

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique

**Arg :** Arginine

**AVC :** Accidents Vasculaires Cérébraux

**CCMH :** Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine)

**CD36:** Classe de Différenciation

**GAE:** Equivalent Acide Gallique

**GAG :** Guanine Adénine Guanine

**GTG:** Guanine thymine Guanine

**H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> :** Acides Phosphomolybdéne

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub> :** Acides Phosphotungsténe

**Hb:** Hémoglobine

**HbF :** Hémoglobine Fœtale

**HCl :** Acide Chlorhydrique

**HTAP :** Hypertension Artérielle Pulmonaire

**IEC :** Inhibiteurs de l'Enzyme de Conversion

**Na:** Sodium

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> :** Carbonate de Sodium

**NaOH:** Hydroxyde de Sodium

**NO:** Monoxyde d'Azote

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**ONU:** Organisation des Nations Unies

**PCR:** Polymérase Chain réaction

**PEV:** Programme Elargie de Vaccination

**pH :** Potentiel d'hydrogène

**PO<sub>2</sub>:** Pression Partielle en oxygène

**UNESCO:** United Nations, Scientific and Cultural Organization,

**VCAM:** VascularCellLesionMolecule

**VIH :** Virus de l'Immunodéficience Humaine

**Vwf:** Von Willebrand

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| Tableau I : Eléments chimiques .....  | 28 |
| Tableau II : Rendement de l'extraction des composés chimiques.....  | 43 |
| Tableau III : Concentration et absorbance de l'acide gallique .....   | 43 |
| Tableau IV : Teneur des polyphénols totaux .....  | 45 |
| Tableau V : Activité antifalciformiante <i>in vitro</i> des fractions de <i>Maytenus</i> ..   | 46 |
| Tableau VI : Activité antifalciformiant <i>in vitro</i> des fractions de <i>Maytenus senegalensis</i> et de l'arginine à [0,5mg/ml] ..... | 47 |
| Tableau VII : Activité antifalciformiant <i>in vitro</i> des fractions de <i>Maytenus senegalensis</i> et de l'arginine à [5 mg/ml] ..... | 48 |

## LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| Figure 1 : Structure du glutamate et de la valine .....   | 7  |
| Figure 2 : Illustration de la transmission autosomique récessive (Labie, 1984)...                             | 7  |
| Figure 3 : Répartition de la drépanocytose dans le monde (Kéclard, 2004).....                                 | 9  |
| Figure 4 : Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose (El Jai<br>Badr, 2012) .....              | 10 |
| Figure 5 : Conséquence de la substitution de l'adénine par la thymine (El Jai<br>Badr, 2012) .....            | 11 |
| Figure 6 : Résultats d'un test d'Emmel positif et négatif .....   | 17 |
| Figure 7 : Résultat d'un test d'Itano : 1 (négatif) ; 2 (positif).....  | 18 |
| Figure 8 : Structure du paracétamol .....   | 21 |
| Figure 9 : Image de la plante (feuilles et fleurs) (Arbonier, 2002) .....                                     | 26 |
| Figure 10 : Structure de la pristimerin .....   | 29 |
| Figure 11 : Racines de <i>Maytenus senegalensis</i> .....   | 34 |
| Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....   | 44 |
| Figure 13 : Evolution moyenne des drépanocytes en fonction du temps à la<br>concentration de 0,05 mg/ml ..... | 46 |
| Figure 14 : Evolution moyenne des drépanocytes en fonction du temps à la<br>concentration de 0,5 mg/ml .....  | 48 |
| Figure 15 : Evolution moyenne des drépanocytes en fonction du temps à la<br>concentration de 5 mg/ml .....    | 49 |

## TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| <b>INTRODUCTION</b> .....  | 1  |
| <b>PREMIER PARTIE: GENERALITES SUR LA DREPANOCYTOSE ET SUR LE <i>MAYTENUS SENEGALENSIS</i></b> ..... | 5  |
| Chapitre I : GENERALITES SUR LA DREPANOCYTOSE.....   | 6  |
| I. HISTORIQUE.....   | 6  |
| II. EPIDEMIOLOGIE .....  | 6  |
| II.1. Transmission génétique .....   | 6  |
| II.2. Distribution géographique .....  | 8  |
| III. PHYSIOPATHOLOGIE .....  | 9  |
| IV. MANIFESTATIONS CLINIQUES.....  | 11 |
| IV.1. Drépanocytose homozygote SS .....  | 11 |
| IV.1.1. Phase stationnaire.....  | 12 |
| IV.1.1.1. Signes cliniques.....  | 12 |
| IV.1.1.2. Signes biologiques .....   | 12 |
| IV.1.2. Crises douloureuses vaso-occlusives .....  | 12 |
| IV.1.3. Complications aiguës .....   | 13 |
| IV.1.3.1. Anémies aiguës .....   | 13 |
| IV.1.3.2. Infections graves .....  | 13 |
| IV.1.3.3. Complications vaso-occlusives graves .....   | 14 |
| IV.1.4. Complications chroniques.....  | 15 |
| IV.1.4.1. Ulcères de jambes .....  | 15 |
| IV.1.4.2. Atteintes ostéoarticulaires chroniques .....   | 15 |
| IV.1.4.3. Atteintes oculaires.....   | 15 |
| IV.1.4.4. Autres complications.....  | 16 |
| IV.2. Drépanocytose hétérozygote AS.....   | 16 |
| V. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA DREPANOCYTOSE .....   | 16 |
| V. 1. Les Tests de dépistages .....  | 17 |
| V. 1.1. Le Test d'EMMEL .....  | 17 |

|   |           |
|---|-----------|
| V .1.2. Le Test d'ITANO .....                                       | 17        |
| V. 2. Tests d'identification .....                                  | 18        |
| V.2.1. Hémogramme .....   | 18        |
| V.2.2. Electrophorèse de l'hémoglobine.....                         | 18        |
| V.2.3. Isoelectrofocalisation ou focalisation isoélectrique .....   | 19        |
| V.2.4. Diagnostic anté natal .....                                  | 19        |
| VI. PRISE EN CHARGE DE LA DREPANOCYTOSE.....                        | 19        |
| VI.1. Correction de l'anémie.....                                   | 20        |
| VI.2. Prise en charge des douleurs .....                            | 20        |
| VI.3. Prise en charge des infections .....                          | 22        |
| VI.4. Prise en charge des complications .....                       | 22        |
| VI.5. Thérapeutiques intensives.....                                | 23        |
| VI.6. Médecine traditionnelle face à la drépanocytose.....          | 24        |
| Chapitre II : GENERALITES SUR LE <i>MAYTENUS SENEGALENSIS</i> ..... | 26        |
| I.    DESCRIPTION BOTANIQUE .....                                   | 26        |
| II.   PLACE SYSTEMATIQUE .....                                      | 26        |
| III.  DIFFERENTES APPELLATIONS.....                                 | 27        |
| IV.  COMPOSITION CHIMIQUE .....                                     | 27        |
| V.   PHARMACOLOGIE.....   | 29        |
| VI.  UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE .....                  | 30        |
| <b>DEUXIEME PARTIE TRAVAIL EXPERIMENTAL .....</b>                   | <b>32</b> |
| I.OBJECTIFS DE L'ETUDE.....   | 33        |
| II.CADRE DE L'ETUDE .....   | 33        |
| III.MATERIEL ET METHODE .....                                       | 33        |
| III.1. Matériel .....   | 33        |
| III.1.1. Matériel végétal.....                                      | 33        |
| III.1.2. Matériel chimique .....                                    | 34        |

|  |           |
|--|-----------|
| III.1.3. Matériel de laboratoire .....                               | 35        |
| III.1.4. Matériel biologique .....                                   | 36        |
| III.2. Méthodes .....  | 36        |
| III.2.1 Extractions et dosages des composés chimiques présents ..... | 36        |
| III.2.1.1. Extractions des tanins.....                               | 36        |
| III.2.1.2. Extraction des Polyphénols totaux.....                    | 37        |
| III.2.1.3. Extraction des saponosides .....                          | 38        |
| III.2.1.2. Dosages des polyphénols totaux .....                      | 38        |
| <b>IV.ETUDE DE L'ACTIVITE DES EXTRAITS OBTENUS .....</b>             | <b>39</b> |
| IV.1. Principe .....   | 39        |
| IV.2. Préparations des solutions.....                                | 40        |
| IV.2.1. Préparation de la solution tampon phosphate à pH 7,4 .....   | 40        |
| IV.2.2. Préparation des solutions à tester.....                      | 40        |
| IV.3. Test d'Emmel.....  | 41        |
| <b>V.RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>                               | <b>43</b> |
| V.1. Résultats .....   | 43        |
| V.1.1. Rendement de l'extraction des groupes chimiques.....          | 43        |
| V.1.2 Teneur des polyphénols totaux.....                             | 43        |
| V.1.3 Test d'Emmel .....   | 45        |
| V.2. Discussion.....   | 50        |
| <b>CONCLUSION.....</b>   | <b>54</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>                              | <b>58</b> |

# **INTRODUCTION**

La drépanocytose ou anémie falciforme est une maladie génétique héréditaire grave, à transmission autosomique récessive. Elle est due à une mutation unique et ponctuelle du gène  $\beta$ -globine situé sur le chromosome 11. Cette mutation est caractérisée par le remplacement d'un acide aminé par un autre (acide glutamique remplacé par une valine). La conséquence est la synthèse d'une molécule anormale d'hémoglobine dénommée hémoglobine S (HbS), qui présente une diminution de solubilité à l'état désoxygéné.

Elle est la maladie génétique la plus fréquente au monde, avec un taux de prévalence de plus de 50%, dont beaucoup d'enfants (**Weatherall, 2000**). Elle cause un véritable problème de santé publique.

La maladie drépanocytaire comprend :

- ✓ Le syndrome drépanocytaire majeur correspondant aux formes homozygotes SS et hétérozygotes composites S/C, S/D, S/bêta thalassémie, etc.
- ✓ Le trait drépanocytaire correspondant à la forme hétérozygote AS.

Pour l'OMS, l'UNESCO et l'ONU, la drépanocytose occupe le quatrième rang dans leur priorité de santé publique mondiale, derrière le cancer, le VIH /SIDA et le paludisme.

Au Sénégal, le portage du trait drépanocytaire est de 10% dans la population alors les formes majeurs d'hémoglobinopathies représentent 0,5% des naissances (**Cissé, 1998**).

Les symptômes de cette maladie apparaissent dès l'âge de six mois.

La maladie se manifeste par :

- des crises douloureuses qui nécessitent parfois des hospitalisations,
- par de la fatigue liée à l'anémie et traitée par transfusion,
- une sensibilité aux infections (d'où une antibiothérapie quotidienne jusqu'à l'adolescence).

Des risques de complications graves peuvent survenir.

Certes la médecine moderne a fait ses preuves, et son efficacité est dans une large mesure incontestable avec l'utilisation des nouvelles tendances thérapeutiques telles que la greffe de la moelle osseuse, l'utilisation des agents anti drépanocytaires. A côté de ces traitements la thérapie génique peut être utilisée selon l'état de la maladie.

On considère à l'heure actuelle que près de 75% de la population africaine utilisent les plantes comme traitement de première intention. Ces populations par leur niveau social défavorable, et leur manque d'éducation à la santé utilisent de manière inappropriée les plantes qui les entourent pour se soigner et n'ont pas accès aux médicaments dits «modernes » **(Diop, 2012)**.

Au Burkina Faso, l'association de *Fagara zanthoxyloides* (encore appelé *Zanthoxylum xanthoxyloides*) et du *Calotropis procera* appelé le «FACA » est utilisé dans le traitement de la drépanocytose **(Kerharo, 1974)**.

Au Sénégal certains tradipraticiens utilisent l'association *Fagara zanthoxyloides* et *Maytenus senegalensis* dans le traitement des crises de la drépanocytose **(Diagne, 1999)**.

De même une étude ethnobotanique a montré que la macération des racines de *Maytenus senegalensis*, le pelé vert ou épicarpe de *Carica papaya* et des racines de *Leptadenia hastata* ont des effets antifalcémiant sur les hématies falciformes **(Yuma, 2013)**.

