitement de la douleur et de l'inflammation. Des travaux préliminaires avaient montré l'activité anti-inflammatoire de l'extrait total étheré de feuilles de cette plante. La présente étude avait pour objectif de mettre en évidence les bases pharmacologiques de l'utilisation traditionnelle des feuilles de LPP-03-2017 dans le processus inflammatoire

#### **Méthodes**

La poudre de feuilles de LPP-03-2017 a été extraite par décoction avec de l'ether. L'extrait total étheré a été fractionné avec du méthanol. Les composés de la F-101 ont été séparés par chromatographie d'exclusion diffusion sur gel de Sephadex.

Les différents extraits ont été testés sur le modèle de l'œdème inflammatoire à la carraghénine.

#### **Résultats**

L'administration de la carraghénine à 1 % dans le coussinet plantaire chez le rat induit un œdème inflammatoire. La variation de l'œdème inflammatoire est de  $49,23 \pm 4,97$  % ;  $85,6 \pm 15,69$  % et  $107,6 \pm 20,01$  % respectivement à  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$ .

L'administration de la F-101 de l'extrait total étheré de feuilles de LPP-03-2017 (10 mg/kg, *per os*) prévient de façon significative l'induction de l'œdème inflammatoire par la carraghénine. En effet, la variation de l'œdème inflammatoire est de  $13,6 \pm 4,76$  % ;  $37,46 \pm 9,79$  % et  $52,72 \pm 15,91$  % aux temps  $T_{1h}$ ,  $T_{3h}$  et  $T_{5h}$ . La F-101-4 de la F-101 prévient l'apparition de l'œdème inflammatoire à la carraghénine de façon dépendante à la dose. A 300 µg/kg *per os* de la F-101-4, la variation de l'œdème inflammatoire observée au bout de 5 h est de  $52,77 \pm 7,36$  %. A 1 mg/kg, la variation de l'œdème inflammatoire à la carraghénine par la F-101-4 est de  $33,81 \pm 6,94$  %, 5 h après induction de l'œdème. La prévention de l'œdème inflammatoire à la carraghénine par la F-101-4 (1 mg/kg, *per os*) de la F-101 est identique à celle observée avec l'Acide Acétyl Salicylique administré à la dose de 100 mg/kg.

La variation de l'œdème inflammatoire à la carraghénine après administration *per os* de la Bétaméthasone à la dose de 1 mg/kg est de  $23,46 \pm 3,99$  % au bout de 5 h. Elle n'est pas significativement différente de celle observée avec la F-101-4 (1 mg/kg, *per os*) administrée dans les mêmes conditions.

#### **Conclusion**

Les composés de la F-101-4 de la F-101 possèdent une puissante activité anti-inflammatoire comparable à celle des glucocorticoïdes.

**Mots clés :** Inflammation, Carraghénine, de LPP-03-2017, Acide Acétyl Salicylique, Bétaméthasone

## Communication orale N°3 :



### C14 ETUDE IN VIVO ET IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTIINFLAMMATOIRE D'EXTRAITS DE FEUILLES D'ANNONA SENEGALENSIS PERS. (ANNONACEAE)

SENE Madiéye<sup>1</sup>, BARBOZA F.S.1, SARR A2, NDONG A.1, WELE A.3, BASSENE E.2, SY G.Y.1

<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie, FMPO, UCAD, BP 5005, Dakar-Fann

<sup>2</sup>Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique, FMPO, UCAD, BP 5005, Dakar-Fann

<sup>3</sup>Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, FMPO, UCAD, BP 5005, Dakar-Fann

#### Introduction

*Annona senegalensis* (ANNONACEAE) est une plante de la pharmacopée traditionnelle africaine. Au Sé-

XVIII *J.M., Pharmaceutiques, Odontologiques et Vétérinaires*

168

négal, ses feuilles sont utilisées en milieu traditionnel dans le traitement de la douleur et de l'inflammation. La présente étude avait pour objectif de mettre en évidence les bases pharmacologiques de l'utilisation traditionnelle des feuilles d'*A. senegalensis* dans le traitement de la douleur et de l'inflammation.