Dans le cadre de cette étude nous avons comme objectif général d'étudier l'effet des groupes chimiques des racines de *Maytenus senegalensis* sur les globules rouges falciformes. Cet objectif est décliné en objectifs spécifiques. Il s'agit d'abord de faire l'extraction des groupes chimiques, de les doser et ensuite de les évaluer en le comparant avec une référence (arginine).

Pour cela nous avons décidé de présenter notre travail comme suit :

La première partie est consacrée aux études bibliographiques sur la drépanocytose et sur le *Maytenus senegalensis*.

La deuxième partie est consacrée aux travaux réalisés au laboratoire : extraction, dosage et la recherche *in vitro* d'activité antifalcémiant de *Maytenus senegalensis* sur le sang de patients drépanocytaires de type SS.

**PREMIERE PARTIE: GENERALITES SUR LA  
DREPANOCYTOSE ET LE *MAYTENUS*  
*SENEGALENSIS***

## **Chapitre I : GENERALITES SUR LA DREPANOCYTOSE**

### **I. HISTORIQUE**

C'est en 1910, que JAMES HERRICK a découvert pour la première fois la maladie chez un étudiant noir la présence d'hématies déformées en forme de faucille. Cette caractéristique drepanos= faucille en grecque donnera à la maladie le nom d'anémies à cellules falciformes.

En 1917, EMMEL évoqua le caractère familial de la maladie et démontra la déformation des globules rouges chez un parent d'un malade.

En 1929, HAHAN et GILLEPSIE découvrirent que la déformation cellulaire est réversible et n'apparaît qu'à basse tension d'oxygène, lorsque la pression partielle d'oxygène (PO<sub>2</sub>) est inférieure à 50 mmHg

Puis NEEL, en 1947, définit le trait drépanocytaire et établit le mode de transmission génétique selon les lois de Mendel.

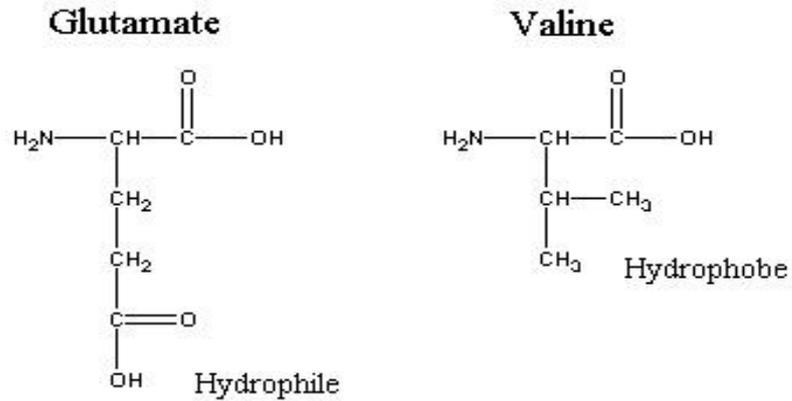
En 1949, PAULING et COLL ont démontré la différence électrophorétique entre l'hémoglobine drépanocytaire S et l'hémoglobine du sujet normal.

En 1972, Kan et COLL envisagent le diagnostic prénatal de la maladie pour une prise en charge précoce vu le risque pathologique encouru dans la petite enfance par les porteurs de la tare.

### **II. EPIDEMIOLOGIE**

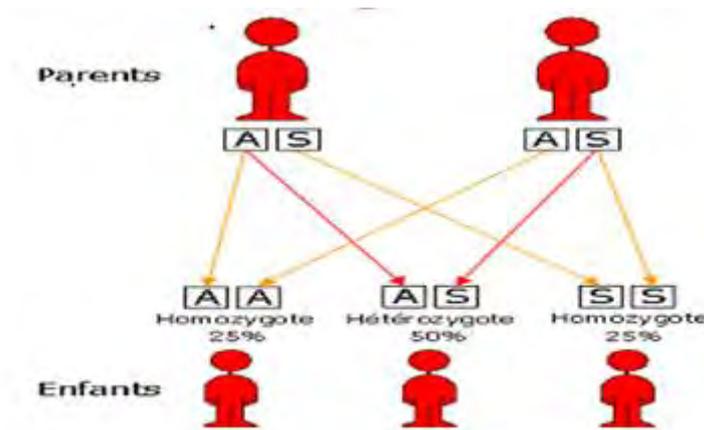
#### **II.1. Transmission génétique**

La drépanocytose est une maladie génétique héréditaire de l'hémoglobine. L'hémoglobine S diffère de l'hémoglobine A au niveau du sixième codon de la chaîne bêta, où l'acide glutamique est remplacé par la valine. Sur le plan génétique, on note une substitution qui est sous la dépendance d'une mutation portant sur le gène de structure de la chaîne bêta (GAG est remplacé par GTG) située sur le chromosome 11 (Dieye, 2013).



**Figure 1 :** Structure du glutamate et de la valine

Selon Mendel seuls les sujets homozygotes présentent des manifestations cliniques de la maladie.



**Figure 2 :** Illustration de la transmission autosomique récessive (Labie, 1984)

Ces deux parents portent le gène muté (« S »), mais ils ne sont pas malades (figure 2) (on dit qu'ils sont hétérozygotes).

L'enfant SS a récupéré les deux gènes mutés de son père et de sa mère : il est atteint de la drépanocytose (on dit qu'il est homozygote).

L'enfant AA n'a hérité d'aucun gène muté, ni de sa mère ni de son père : il n'est pas malade,

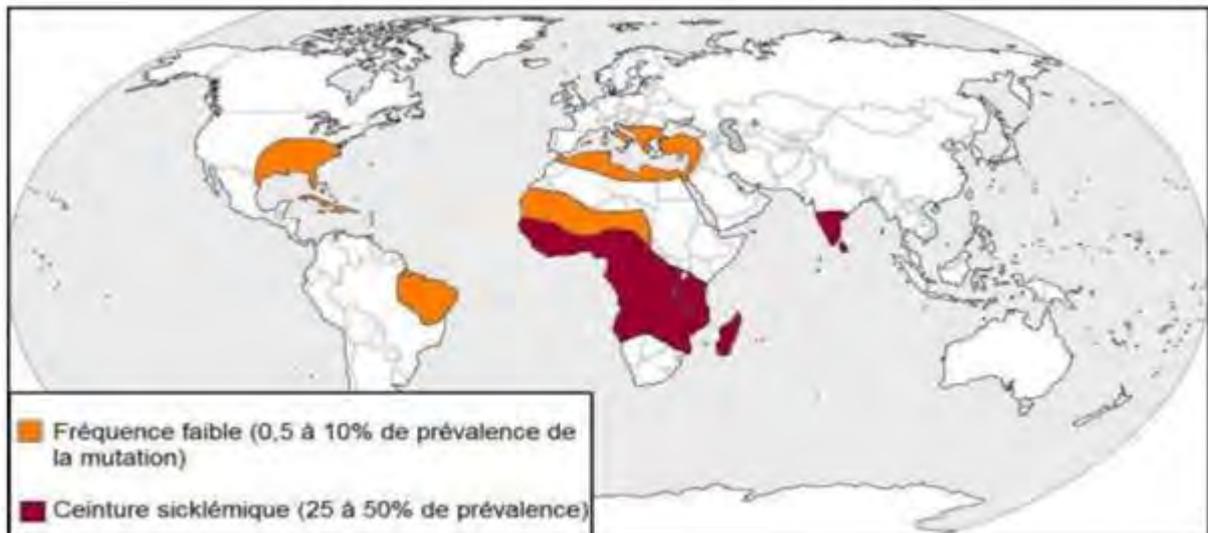
Dans chaque globule rouge, chez les drépanocytaires de type AS, la moitié de l'hémoglobine est A, l'autre moitié est S, il n'y a pas de symptômes particuliers car l'hémoglobine A normale « compense » la présence de l'hémoglobine S. En revanche chez les drépanocytaires de type SS, toute l'hémoglobine contenue dans les globules est anormale : la maladie est présente.

## II.2. Distribution géographique

La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue, et on estime que 50 millions d'individus en sont atteints dans le monde (**Weatherall, 2000**). Il est vrai qu'elle est fréquente en Afrique subsaharienne, mais on la retrouve aussi dans d'autres régions. Sa répartition varie avec les migrations des populations noires africaines.

La drépanocytose est fréquente, en Amérique du Nord (Etats-Unis), en Amérique du Sud (Brésil), au Moyen-Orient, en Inde et dans les Antilles. Elle est maintenant répandue en France, en Angleterre, au Portugal, en Belgique, aux Pays-Bas, en Allemagne etc. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), chaque année 300.000 enfants naissent avec cette maladie dans le monde (**Fall, 2008**).

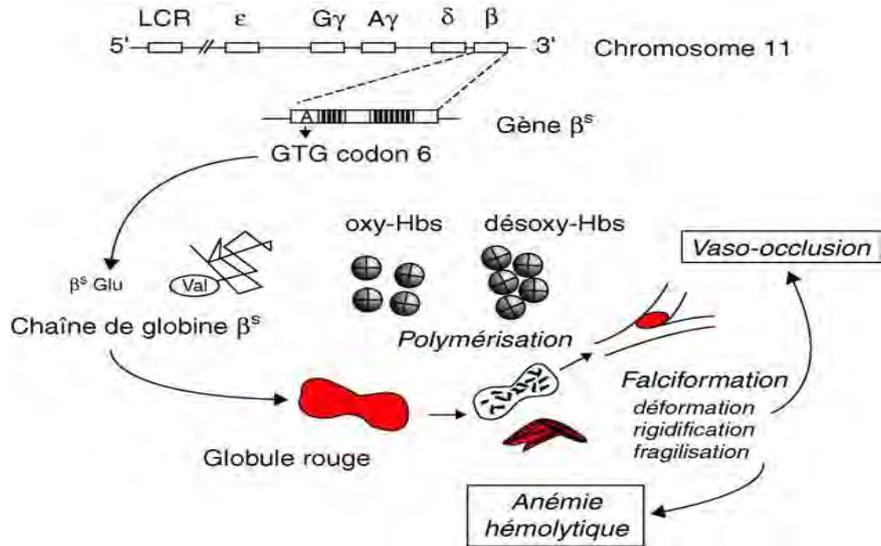
Ainsi, même si elle est largement répandue en Afrique et qu'elle est l'hémoglobinopathie la plus fréquente en Afrique noire, la drépanocytose n'est pas une maladie des noirs comme on le dit souvent. Les taux les plus élevés du trait drépanocytaire sont enregistrés entre le 15<sup>ème</sup> parallèle nord et le 20<sup>ème</sup> parallèle sud (figure 3) atteignant entre 10 à 40% de la population dans certaines régions (**Fall, 2008**). Dans les pays comme le Cameroun, la République du Congo, le Gabon, le Ghana et le Nigéria, les taux de prévalence varient entre 20 et 30%. Tandis que dans certaines régions de l'Ouganda, ils atteignent 40% (**Diagne, 2013**).



**Figure 3** : Répartition de la drépanocytose dans le monde (Kéclard, 2004)

## II. PHYSIOPATHOLOGIE

La drépanocytose a été l'une des premières maladies dont les mécanismes moléculaires ont été identifiés. C'est une maladie autosomique récessive, conséquence de la substitution d'un acide glutamique par une valine en position 6 de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine. Cette hémoglobine anormale (hémoglobine S) polymérise, lors de la désoxygénation, en longues fibres entraînant rigidification et déformation érythrocytaire à l'origine des deux manifestations principales de la maladie : hémolyse chronique et accidents vaso-occlusifs, chez les patients homozygotes SS ou des patients hétérozygotes composites (figure 4). La cinétique de polymérisation dépend du degré de désoxygénation cellulaire, du contenu intracellulaire en hémoglobine, et de la présence ou non d'hémoglobine fœtale (HbF), puisque celle-ci inhibe la polymérisation. La concentration en HbF dans les hématies est hétérogène, celles qui en contiennent très peu ont une durée de vie très courte et sont sujettes à des modifications biochimiques irréversibles, formant le principal contingent des cellules soumises au phénomène de falciformation et d'hémolyse (**Giroto, 2003**).



**Figure 4 :** Mécanisme physiopathologique de base de la drépanocytose (El Jai Badr, 2012)

L'alternance de cycles désoxygénation-polymérisation partielle et réoxygénation-dépolymérisation provoque la formation d'un contingent d'hématies appelées «cellules denses», caractérisées par une perte d'eau et d'ions, responsable d'une CCMH (concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine) très augmentée (jusqu'à 45%), et une atteinte permanente du cytosquelette membranaire aboutissant à l'apparition de drépanocytes irréversibles.

L'augmentation de l'adhésion des réticulocytes drépanocytaires à l'endothélium vasculaire a aussi été mise en évidence. Celle-ci ralentirait le flux sanguin et favoriserait la falciformation des globules rouges.

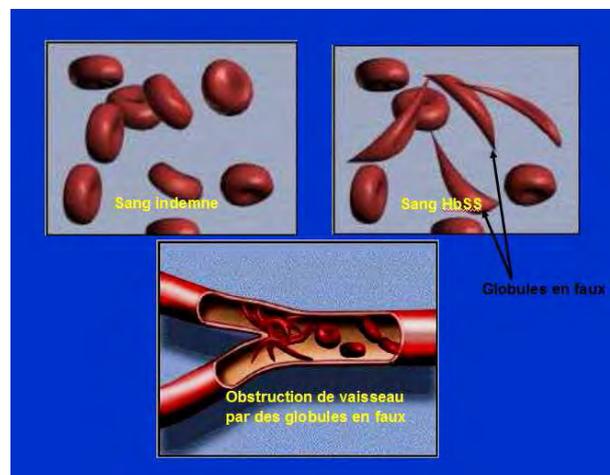
Des liaisons moléculaires complexes existent entre :

- l'intégrine  $\alpha 4 \beta 1$ , récepteur de la fibronectine sur les réticulocytes et le VCAM (vascular cell lesion molecule) sur la cellule endothéliale ;
- le récepteur CD36 qui lie la thrombospondine et le collagène, présent à la surface des cellules endothéliales, des plaquettes et de la sous-population enrichie en réticulocytes ;

- les glycolipides sulfates qui lient la thrombospondine et les multimères du facteur Von Willebrand (vWF) qui stimulent l'adhésion des globules rouges drépanocytaires.

Ainsi, les cellules jeunes, réticulocytes immatures, anormalement adhésives (réticulocyte de stress), seraient responsables du déclenchement du processus vaso-occlusif. Par ailleurs, des anomalies de la sécrétion du monoxyde d'azote (NO), régulateur principal du tonus vasculaire, ont été mises en évidence.

La libération d'hémoglobine libre induite par l'hémolyse réduit l'effet vasodilatateur du NO (Favier, 2003).



**Figure 5 :** Conséquence de la substitution de l'adénine par la thymine (El Jai Badr, 2012)

## IV. MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

### IV. 1. Drépanocytose homozygote SS

Les signes cliniques de la maladie font leur apparition après les premiers mois de vie, quand l'hémoglobine drépanocytaire a progressivement remplacé l'hémoglobine fœtale. Des révélations cliniques plus tardives, à l'âge de 2-4 ans, ne sont pas exceptionnelles. La symptomatologie clinique de la drépanocytose homozygote comporte quatre types de situations : les phases stationnaires ; les crises vaso-occlusives ; les complications aiguës ; et les complications chroniques.

## **IV.1.1. Phases stationnaires**

### **IV.1.1.1. Signes cliniques**

Elles sont marquées par un tableau d'anémie hémolytique chronique avec subictère et splénomégalie constituant la triade de chauffard, caractérisé par :

- La pâleur des téguments et muqueuses, témoin de l'anémie hémolytique chronique.
- un ictère cutanéomuqueux, lié à l'hémolyse chronique
- une splénomégalie fréquente et constante chez les nourrissons mais au fur et à mesure des années apparaît une atrophie splénique liée aux infarctus répétés.

Elle peut être accompagnée d'une hépatomégalie qui persiste longtemps dans l'enfance (**Benkerrou, 2003**).

### **IV.1.1.2. Signes biologiques**

L'hémogramme montre une anémie hémolytique plus ou moins sévère avec un taux d'hémoglobine entre 4% et 10%, normochrome normocytaire régénérative et présence de drépanocytes. Un volume globulaire moyen normal, une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles pouvant atteindre 300000 avec un thrombocyte modéré. Dans le frottis sanguin on retrouve des drépanocytes et de corps de Jolly (**Benkerrou, 2003**).

## **IV.1.2. Crises douloureuses vaso-occlusives**

Elles sont les manifestations les plus fréquentes de la maladie drépanocytaire. Elles résultent de l'obstruction de petits vaisseaux sanguins par les globules rouges falciformes.

Elles dominent souvent la symptomatologie dans la petite enfance et l'adolescence. Elles sont favorisées par la déshydratation, le manque d'oxygène (séjour en altitude, infection pulmonaire, crise d'asthme, voire simple gros rhume avec gêne respiration nocturne), l'exposition au froid et les efforts physiques trop intenses.

Chez le jeune enfant le tableau typique et souvent révélateur de la maladie est la dactylite aiguë ou syndrome pied-mains qui est une atteinte inflammatoire des extrémités, souvent associée à un syndrome fébrile. La drépanocytose est une maladie douloureuse. En raison de la récurrence de la douleur et de son intensité, de nombreux patients la redoutent. Quand elle s'associe à d'autres complications, notamment chroniques, elle peut participer à la constitution de véritables syndromes psychiatriques (**Lionnet, 2009**).

### **IV.1.3. Complications aiguës**

#### **IV.1.3.1 Anémies aiguës**

Du fait de la fragilité de leurs globules rouges, les enfants drépanocytaires manquent de globules rouges : ils sont anémiques.

Ce degré d'anémie « de base » varie d'un enfant à l'autre.

De plus, cette anémie peut s'aggraver, progressivement ou brutalement en particulier lors des épisodes infectieux.

La rate peut également, chez les enfants, piéger brutalement une grande quantité de globules rouges : c'est la séquestration splénique. Quel que soit le mécanisme, l'enfant sera alors plus pâle, plus fatigué et aura parfois les yeux jaunes avec des urines plus foncées (témoins d'une accentuation de la destruction des globules rouges) (**Wajcman, 2004**).

Une érythroblastopénie dû à une infection par le parvovirus B19 dont le tropisme pour la lignée érythroïde provoque une anémie arégénérative (**Giroit, 2003**).

#### **IV.1.3.2 Infections graves**

Elles sont beaucoup plus fréquentes chez les patients drépanocytaires de type SS, dans les premières années de la vie (avant 5 ans) (**Lionnet, 2009**). Ces infections sont principalement dues : aux pneumocoques, aux salmonelles, à *Haemophilus influenzae* et elles ont tendance à se généraliser et à entraîner des

septicémies. Les ostéomyélites sont le plus souvent dues à des salmonelles ; mais également à des staphylocoques et à d'autres germes à gram négatif.

#### **IV.1.3.3. Complications vaso-occlusives graves**

##### ➤ Syndrome thoracique aiguë

Le syndrome thoracique est le deuxième motif d'hospitalisation. Il s'agit d'une pathologie potentiellement grave dont la mortalité approche 5% dans certaines séries et qui représente près de 25% des causes de décès chez l'adulte. Il est caractérisé par la survenue d'une douleur thoracique associée à une symptomatologie pulmonaire et une fièvre. Il existe un foyer pulmonaire clinique ou radiologique, associé dans 50% des cas à un épanchement pleural. Le syndrome thoracique est accompagné d'une crise vaso-occlusive osseuse dans plus de 80% des cas chez l'adulte, alors qu'il est souvent isolé chez l'enfant. Il existe une hyperleucocytose même en l'absence d'infection. Les prélèvements bactériologiques sont le plus souvent négatifs, car le syndrome thoracique est rarement d'origine infectieuse chez l'adulte (**Parot, 2003**).

##### ➤ Priapisme

C'est une complication qui débute vers l'âge de 12 ans mais il est plus fréquent chez l'adulte. Il se manifeste par une érection douloureuse permanente par thrombose du corps caverneux en dehors de tout contexte d'activité sexuelle. C'est l'engorgement des corps caverneux par les globules rouges drépanocytaires qui entraîne une distension excessive de ces derniers. Il existe une forme aiguë qui dure plus de 3 heures et une forme intermittente, spontanément résolutive qui dure moins de 3 heures (**Géraldo, 2007**).

##### ➤ Accidents vasculaires cérébraux

Les accidents vasculaires cérébraux surviennent principalement dans l'enfance et concernent 10% des patients drépanocytaires homozygotes.

Ils sont en rapport avec une vasculopathie des gros troncs cérébraux qui se développe à partir de l'âge de 3 ans et peut être détectée par un écho-doppler transcranien annuel. Ils peuvent être d'origine ischémique.

Des accidents hémorragiques peuvent aussi survenir en raison des fréquentes anomalies artérielles déjà signalées.

#### **IV.1.4. Complications chroniques**

Sous ce terme, on regroupe les complications de la drépanocytose d'expression non aiguë, liées aux atteintes organiques provoquées par cette maladie, essentiellement du fait de la vasculopathie

Ces complications représentent une spécificité de la drépanocytose à l'âge adulte.

##### **IV.1.4.1. Ulcères de jambes**

Ils prennent la forme d'ulcérations cutanées indolores profondes chroniques localisées à la cheville ou à la face antérieure du pied. La cicatrisation est lente et laisse une peau fragile, atrophique, fine et siège de récurrences (**Koshy, 1989**).

##### **IV.1.4.2. Atteintes ostéoarticulaires chroniques**

Elles sont nombreuses, plus souvent osseuses qu'articulaires. Elles sont les signes: de crise vaso-occlusives, d'infections, de nécrose.

Chez l'adulte la complication la plus fréquente est la nécrose épiphysaire de la hanche.

##### **IV.1.4.3. Atteintes oculaires**

Elles sont le plus souvent asymptomatiques. Parfois elles sont responsables d'amaurose et de cécité par décollement rétinien ou par hémorragie vitréenne (**Hernigou, 2003**).

#### **IV.1.4.4. Autres complications**

Il s'agit essentiellement des insuffisances organiques touchant notamment le cœur, le rein, et les poumons. Parmi ces complications nous pouvons citer.

- Complications cardiaques chroniques : cardiomyopathie dilatée (en rapport avec l'anémie chronique), hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (conséquence des infarctus pulmonaires).
- Complications pulmonaires chroniques : syndrome restrictif, obstructif.
- Complications rénales chroniques : néphropathie glomérulaire

(Hyalinose segmentaire et focale), tubulopathies, insuffisance rénale chronique **(Diagne, 1999)**.

#### **IV.2. Drépanocytose hétérozygote AS**

Le trait drépanocytaire s'exprime très peu chez l'enfant. Selon **(SEARS, 2003)**, l'hétérozygote serait exempt de toute complication affectant l'état général ou hématologique dans les conditions physiologiques normales.

Des crises vaso-occlusives sont observées sous l'influence du froid, des séjours en altitude et surtout des infections **(Bernard, 1998)**.

### **V. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA DREPANOCYTOSE**

Les syndromes drépanocytaires sont des maladies génétiques de l'Hb caractérisées par la présence de l'Hb S. Outre la drépanocytose homozygote SS, qui est la forme la plus fréquente, on distingue les hétérozygoties composites associant l'hémoglobine S à une autre anomalie de l'Hb tels que les SC, S $\beta$  thalassémie etc.

Dans tous les cas, le diagnostic repose sur l'identification formelle de l'HbS.

L'étude de l'hémoglobine doit être effectuée en l'absence de transfusion les trois mois précédents, puisque celle-ci apporte à l'Hb A.