#### Méthodes

La poudre de feuilles d'*A. senegalensis* a été extraite par décoction avec de l'éther. L'extrait total à l'éther a été fractionné avec du méthanol. Les composés de la fraction méthanolique ont été séparés par chromatographie d'exclusion diffusion sur gel de Sephadex. Les différentes fractions ont été testées sur des modèles in vivo d'étude de la douleur et de l'inflammation. L'effet inhibiteur de la fraction méthanolique et la fraction fille F4 a été évalué in vitro sur la phospholipase A2 (PLA2).

#### Résultats

L'administration de la fraction méthanolique (3 mg/kg, per os) prévient de façon significative l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine. La variation de l'œdème inflammatoire est de 24,76±6,23 % à T5h. La fraction fille F4 prévient l'apparition de l'œdème inflammatoire à la carraghénine de façon dépendante à la dose. A 300 µg/kg per os de la fraction fille F4, la variation de l'œdème inflammatoire observée au bout de 5 h est de 52,78±7,36 % vs 103,46±8,95 % dans le groupe contrôle. La variation de l'œdème inflammatoire après administration de la dose de 1 mg/kg per os de la fraction fille F4 est de 33,82±6,95 % au bout de 5 h.

La variation de l'œdème inflammatoire à la carraghénine après administration per os de la Bétaméthasone à la dose de 1 mg/kg est de 23,47±3,99 % au bout de 5 h. La prévention de l'œdème inflammatoire par la Bétaméthasone n'est pas significativement différente de celle observée avec la fraction fille F4 administrée dans les mêmes conditions.

A la dose de 300 µg/kg per os, la fraction fille F4 prévient de façon significative la douleur induite par l'acide acétique chez la souris. Le nombre de contorsions observé est de 21 versus 72 dans le groupe contrôle.

La fraction méthanolique et la fraction fille F4, inhibent la PLA2 de façon dépendante à la concentration. En effet, à 300 µg/mL des fractions méthanolique et fille F4, les pourcentages d'inhibition de la PLA2 sont respectivement 17,43 et 16,39.

#### Conclusion

Les fractions méthanolique et fille F4 induisent une action analgésique et antiinflammatoire identique à celle des glucocorticoïdes. L'action antiinflammatoire de ces fractions mettrait au moins en jeu l'inhibition de la PLA2.

**Mots clés :** Douleur, Inflammation, *Annona senegalensis*, Feuilles, PLA2.

# THESE DE DOCTORAT, Spécialité : PHARMACOLOGIE

**Nom et prénoms du Candidat :** SENE Madièye

**Titre de la thèse :**

ETUDE DU MECANISME D'ACTION ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANALGESIQUE DE COMPOSES PHYTOCHIMIQUES D'EXTRAITS DE FEUILLES DE LPP-03-2017 (ANNONACEAE).

**Date et lieu de soutenance :** Le 27 juillet 2017 à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie.

## Résumé

LPP-03-2017 (ANNONACEAE) est une plante de la pharmacopée traditionnelle africaine. Au Sénégal, ses feuilles sont utilisées en milieu traditionnel dans le traitement de la douleur et de l'inflammation. Des travaux préliminaires avaient montré l'activité anti-inflammatoire de l'extrait total à l'éther de feuilles de cette plante. La présente étude avait pour objectif de mettre en évidence les bases pharmacologiques de l'utilisation traditionnelle des feuilles de LPP-03-2017 dans le traitement de la douleur et de l'inflammation.

La poudre de feuilles de LPP-03-2017 a été extraite par décoction avec de l'éther. L'extrait total à l'éther a été fractionné avec du méthanol. Les composés de la F-101 ont été séparés par chromatographie d'exclusion diffusion sur gel de Sephadex. Les différentes fractions ont été testées sur des modèles *in vivo*, d'œdème inflammatoire à la carraghénine chez le rat et de douleur à l'acide acétique chez la souris, et *in vitro* d'inhibition de la phospholipase A<sub>2</sub>.

L'administration de la F-101 de E-101 de feuilles de LPP-03-2017 (3 mg/kg, *per os*) prévient de façon significative l'œdème inflammatoire induit par la carraghénine. En effet, la variation de l'œdème inflammatoire est de 24,76±6,23 % à T<sub>5h</sub>. La F-101-4 de la F-101 prévient l'apparition de l'œdème inflammatoire à la carraghénine de façon dépendante à la dose. A 300 µg/kg *per os* de la F-101-4, la variation de l'œdème inflammatoire observée au bout de 5 h est de 52,78±7,36 %, elle est de 33,82±6,95 % à la dose de 1 mg/kg, 5 h après induction de l'œdème. La variation de l'œdème inflammatoire à la carraghénine après administration *per os* de la Bétaméthasone à la dose de 1 mg/kg est de 23,47±3,99 % au bout de 5 h. La prévention de l'œdème inflammatoire par la Bétaméthasone n'est pas significativement différente de celle observée avec la F-101-4 administrée dans les mêmes conditions. A la dose de 300 µg/kg *per os*, la F-101-4 prévient de façon significative la douleur induite par l'acide acétique chez la souris. Le nombre de contorsions observé chez la souris après administration de la F-101-4 est de 21,00±2,07 versus 72,60±6,64 dans le groupe contrôle. La F-101 et la F-101-4 de feuilles de LPP-03-2017, inhibent la sPLA<sub>2</sub> de façon dépendante à la concentration. En effet, à 300 µg/mL des fractions méthanolique et F-101-4, les pourcentages d'inhibition de la sPLA<sub>2</sub> sont respectivement 17,43 et 16,39.

La F-101 et la F-101-4 induisent une action analgésique et anti-inflammatoire identique à celle des glucocorticoïdes. L'action anti-inflammatoire de ces fractions mettrait en jeu l'inhibition de la sPLA<sub>2</sub>.

**Mots clés :** Inflammation, Douleur, LPP-03-2017, feuilles, sPLA<sub>2</sub>.

---

## PhD, Speciality : PHARMACOLOGY

**Name and first name :** SENE Madièye

**Thesis title :**

ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC ACTION MECHANISM STUDY OF PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS OF LPP-03-2017 (ANNONACEAE) LEAF EXTRACTS.

**Defense date :** July 27, 2017 at the Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie.

## Abstract

LPP-03-2017 (ANNONACEAE) is a plant of african traditional pharmacopeia. In Senegal, its leaves are used in traditional medicine in the treatment of pain and inflammation. The present study aimed to investigate the pharmacological basis of traditional uses of LPP-03-2017 leaves in the treatment of pain and inflammation.

The powder of de LPP-03-2017leaves was extracted by decoction with petroleum ether. The total ethereal extract was fractionated with methanol. The compounds of F-101 were separated by Sephadex gel chromatoghaphy. The different fractions were tested with *in vivo* models of inflammatory edema induced with carrageenan and pain induced with acetic acid in mice. The inhibitory effect on sPLA<sub>2</sub> of methanolic and F-101-4 fractions was investigated *in vitro*.

The *per os* administration of MF (3 mg/kg) significantly prevented inflammatory edema induced with carrageenan. The variation of inflammatory edema is 24.76±6.23 % at T5h. The F-101-4 also prevented edema in dose-dependent manner. The edema variation after F-101-4 administered *per os* at 300 µg/kg is 52.78±7.36 % vs 103.46±8.95 % in control group at T5h. The variation of edema inflammatory is 33.82±6.95 % at T5h after F-101-4 (1 mg/kg) administered *per os*. Betamethasone (1 mg/kg, *per os*) prevented inflammatory edema induced with carrageenan. The variation of edema is 23.47±3.99 % at T5h. Betamethasone induced edema prevention is not significantly different to F-101-4 administered in the same conditions. At the dose of 300 µg/kg *per os*, the F-101-4 significantly prevented contortions induced with acetic acid in mice. The number of contortions is 21.00±2.07 vs 72.60±6.64 in control group. The methanolic and F-101-4 inhibited sPLA<sub>2</sub> in concentration dependent manner at 300 µg/mL of methanolic and F-101-4, the percentages of inhibition of sPLA<sub>2</sub> are respectively 17.43 and 16.39.

F-101 and F-101-4 induced analgesic and anti-inflammatory activities similar to glucocorticoids. The anti-inflammatory action of LPP-03-2017 leaf fractions was probably at least linked to sPLA<sub>2</sub> inhibition.

**Keywords :** Inflammation, Pain, de LPP-03-2017, Leaves, sPLA<sub>2</sub>.