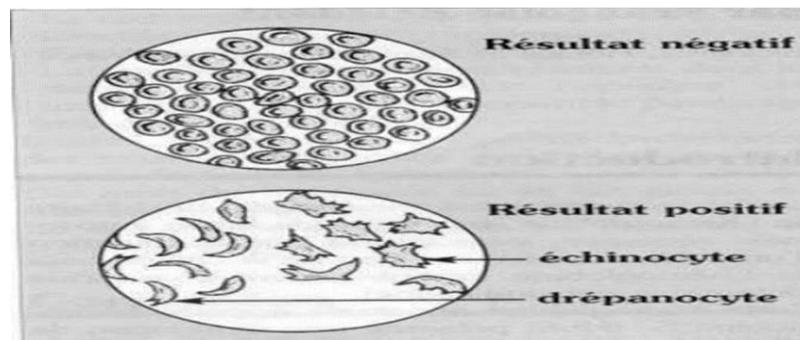
Si le patient a été transfusé, l'interprétation des résultats doit tenir compte du volume transfusé, de la date de la dernière transfusion.

## V.1. Tests de dépistages

On peut dépister la drépanocytose en utilisant les tests qualitatifs permettant de dire s'il y a présence ou non d'hémoglobines S ce sont le test d'EMMEL et le test d'ITANO.

### V.1.1. Test d'EMMEL

Mis en évidence en 1917, ce test permet de mettre en évidence *in vitro* la falciformation des hématies en hypoxie, témoins de la présence de l'hémoglobine S. On utilise le méta bisulfite de sodium à 2% pour provoquer l'hypoxie (Yameogo, 2009).

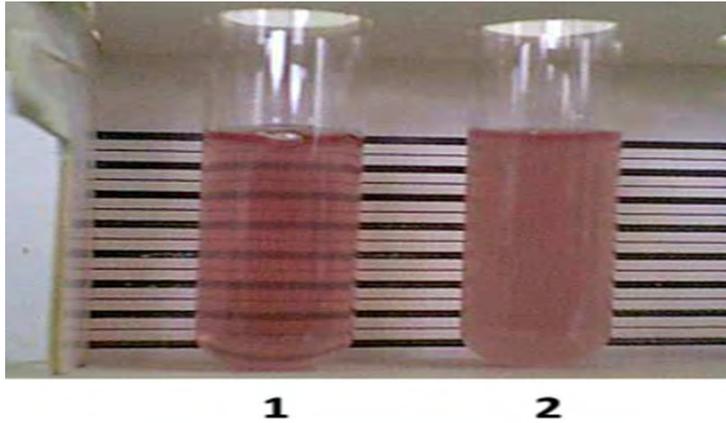


**Figure 6 :** Résultats d'un test d'Emmel positif et négatif

### V.1.2. Test d'ITANO

Ce test met en évidence *in vitro* la polymérisation de l'Hb S donc son caractère insoluble: il consiste à désoxygéner une solution diluée d'Hb, dont l'activité est fortement accrue par l'utilisation d'un tampon phosphate de force ionique élevée.

En présence d'Hb S et à température ambiante, un trouble apparaît : la centrifugation montre qu'il s'agit d'un précipité d'Hb. Chez le sujet normal (figure7) : les barres sont visibles à travers le tube 2 alors que chez le drépanocytaire les barres sont invisibles (Wajcman, 2004).



**Figure 7 :** Résultat d'un test d'Itano : 1 (négatif) ; 2 (positif)

## **V.2. Tests d'identification**

### **V.2.1. Hémogramme**

Elle montre une anémie de degré variable avec en moyenne 6 à 10g/dl. C'est une anémie normochrome normocytaire régénérative et hémolytique. Elle peut montrer:

- Une réticulocytose entre 200 000 et 600 000/mm<sup>3</sup> ;
- Une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles est habituelle de la drépanocytose pouvant atteindre 30 000 /mm<sup>3</sup> et une thrombocytose modérée. Le frottis sanguin montre la présence de drépanocytes plus ou moins nombreux associés à une anisocytose ou une poikilocytose (**Ralimana, 2009**).

### **V.2.2. Electrophorèse de l'hémoglobine**

Elle peut être utilisée pour le diagnostic. Son principe est basé sur la migration de l'hémoglobine S entre l'Hb F et l'HbA2. Le tracé de la forme homozygote SS donne ce profil :

Hb S : largement majoritaire 75-95%

Hb A2 : sensiblement élevé 2-4%

Hb F : parfois élevé mais dépasse rarement 15% (**Wajcman, 2004**).

Il existe plusieurs méthodes :

- **L'électrophorèse à pH alcalin** dont le support est l'acétate de cellulose. Elle est la plus couramment utilisée. Cette méthode résolutive permet une bonne séparation des Hb S, Hb A et Hb C en fonction de leur charge ;
- **L'électrophorèse à pH acide** dont le support est le gel d'agar, c'est un outil assez performant de caractérisation de l'Hb. Elle a l'avantage de différencier l'HbS des HbD et G.

### **V.2.3. Isoélectrofocalisation**

Elle est effectuée sur un support de polyacrylamide chargé d'ampholytes et en présence d'un gradient de pH.

Cette technique est plus sensible et plus spécifique mais également plus coûteuse. C'est la méthode de choix pour les nouveau-nés. Le prélèvement peut être réalisé sur du papier buvard et être transmis dans un laboratoire de référence utilisant cette technique. D'autres techniques peuvent être utilisées : dosage spectrophotométrique d'Hb S et Hb A2 après séparation sur micro colonnes échangeuses d'ions, CLHP (Chromatographie liquide de haute Performance) pour des laboratoires spécialisés (**Dème, 2007**).

### **V.2.4. Diagnostic anténatal**

Il est possible, lorsque les deux parents sont porteurs de la mutation de proposer un diagnostic anténatal par biopsie de trophoblaste à partir de la 11<sup>ème</sup> semaine et par amniocentèse à partir de la 17<sup>ème</sup> semaine. Le diagnostic est effectué par PCR (polymérase Chain réaction) en utilisant des sondes nucléotidiques de synthèse reconnaissant les séquences mutées et normales. Le diagnostic est effectué après amplification génique de l'ADN de la séquence correspondant à la mutation (**Labie, 2005**).

## **VI. TRAITEMENT DE LA DREPANOCYTOSE**

On ne sait pas encore guérir la drépanocytose, mais il est possible de corriger l'anémie, soulager les douleurs en période de crise, de prévenir au mieux les infections graves, de prendre en charge les complications et surtout de les prévenir avant qu'elles ne surviennent.

Dès l'annonce du diagnostic, les bébés doivent recevoir tous les jours un sirop antibiotique (pénicilline) et ce, en général, jusqu'à l'âge de 15 ans environ, afin d'éviter, dans la mesure du possible, les infections graves et les hospitalisations.

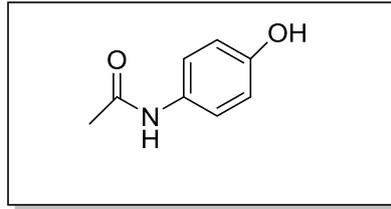
### **VI.1. Correction de l'anémie**

La plupart du temps les personnes supportent bien l'anémie. Elles se fatiguent plus vite que les autres mais n'ont pas besoin de traitement particulier. Cependant, il arrive que l'anémie s'aggrave, en raison par exemple d'un épisode de séquestration splénique ou d'une infection. Chez l'enfant on note une difficulté respiratoire, et une transfusion peut être nécessaire. La transfusion consiste à injecter au malade des globules rouges prélevés sur un donneur compatible pour maintenir un niveau acceptable de globules rouges dans le sang (EMMEL, 1917).

### **VI.2. Prise en charge des douleurs en cas de crise**

Les crises douloureuses constituent la première cause de consultation ou d'hospitalisation et sont l'une des manifestations les plus pénibles de la maladie.

Lorsqu'une crise commence, on peut d'abord prendre à domicile des médicaments anti-douleurs (antalgiques) recommandés par les médecins. Il peut être constitué d'aspirine, de paracétamol (figure 8) ou d'ibuprofène (ce dernier est évité en cas de douleurs abdominales) (Carboni, 2009).



**Figure 8 :** Structure du paracétamol

Ces médicaments permettent également de faire baisser la fièvre.

Chez certains adultes, on évite l'utilisation des anti-inflammatoires (contre indiqués en cas de grossesse, et de certaines infections pouvant retentir sur les reins). Généralement, les douleurs sont telles que l'on a recours à la morphine ou à des médicaments dérivés de la morphine (appelés opioïdes comme la nabalphine) pour soulager le malade.

Dans certains cas, ces médicaments ne suffisent pas pour calmer les douleurs. Parallèlement au traitement médicamenteux, des mesures simples doivent être prises pour apaiser le malade en cas de crise :

- Repos ;
- Boire beaucoup pour bien s'hydrater ;
- Calme (l'entourage familial doit essayer autant que possible de maintenir

Une atmosphère calme autour du malade) (**GALACTEROS, 2008**).

Souvent, la mise en place d'une oxygénothérapie est proposée pendant l'hospitalisation. Elle consiste en l'inhalation quotidienne d'un air enrichi en oxygène pour augmenter l'oxygénation des organes et donc soulager les douleurs. Certaines personnes l'utilisent avec succès à domicile.

### VI.3. Préventions des infections

Outre le Programme Elargie de Vaccination (PEV), la prévention des infections repose sur :

- La vaccination contre les germes encapsulés (anti- pneumococcique, anti-meningococcique, *anti-Haemophilus influenzae*, anti-hépatique et anti- typho-paratyphique ;
- une antibioprophylaxie à la pénicilline V à la dose de 50.000a 100.000 UI / Kg/J jusqu'à cinq à sept ans au moins
- une prophylaxie anti-palustre dans les zones d'endémie ;
- une prophylaxie antiparasitaire systématique ;
- une bonne hygiène bucco-dentaire et corporelle (**Dème, 2007**).

### VI.4. Prise en charge des complications

Parmi ces complications nous pouvons citer :

- Les ulcères des jambes qui peuvent être traités par des solutions nettoyantes et des crèmes appropriées (antiseptiques locaux).

Ils peuvent mettre longtemps à cicatriser et être très douloureux, c'est pourquoi un repos et une surélévation de la jambe sont parfois recommandés (**BALEDENT, 2006**).

- Les accidents vasculaires cérébraux surviennent principalement chez l'enfant et concernent 10 à 15% des patients drépanocytaires homozygotes. A l'âge adulte ce sont les hémorragies cérébrales par rupture d'anévrisme et les AVC distaux sans anomalie des gros vaisseaux qui prédominent. Tout patient ayant une suspicion d'AVC doit bénéficier d'un échange transfusionnel, sauf en cas de notion d'accident transfusionnel antérieur grave, et en prenant en compte d'éventuelles difficultés transfusionnelles. Si l'AVC est récent, le patient doit être adressé dans une unité spécialisée ou les actes transfusionnels peuvent être effectués sans délai (**Charache, 1995**).

- Au niveau rénal, l'atteinte la plus fréquente provoque la présence d'une protéine appelée albumine dans les urines (micro albuminurie), que les médecins recherchent systématiquement et régulièrement au cours du suivi médical. En l'absence de traitement, le risque est l'installation progressive d'une insuffisance rénale chronique grave. On utilise alors des médicaments protecteurs des reins (comme les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, IEC). Si du sang est observé dans les urines (hématurie macroscopique), le traitement associe un repos au lit ainsi qu'une bonne hydratation afin de maintenir un débit urinaire (volume d'urine) élevé.

Si les reins s'arrêtent subitement de fonctionner (insuffisance rénale aigue), un transfert en réanimation et une transfusion sont nécessaires.

- Chez les personnes présentant une altération de la fonction respiratoire (En raison des pneumonies ou de syndrome thoracique aigue); une kinésithérapie respiratoire, pour drainer la sécrétion bronchique par des massages et des mouvements spéciaux, peut être mise en place. Une aide respiratoire mécanique peut être nécessaire, l'air est insufflé par l'intermédiaires d'embouts placés dans les narines (ventilation invasive) (**GENTILINE, 1993**).

## **VI.5. Thérapeutiques intensives**

Les traitements intensifs sont les programmes transfusionnels à long terme, l'hydroxyurée et la greffe de la moelle osseuse.

➤ programmes transfusionnels à long terme

Il est important de savoir qu'un programme transfusionnel menstruel bien mené visant à maintenir le taux d'hémoglobine S en dessous de 40% permet une bonne prévention des complications de la maladie

➤ Hydroxyurée

Cette molécule favorise la sortie des pro-géniteurs hématopoïétiques plus immatures et riches en hémoglobine fœtale. Elle améliore la déformabilité

érythrocytaire et diminue l'adhésion excessive des érythrocytes drépanocytaires à l'endothélium dès les trois premiers mois de traitement.

La mise sous traitement impose une surveillance mensuelle de la numération, car des diminutions des chiffres des globules rouges, blancs, et/ou des plaquettes ne sont pas rares (**Bachir, 2000**).

➤ Greffe de la moelle osseuse

La greffe de moelle osseuse consiste à remplacer la moelle qui fabrique les globules rouges falciformes par une moelle saine (prélevée sur un membre de la famille « compatible ») qui fabriquera des globules rouges normaux. Cette procédure est réservée à un très petit nombre de malades présentant une forme très sévère de la maladie ou ayant un risque de mortalité précoce. En effet, c'est une opération qui nécessite un traitement très lourd et peut entraîner des complications graves potentiellement mortelles. Il s'agit d'une hospitalisation d'au moins six semaines pendant lesquelles le risque d'infection est élevé parce que le malade est sans défenses immunitaires durant cette période. De plus, les cellules greffées peuvent se retourner contre l'organisme du malade parce que la greffe, contient de cellules immunitaires qui reconnaissent tout ce qui est étranger. Cette réaction, appelée réaction de greffe contre l'hôte, peut être agressive pour la personne et nécessite des traitements assez lourds (**Montalembert, 2004**).

## **VI.6 Médecine traditionnelle face à la drépanocytose**

Le traitement traditionnel reste le seul moyen efficace pour la prise en charge de la drépanocytose pour certains chercheurs car jusque-là, les médicaments utilisés ne font que soulager les douleurs.

Au Burkina Faso, on a l'association de *Fagara Zanthoxyloides* et du *Calotropis procera* qui est très utilisée dans le traitement de la drépanocytose. Il s'agit d'un traitement par les plantes qui a été découvert depuis des années par des essais cliniques, le « Faca » a « séjourné » pendant longtemps au laboratoire et a fait

l'objet de plusieurs tests. Le « Faca » est en phase d'essai dans certaines pharmacies de la place mais aussi à l'étranger, Mali, Niger, Cameroun, Guinée. Nous avons aussi *Morinda*, *Lucida*, *Acacia nilotica*, *Khaya senegalensis*, *Maytenus senegalensis*, *Carica papaya* (**Jean, 1990**). *Maytenus senegalensis* est donné en général aux drépanocytaires de type AS et de type SS, on l'associe avec beaucoup de *Fagara Zanthoxyloides*. On associe le *Calotropis procera* si le patient à un ictère.

## Chapitre II : GENERALITES SUR LE *MAYTENUS SENEGALENSIS*

### I. DESCRIPTION BOTANIQUE

C'est un arbuste ou arbre atteignant 5 à 6 m de hauteur, 20 cm de diamètre. Il se présente sous forme de buissons touffus, toujours verts et forts, souvent auréolés de très belles fleurs blanches.

Les feuilles sont généralement ovales, cuvées à la base et régulièrement denticulées, limbe épais, vert glauque, glabre courtement pétiolé.

Les fruits sont des capsules ovoïdes plus ou moins pyriforme jaunâtres roses ou rouges avec une graine particulièrement entourée à la base d'un arille rougeâtre.

C'est une espèce répandue dans les savanes soudano-Zambézienne (Aké, 1996)



**Figure 9** : Image de la plante (feuilles et fleurs) (Arbonier, 2002)

### II. PLACE SYSTEMATIQUE

*Maytenus senegalensis* appartient

- ✓ Au règne : Végétal
- ✓ Sous règne Eucaryote
- ✓ Groupe : Cormophytes,
- ✓ Sous-groupes : Rhyzophytes,
- ✓ Embranchement : Spermaphytes,

- ✓ Sous embranchement : Angiospermes,
- ✓ Classe : Dicotylédones,
- ✓ Sous classe : Dialypétales,
- ✓ Série : Disciflores,
- ✓ Ordre : Celastrales,
- ✓ Sous ordre : Eu celastrales,
- ✓ Famille : Célastracées,
- ✓ Genre : *Maytenus*,
- ✓ Espèce : *Maytenus senegalensis* (Aké, 1996)

### III. DIFFERENTES APPELLATIONS

**Français** : Maytenus du Sénégal

**Diola** : bu fimbok

**Sérère** : ndafar, ndafara

**Wolof** : gengidek, énidék, génamdek, gendék, doridiri

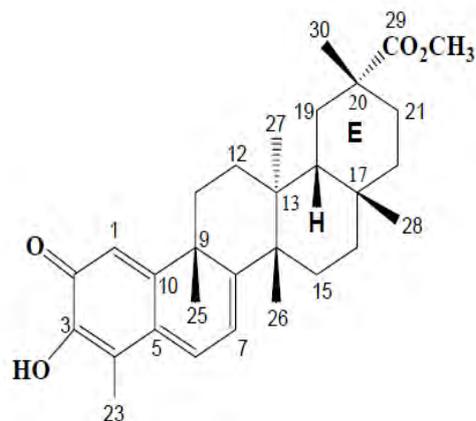
**Peul** : dalgoti, délgotél, dégoté, gigoti (Aké, 1996)

### VII. COMPOSITION CHIMIQUE

Les premières études chimiques sur *Maytenus senegalensis* ont été réalisées sur des échantillons (rameaux et feuilles) de Côte d'Ivoire par Sanie et par Paris en 1948 (ABRAHAM, 1971; SOSA, 2007). Ils y avaient décelés (Tableau I).

**Tableau I : Eléments chimiques**

|          | Eléments actif présents  |
|----------|--|
| racines  | <ul style="list-style-type: none"><li>✓ Dihy-<math>\beta</math>- agarofuran</li><li>✓ sesquiterpènes</li><li>✓ tri terpènes</li><li>✓ Quinonemethide triterpenoide</li><li>✓ Acide maytenoic</li><li>✓ Pristimerin (figure 10)</li></ul>   |
| feuilles | <ul style="list-style-type: none"><li>✓ Une certaine quantité de dulcité</li><li>✓ Des tanins</li><li>✓ une cire constituée en majorité par des esters flavoniques</li><li>✓ L'alcool cérylique</li><li>✓ Un corps stéroïdique de formule brute C</li><li>✓ Un flavonol</li><li>✓ Un glucoside flavonique</li><li>✓ Un holoside</li><li>✓ Une substance amorphe paraissant être un latex</li></ul> |



**Figure 10** : Structure de la pristimerin

## VII. PHARMACOLOGIE

L'usage de la plante en Afrique, a montré que la feuille et la tige (extraits d'écorce) de *Maytenus senegalensis* possèdent *in vitro* une activité antiplasmodiale, antileishmaniale, et anti bactérienne (**Acacha-Agody, 2007**). L'acide maytenoïc isolé de l'écorce de racine a une activité *anti Escherichia Coli*, *anti Klebsiella pneumodiales* (**Gessler, 1994**). En outre, une activité antivirale comme HIV-1 protéase inhibition a été démontrée pour les extraits hydrophiles de la tige et de leurs constituants phénoliques (**Acacha-Agody, 2007**).

L'acide maytenoïc isolé de la plante a montré *in vitro* une activité antiplasmodiale sur la souche chloroquino-résistante de *Plasmodium falciparum*. Des études *in vitro* des propriétés anti tumorales de *Maytenus senegalensis* portant sur les extraits de racines et des tiges ont révélés une activité cytotoxique sur les cellules de carcinome et *in vivo* un effet leucémique.

L'activité analgésique a été mise en évidence par des extraits aqueux de feuilles de *Maytenus senegalensis* à l'inhibition de la douleur (**Maiga, 2006**). L'utilisation de l'acide mayténioïque augmente l'activité anti inflammatoire en réduisant la réponse œdémateuse avec un effet similaire à l'indométacine.

Des extraits de feuilles ont montré également une activité anti inflammatoire significative à la dose de 120mg/ Kg per os, ce qui réduit l'œdème (**Khalid, 2007**).

## VIII. UTILISATIONS EN MEDECINE TRADITIONNELLE

**Racines** Elles sont utilisées dans les troubles gastro-intestinaux, les dysenteries. Elles sont données en infusion contre les maux de ventre.

En infusion, les racines sont employées comme cicatrisant des plaies. En cas de blennorragie, il est recommandé de donner la décoction de racines en boissons, ou faire absorber de la poudre de racines en la mélangeant aux aliments. Dans de nombreux pays, les racines sont utilisées comme fébrifuge et anti diarrhéique, mais également contre les abcès, la drépanocytose et le paludisme (**AHYI M.R.A, 1986**).

En Tanzanie, les écorces de racines de la plante sont utilisées contre les rhumatismes, la contraception et le cancer (**Sofowora, 1975**).

**Feuilles** Au Sénégal, les feuilles, en infusion dans le lait, sont utilisées contre le rhume (**Neuwing, 2000**). Les feuilles pulvérisées mélangées avec du lait sont données aux enfants comme vermifuge. La décoction des feuilles est donnée en bain de bouche contre les maux de dents, les stomatites, les affections buccales, les abcès dentaires, les abcès dentaires, les gingivites et les caries (**Sylla, 2013**).

Dans les œdèmes généralisés, on donne une décoction de feuilles et d'écorces de tiges en bains de vapeurs et boissons.

Les feuilles, en décoction avec celles de *Croseteryx* fébrifuges sont données comme fortifiant en lavement, aux enfants débiles.

Au Bénin, le décocté aqueux des tiges feuillées, en association avec celles d'*Uvariachamae* et *Cassia Siberiana* par voie orale, est utilisé dans le traitement des morsures de serpent (**Kébé, 1990**).

Toujours au Bénin, le macéré aqueux des feuilles en association avec des noix de cola rouges (*Cola nitida*) est utilisé dans le traitement de la dysenterie (**Kébé, 1990**).

**Ecorces de tiges** Au Sénégal, les écorces sont couramment prescrites en décoction pour les enfants fébriles, l'anorexie, le mauvais état général. Et les adultes, dans le traitement du paludisme, des ictères, des douleurs inter costales. Les écorces sont aussi considérées comme tonique, sudorifiques, astringentes **(Aké, 1986)**.

**Fruits** Au Sénégal, le décocté de fruit serait un anti blennorragique **(Aké, 1986)**.

**DEUXIEME PARTIE**  
**TRAVAIL EXPERIMENTAL**

## I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Une étude ethnobotanique a montré que la macération des racines de *Maytenus senegalensis* a des effets anti drépanocytaire sur les hématies falciformes. De même d'autres études réalisées dans le laboratoire de chimie Organique et Thérapeutique sur ladite plante ont également révélé que l'activité antifalcémiant était plus prononcée avec la fraction méthanolique (Ndiaye, 2013). En partant de ces constats, nous avons décidé d'effectuer une étude *in vitro* de l'effet des extraits des groupes chimiques présents (tanins, polyphénols totaux, saponosides) dans les racines de *Maytenus senegalensis* sur le sang de patients drépanocytaires SS par le test d'Emmel.

## II. CADRE DE L'ETUDE

Ce travail a été réalisé dans quatre laboratoires de la Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar:

- ✓ Le laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique
- ✓ Le laboratoire de Pharmacognosie
- ✓ Le laboratoire de Biophysique
- ✓ Le laboratoire de biochimie de l'Hôpital Militaire d'Ouakam

## III. MATERIEL ET METHODE

### III.1. Matériel

#### III.1.1. Matériel végétal

Il s'agit de racines de *Maytenus senegalensis* que nous avons acheté chez un tradipraticien au marché Fass de Dakar. L'identification botanique a été faite au Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Ces racines ont été coupées en petits morceaux, puis pulvérisées dans un broyeur. La pulvérisation donne une poudre marron rouge aromatique, légèrement amère pesant 300 g.



**Figure 11** : Racines de *Maytenus senegalensis*

### III.1.2. Matériel chimique

Ce matériel contient les réactifs et les solvants utilisés durant toutes les manipulations. Tous les solvants ont été distillés au Laboratoire de Chimie Organique avant leurs utilisations.

- ✓ Méthanol
- ✓ Butanol
- ✓ Hexane
- ✓ Acétate d'éthyle
- ✓ Eau distillée
- ✓ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- ✓ Dichlorométhane
- ✓ Tampon phosphate à pH 7,5
- ✓ HCl
- ✓ NaOH
- ✓ Acide acétique
- ✓ Réactif de Folin Ciocalteu
- ✓ Acide gallique
- ✓ Méta bisulfite de sodium

### III.1.3. Matériel de laboratoire

- ✓ Entonnoirs
- ✓ Balances
- ✓ Broyeur
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Papier filtre
- ✓ Béchers
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Bain marie
- ✓ Chauffe ballon
- ✓ Ampoule à décanter
- ✓ Papier aluminium
- ✓ Etuve
- ✓ Portoirs
- ✓ Agitateur magnétique
- ✓ Pompe à vide
- ✓ Ballons
- ✓ Büchner
- ✓ Papier-filtre
- ✓ Fiole jaugée
- ✓ Pro pipette
- ✓ Soxhlet
- ✓ Pipette
- ✓ Eprouvette graduée
- ✓ Lames-lamelles
- ✓ Thermomètre
- ✓ Vortex
- ✓ Potance
- ✓ Barreau-aimanté

- ✓ Evaporateur rotatif de type Buchi R-24
- ✓ Verres de montre
- ✓ Plaques de silice

#### **III.1.4. Matériel biologique**

##### **✓ Patients**

Il s'agit de sang de sujets drépanocytaires de type SS qui n'ont ni été transfusés, ni été traités par l'hydroxyurée durant les 6 derniers mois. L'âge des patients varie de 5 à 30 ans et le sexe n'a pas été pris en compte.

##### **✓ Récolte de sang**

Elle se fait en respectant les prescriptions générales relatives aux règles d'asepsie. Le sang est recueilli sur anticoagulant (EDTA) après consentement du patient.

Le prélèvement est opéré au niveau du pli du coude, des patients venus subir pour la première fois un test d'Emmel au laboratoire de l'Hôpital Militaire de Ouakam mais aussi des patients qui ont longtemps su qu'ils étaient drépanocytaires.

Les essais ont été effectués sur les prélèvements dont le test d'Emmel et l'électrophorèse ont confirmé la présence de la drépanocytose.

### **III.2. Méthodes**

#### **III.2.1 Extractions et dosages des composés chimiques présents**

##### **III.2.1.1. Extractions des tanins**

##### **✓ Principe**

Le principe est basé sur la solubilité des tanins dans l'eau. La phase organique élimine les pigments et les lipides.

✓ **Mode opératoire (Michel, 2011)**

Dans un ballon contenant de l'eau distillé et de 8% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (105 ml d'eau distillée + 7 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ; on ajoute 10 g de poudre de racines de *Maytenus senegalensis*.

Le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. Au retour à la température ambiante, le mélange est filtré sur entonnoir Büchner et le filtrat obtenu est soumis à une extraction liquide-liquide avec de l'acétate d'éthyle. Le solvant organique est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis le produit séché dans un dessiccateur. L'extrait sec a été pesé et le rendement calculé.

Soit **X** la masse de l'extrait sec et **Me** la masse de la prise d'essai, le rendement **R** est donné par la formule suivante.

$$R = \frac{\text{Masse de l'extrait sec}(X)}{\text{Masse de la prise d'essai}(Me)} * 100$$

### III.2.1.2. Extraction des Polyphénols totaux

✓ **Principe**

Le principe est basé sur la solubilité des composés phénoliques dans les solvants très polaires comme le méthanol. Les composés phénoliques sont isolés par une extraction liquide-liquide.

✓ **Mode opératoire (Nature et Technologie, 2013)**

Pour extraire les polyphénols, nous avons adopté le protocole décrit par **(Souhila et Coll, 2013)** avec modification, 30 g de la poudre de racines de *Maytenus senegalensis* sont macérés à température ambiante pendant 2,5h (deux fois) avec 200 ml de solution aqueuse d'éthanol 90<sup>0</sup>C et eau (v/v).

Les différents filtrats sont réunis puis évaporés avec un évaporateur rotatif puis séchées à l'air libre dans un verre de montre.

Soit **X** la masse de l'extrait sec et **Me** la masse de la prise d'essai, le rendement **R** est donné par la formule suivante.

$$R = \frac{\text{Masse de l'extrait sec}(X)}{\text{Masse de la prise d'essai (Me)}} * 100$$

### III.2.1.3. Extraction des saponosides

#### ✓ Principe

Le principe est basé sur la solubilité des saponosides dans du butanol.

#### ✓ Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, on ajoute 20 g de poudre de racines de *Maytenus senegalensis* et on l'extrait par 300 ml d'hexane pour délipider pendant 48 heures.

Après filtration sur du papier-filtre, le marc obtenu est mélangé avec 150 ml d'eau distillée. Le mélange est porté dans un bain marie à 95<sup>0</sup> C pendant 30 minutes. Après filtrations, le filtrat obtenu est soumis à une extraction liquide-liquide avec du butanol. Le solvant organique obtenu est évaporée à l'aide d'évaporateur rotatif.

Soit **X** la masse de l'extrait sec et **Me** la masse de la prise d'essai, le rendement **R** est donné par la formule suivante.

$$R = \frac{\text{Masse de l'extrait sec}(X)}{\text{Masse de la prise d'essai (Me)}} * 100$$

### III.2.1.2. Dosages des polyphénols totaux

#### ✓ Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange de complexes d'acides phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) de couleur jaune. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 765 nm, le dosage de polyphénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance mesurée avec celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

### ✓ Mode opératoire (Saikat, 2013)

La teneur des phénols totaux de *Maytenus senegalensis* a été déterminée par la méthode de Folin Ciocalteu. Un volume de 0,5 ml de l'extrait alcoolique de *Maytenus senegalensis* (0,1 mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué au 1/10<sup>e</sup> avec de l'eau distillée et 2 ml de carbonate de sodium 0,5 M (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Après 30 mn à température ambiante, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm. L'acide gallique est l'antioxydant de référence. Des concentrations de 0 ; 0,01 ; 0,015 ; 0,025 ; 0,05 ; 0,075 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 mg/ml sont préparées dans des tubes à hémolyse. Dans chaque tube, on rajoute 2,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué au 1/10<sup>e</sup> et 2 ml de carbonate de sodium. Les tubes sont incubés à température ambiante pendant 30 mn puis lus au spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc (même solution sans la solution d'acide gallique) ce qui nous permet de tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalon (absorbance en fonction de la concentration). La projection de la valeur de l'absorbance de l'extrait sur la courbe permet de déterminer la teneur en phénols en termes d'équivalence acide gallique (mg/g de matière sèche). Toutes les analyses sont réalisées en triplicata.

Soit **C** la concentration de l'acide gallique extrapolée à partir de la courbe d'étalonnage, en mg/ml ; et **m** le poids de l'échantillon prélevé en g.

**T** qui est la teneur totale des composés phénoliques dans l'équivalent acide gallique (GAE) est donnée par la formule suivante.

$$T = C/m$$

## IV. ETUDE DE L'ACTIVITE DES EXTRAITS OBTENUS

### IV.1. Principe

Il s'agit de l'examen au microscope du comportement des globules rouges de prélèvement de sang de drépanocytaire confirmé par le test d'Emmel et par l'électrophorèse. Le sang est centrifugé pendant 5 minutes à 3000 tours, trois fois de suite pour enlever le sérum. Ensuite 20 µl sont mélangés à 20 µl de notre

extrait à différentes concentrations et à différents temps. La comparaison des résultats obtenus par rapport à une référence, permet de donner une idée de l'activité de nos extraits sur la défalcification des globules rouges.

Pour cela nous avons réalisé des tests d'Emmel à différentes concentrations et à différents temps.

## **IV.2. Préparations des solutions**

### **IV.2.1. Préparation de la solution tampon phosphate à pH 7,4**

Pour obtenir un litre de solution tampon phosphate nous avons utilisé les produits suivants.

0,16 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

0,98 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

8,10 g de Na Cl

Nous dissolvons ces différents produits dans de l'eau distillée, en agitant à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à dissolution complète. Nous contrôlons le pH à l'aide d'un pH mètre.

### **IV.2.2. Préparation des solutions à tester**

#### **✓ Préparation de la solution à 5 mg/ml**

On dissout 5 mg de drogue sèche dans 1 ml de la solution tampon phosphate. La solution de l'extrait mère est maintenue à 4<sup>0</sup> C et utilisée dans toutes les expériences.

#### **✓ Préparation de la solution 0,5 mg/ml**

Nous avons prélevé 1 ml de la solution mère et nous avons complété à 5 ml de solution avec 4 ml de la solution tampon phosphate ce qui donne une solution à 1mg/ ml. A cette dernière, nous prélevons 1 ml et nous rajoutons 1 ml de solution tampon phosphate pour obtenir 2 ml de solution de concentration de 0,5 mg/ml.

#### ✓ Préparation de la solution 0,05 mg/ml

Nous procédons de la même manière. A 1 ml de la solution à 1 mg/ml, nous rajoutons 19 ml de solution tampon phosphate pour obtenir 20 ml de solution de concentration de 0,05 mg/ml.

### IV.3. Test d'Emmel

#### ✓ Principe

Le test de falciformation d'Emmel consiste à mettre l'hématie en présence d'un réducteur, le métabisulfite de Na, ce qui accélère l'appauvrissement du milieu en oxygène avec pour conséquence immédiate, la polymérisation de l'hémoglobine S et l'apparition d'hématies falciformes. Le but du test est de pouvoir comparer à différents temps et différentes concentrations l'influence des extraits sur la falciformation des hématies. Pour cela un décompte est opéré sur chaque lame pour déterminer le taux de drépanocytes résiduels. Dans la pratique nous choisissons cinq champs, comportant chacun approximativement une centaine d'éléments et nous évaluons ainsi le nombre moyen de drépanocytes pour 100 hématies.

#### ✓ Mode opératoire

Le mode opératoire est le même que celui du test d'Emmel.

Une goutte de sang est déposée sur une lame, au contact d'une goutte sensiblement équivalente de métabisulfite de sodium et d'extrait. L'étalement et le mélange sont faits avec les rebords de la lamelle. Ensuite du vernis à ongle est enduit autour de la lamelle empêchant ainsi toute entrée d'air, l'ensemble lame et lamelle est observée au microscope au bout de 15 mn.

Pour chaque prélèvement, un premier test est effectué directement sur du sang frais qui n'a encore subi aucune manipulation (témoin négatif).

Ensuite les solutions des différentes concentrations sont agitées. Toutes les 30 mn, un test est effectué, ce qui donne pour chacune d'entre elles un total de 5 tests respectivement à  $T_0$ ,  $T_{30}$ ,  $T_{60}$ ,  $T_{90}$ , et  $T_{120}$ .

Un décompte est opéré sur chaque lame pour déterminer le taux de drépanocytes résiduels. Dans la pratique nous choisissons cinq champs, comportant chacun approximativement une centaine d'éléments et nous évaluons ainsi le nombre moyen de drépanocytes pour 100 hématies. Par rapport à la lame témoin négatif et à la référence qui est l'arginine, nous apprécions à la 30<sup>ème</sup> mn, 60<sup>ème</sup> mn, 90<sup>ème</sup> et 120<sup>ème</sup> le nombre de drépanocytes sur chacun de nos prélèvements.

Le temps  $T_0$ , correspondant à 100 % pour les fractions testées et la référence, est en réalité la première lecture effectuée au moins 15 mn après avoir privé les hématies d'oxygène.

Le pourcentage de drépanocytes résiduels représente le rapport entre le nombre de drépanocytes à  $T_0$  et le nombre de drépanocytes à  $T_x$ .

## V. RESULTATS ET DISCUSSION

### V.1. Résultats

#### V.1.1. Rendement de l'extraction des groupes chimiques.

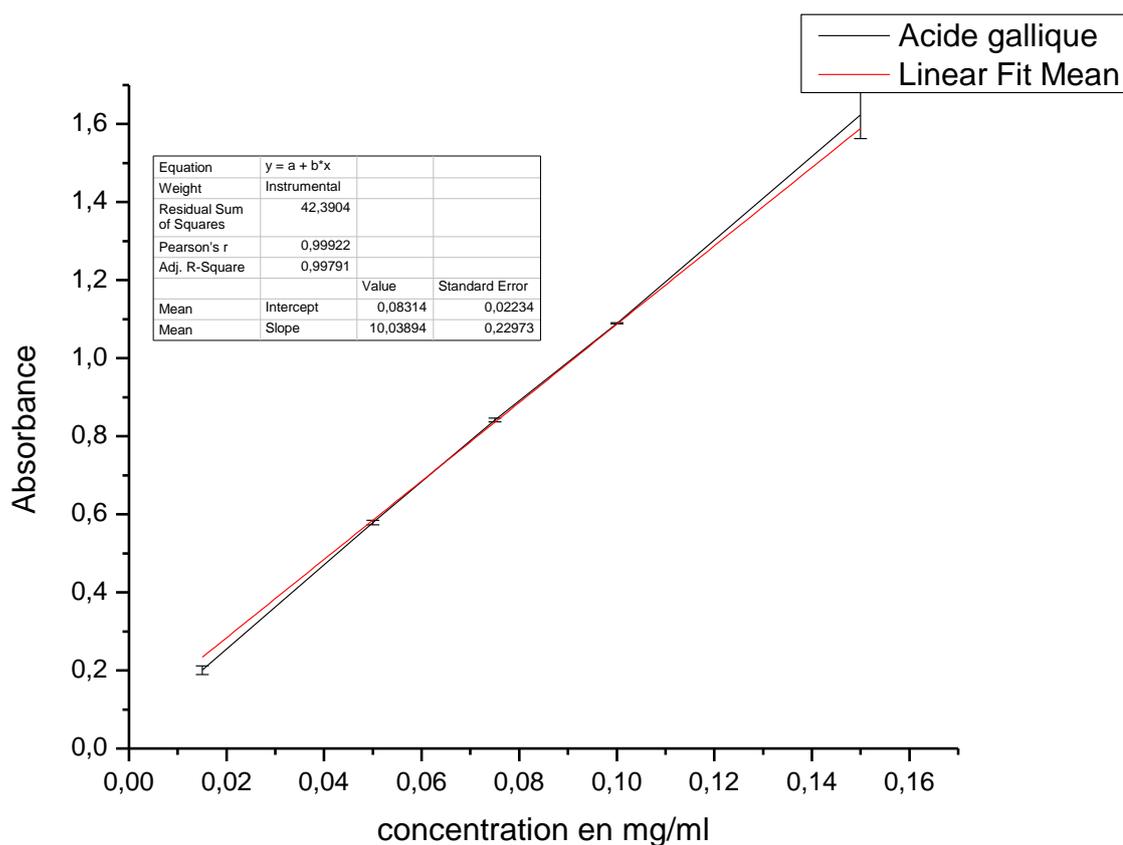
**Tableau II :** Rendement de l'extraction des composés chimiques

| <b>Extrait</b>                       | <b>Polyphénols</b> | <b>Tanins</b> | <b>Saponosides</b> |
|--------------------------------------|--------------------|---------------|--------------------|
| <b>Masse de la prise d'essai (g)</b> | <b>30</b>          | <b>10</b>     | <b>10</b>          |
| <b>Masse de l'extrait sec (g)</b>    | <b>1,74</b>        | <b>0,4</b>    | <b>0,3</b>         |
| <b>Rendement (%)</b>                 | <b>5,8</b>         | <b>1,3</b>    | <b>1,2</b>         |

#### V.1.2 Teneur des polyphénols totaux

**Tableau III :** Concentration et absorbance de l'acide gallique

| <b>Concentrations en mg/ ml</b> | <b>Abs 1</b> | <b>Abs2</b> | <b>Abs3</b> | <b>Moyenne</b> | <b>Ecart type</b> |
|---------------------------------|--------------|-------------|-------------|----------------|-------------------|
| <b>0,015</b>                    | 0,198        | 0,191       | 0,213       | 0,20067        | 0,01124           |
| <b>0,05</b>                     | 0,574        | 0,585       | 0,577       | 0,57867        | 0,00569           |
| <b>0,075</b>                    | 0,842        | 0,846       | 0,837       | 0,84167        | 0,00451           |
| <b>0,1</b>                      | 1,09         | 1,091       | 1,088       | 1,08967        | 0,00153           |
| <b>0,15</b>                     | 1,652        | 1,664       | 1,554       | 1,62333        | 0,06034           |



**Figure 12 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

L'analyse quantitative des polyphénols totaux de l'extrait a été réalisée par la même procédure décrite précédemment. La concentration en composés phénoliques de l'extrait de la plante a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme par gramme de la matière sèche équivalente en acide gallique.

La teneur des polyphénols totaux est calculée par la formule décrite précédemment.

**Tableau IV : Teneur des polyphénols totaux**

|  |                        |
|--|------------------------|
| <b>C en mg</b>   | <b>0,03659</b>         |
| <b>M en g</b>  | <b>10<sup>-3</sup></b> |
| <b>T en mg / équivalent d'acide gallique / g d'extrait</b> | <b>365,90</b>          |

### **V.1.3 Test d'Emmel**

Les résultats ont été évalués en pourcentage de drépanocytes résiduels. Pour le témoin puisque le nombre de drépanocytes augmente avec le temps, nous avons considéré que le taux de 100 % correspondra au nombre de drépanocytes obtenus à T120. Pour les autres, ce nombre diminue avec le temps donc le taux de 100 % correspond au nombre de drépanocytes à T0.

A chaque temps le pourcentage de drépanocytes résiduels est obtenu à partir de la relation suivante.

$$\% \text{ de drépanocytes résiduels} = 100 \% \times \frac{\text{moyenne drépanocytes à Tx}}{\text{moyenne de drépanocytes à T0}}$$

Avec Tx = successivement T0, T30, T60, T90, T120.

Cette relation n'est pas valable pour le témoin. Nous avons pour le témoin.

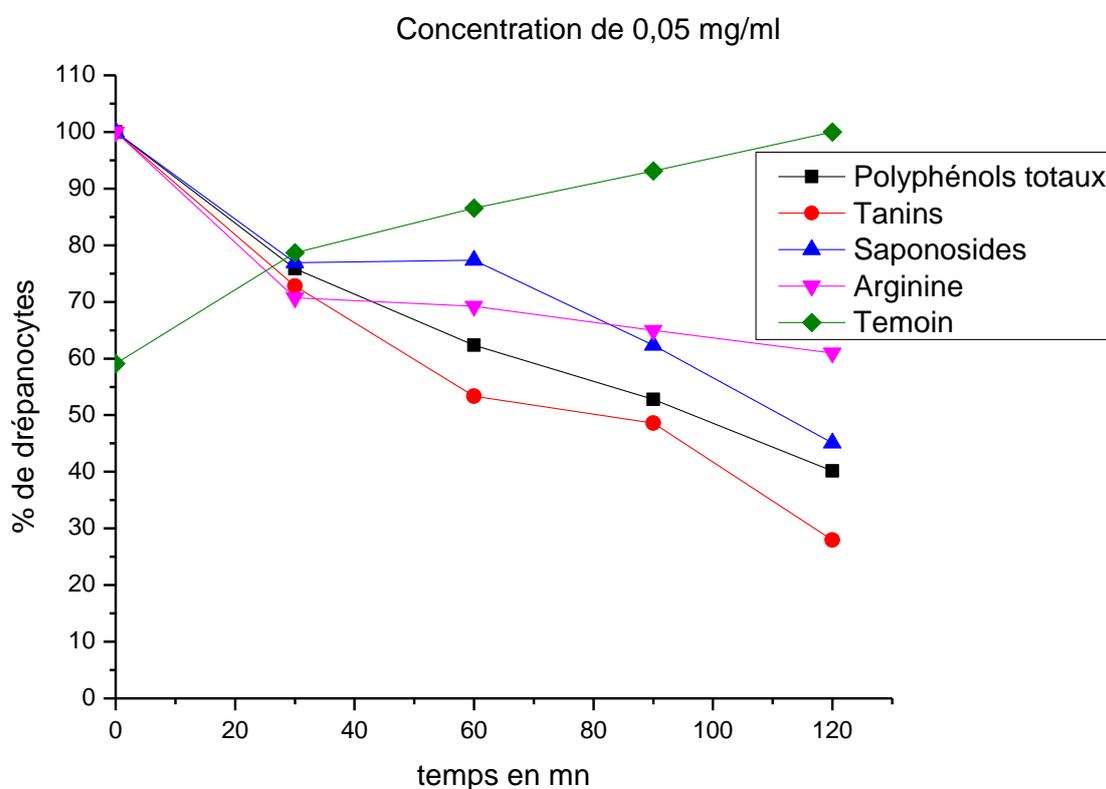
$$\% \text{ de drépanocytes résiduels} = 100 \% \times \frac{\text{moyenne drépanocytes à Tx}}{\text{moyenne de drépanocytes à T120}}$$

Avec TX = successivement T120, T90, T60, T30, T0 en partant du bas vers le haut.

**Tableau V :** Activité antifalciformiante *in vitro* des fractions de *Maytenus senegalensis* et de l'arginine à [0,05 mg/ml]

| Temps<br>(mn) | Nombre de drépanocytes dans les fractions testées |       |       |       |       |
|---------------|---|-------|-------|-------|-------|
|               | TM  | E. T  | E. P  | E. S  | Arg   |
| T0            | 59,12   | 100   | 100   | 100   | 100   |
| T30           | 78,66   | 72,77 | 75,83 | 76,9  | 70,75 |
| T60           | 86,54   | 53,33 | 62,34 | 77,37 | 69,25 |
| T90           | 93,12   | 48,58 | 52,8  | 62,37 | 65    |
| T120          | 100   | 27,96 | 40,14 | 45,11 | 61    |

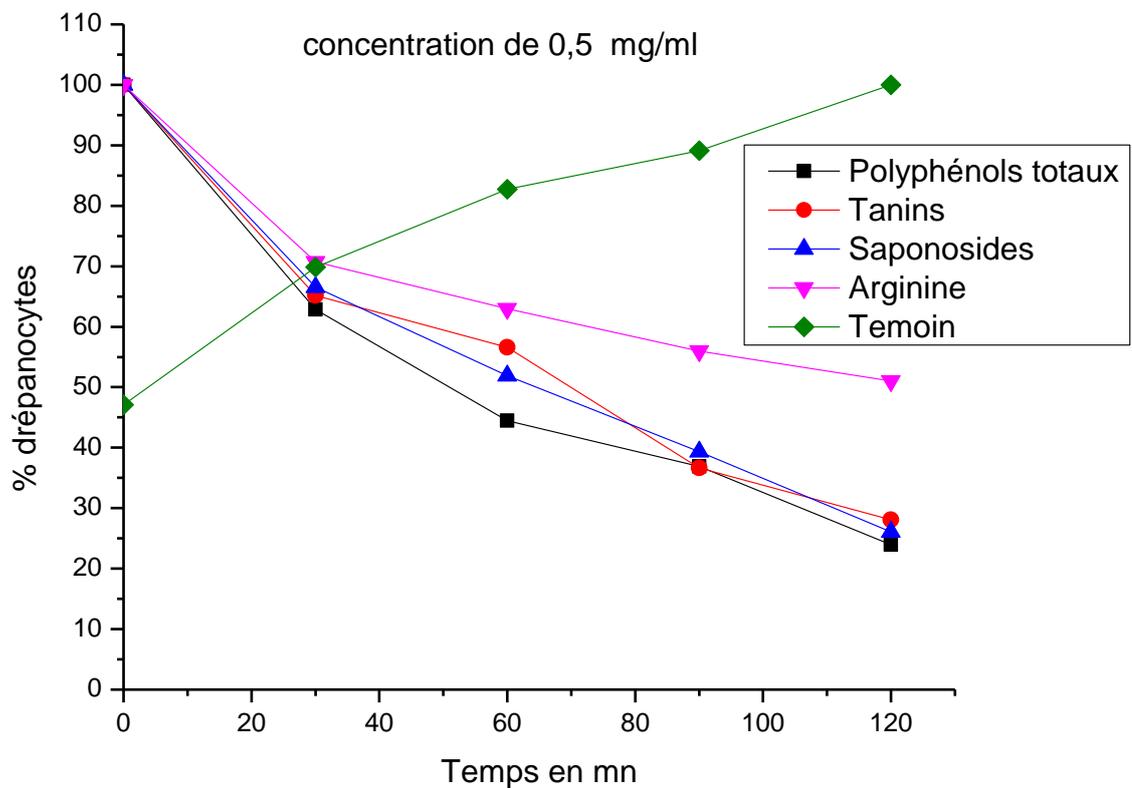
TM = témoin, Arg = arginine, E. T = extrait des tanins, E. P = extrait des polyphénols, E. S = extrait des saponosides



**Figure 13 :** Evolution moyenne des drépanocytes en fonction du temps à la concentration de 0,05 mg/ml

**Tableau VI :** Activité antifalciformant *in vitro* des fractions de *Maytenus senegalensis* et de l'arginine à [0,5mg/ml]

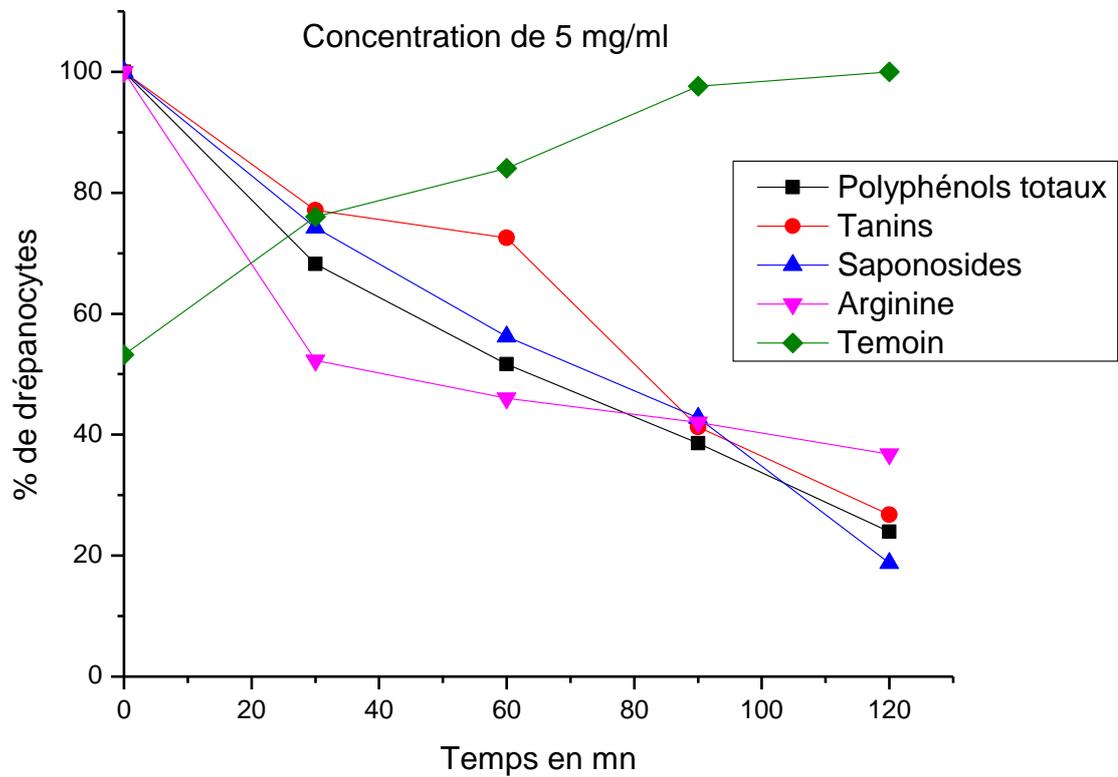
| <b>Temps<br/>(mn)</b> | <b>Nombre de drépanocytes dans les fractions testées</b> |              |              |              |              |
|-----------------------|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                       | <b>TM</b>  | <b>E.T</b>   | <b>E. P</b>  | <b>E. S</b>  | <b>Arg</b>   |
| <b>T0</b>             | <b>47,06</b>   | <b>100</b>   | <b>100</b>   | <b>100</b>   | <b>100</b>   |
| <b>T30</b>            | <b>69,87</b>   | <b>65,17</b> | <b>62,83</b> | <b>66,52</b> | <b>70,75</b> |
| <b>T60</b>            | <b>82,74</b>   | <b>56,57</b> | <b>44,49</b> | <b>51,9</b>  | <b>63</b>    |
| <b>T90</b>            | <b>89,12</b>   | <b>36,66</b> | <b>36,91</b> | <b>39,31</b> | <b>56</b>    |
| <b>T120</b>           | <b>100</b>   | <b>28,06</b> | <b>23,94</b> | <b>26,39</b> | <b>51,05</b> |



**Figure 14 :** Evolution moyenne des drépanocytes en fonction du temps à la concentration de 0,5 mg/ml

**Tableau VII :** Activité antifalciformiant *in vitro* des fractions de *Maytenus senegalensis* et de l'arginine à [5 mg/ml]

| Temps<br>(mn) | Nombre de drépanocytes dans les fractions testées |              |              |              |              |
|---------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
|               | TM  | E. T         | E. P         | E. S         | Arg          |
| <b>T0</b>     | <b>53,24</b>                                      | <b>100</b>   | <b>100</b>   | <b>100</b>   | <b>100</b>   |
| <b>T30</b>    | <b>76,03</b>                                      | <b>77,09</b> | <b>68,22</b> | <b>74,25</b> | <b>52,25</b> |
| <b>T60</b>    | <b>84,03</b>                                      | <b>72,55</b> | <b>51,67</b> | <b>56,25</b> | <b>46,05</b> |
| <b>T90</b>    | <b>97,63</b>                                      | <b>41,25</b> | <b>38,61</b> | <b>42,75</b> | <b>42,05</b> |
| <b>T120</b>   | <b>100</b>  | <b>26,74</b> | <b>23,94</b> | <b>18,75</b> | <b>36,75</b> |



**Figure 15 :** Evolution moyenne des drépanocytes en fonction du temps à la concentration de 5 mg/ml

## V.2. Discussion

Le rendement de l'extraction de la poudre des racines de *Maytenus senegalensis* des différents groupes chimiques (polyphénols totaux, tanins, saponosides) est de 8,3%. **Sosa et Al, (2007)** ont eu un rendement de 11,4% avec l'extrait méthanolique.

A l'issue du tableau II nous remarquons que le rendement des polyphénols totaux qui est de 5,8% est beaucoup plus élevé que celui des tanins (1,3%) et des saponosides (1,2%).

On remarque généralement que plus le solvant d'extraction est polaire plus le rendement est élevé. Cela peut s'expliquer par le fait que dans la drogue qui fait l'objet de notre étude, nous y trouvons beaucoup de substances polaires.

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur des composés phénoliques contenus au niveau de la poudre de *Maytenus senegalensis*.

Avant de procéder à la détermination de la teneur en composés phénoliques, nous avons établi une courbe d'étalonnage qui est une courbe linéaire en utilisant l'acide gallique comme composé de référence.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Maytenus senegalensis* a été déterminée graphiquement par régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ( $y = 10,03 x + 0,083$ ) et exprimé en équivalent d'acide gallique **(Saikat, 2013)**.

Le résultat montre une teneur de 365,90 mg/ équivalent d'acide gallique / g d'extrait. Cette teneur est très importante par rapport à celles obtenues avec les plantes à activité antioxydant. En l'occurrence *Chrysophyllum perpulchrum* a donné une teneur en polyphénols totaux de 74,08 mg/ équivalent d'acide gallique / g d'extrait **(Bedie. P, 2011)**.

A la concentration de 0,05 mg/ ml **(Figure 13)**, on voit qu'avec le témoin négatif qui est ici du sang SS n'ayant reçu que la solution tampon phosphate, le pourcentage de drépanocytes augmente dans le temps pour atteindre un

pourcentage maximale qui est de 100% alors que pour les trois extraits à savoir l'extrait polyphénolique, l'extrait des tanins et l'extrait des saponosides le pourcentage de drépanocytes diminue dans le temps il en est de même que pour le témoin positif qui est ici l'arginine. Cette dernière est par ailleurs utilisée dans la prise en charge de la douleur car elle est le précurseur de l'oxyde nitrique, un puissant vasodilatateur et inhibiteur du remodelage vasculaire. Elle présente, également, des effets en cascade dans la prévention de l'activation des leucocytes, des plaquettes et des cellules endothéliales prévenant ainsi la diminution des crises liées à la vaso-occlusion (**Ogungbemi et al., 2013 ; Morris, 2014**).

Cependant pour l'extrait polyphénolique, on constate qu'il provoque un retour de la falciformation jusqu'à environ 40,14% de drépanocytes résiduels au terme des 120 mn à la concentration de 0,05 mg/ml.

Pour l'extrait des tanins on a un retour de la falciformation jusqu'à 27,96 % de drépanocytes résiduels au terme des 120mn et pour les saponosides le retour de la falciformation est de 45,11% de drépanocytes résiduels à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation. A cette même concentration 0,05 mg/ml et au bout de 120 mn, **Mbaye, (2014)** avait obtenu 29,5% de drépanocytes résiduels de retour de falciformation en testant l'extrait méthanolique.

On peut ainsi conclure que l'extrait des tanins est plus actif que l'extrait méthanolique qui est plus actif que l'extrait polyphénolique qui est plus actif que celui des saponosides à la concentration de 0,05 mg/ml.

A la concentration de 0,5 mg/ ml, (**Figure 14**), on voit qu'avec le témoin négatif qui est ici du sang SS avec la solution tampon autrement dit en absence de traitement avec le *Maytenus senegalensis* le pourcentage de drépanocytes augmente avec le temps pour atteindre un pourcentage maximale qui est de 100% alors que pour les trois extraits à savoir l'extrait polyphénolique, l'extrait des tanins et l'extrait des saponosides, ce pourcentage de drépanocytes diminue dans le temps il en est de même que pour le témoin positif qui est ici l'arginine.

Cependant pour l'extrait polyphénolique, on constate qu'il provoque un retour de la falciformation jusqu'à environ 23,94% de drépanocytes résiduels au terme des 120 mn.

Pour l'extrait des tanins on a un retour de la falciformation jusqu'à 28,06 % de drépanocytes résiduels au terme des 120 mn et pour les saponosides le retour de la falciformation est de 29,39% de drépanocytes résiduels à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation et l'arginine le retour de la falciformation est de 51,05% de drépanocytes résiduels à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation. A cette même concentration et au bout de 120 mn, **Mbaye, (2014)** avait obtenu, 83 % de drépanocytes résiduels en testant l'extrait méthanolique.

On peut ainsi conclure que l'extrait méthanolique est plus actif que l'extrait polyphénolique qui est plus actif que l'extrait des tanins qui est plus actif que celui des saponosides qui est plus actif que l'arginine à la concentration de 0,5 mg/ml.

A la concentration de 5 mg/ ml (**Figure 15**), les mêmes tendances sont notées. Cependant pour l'extrait polyphénolique, on constate qu'il provoque un retour de la falciformation jusqu'à environ 23,94% de drépanocytes résiduels au terme des 120 mn.

Pour l'extrait des tanins on a un retour de la falciformation jusqu'à 26,74 % de drépanocytes résiduels au terme des 120 mn et pour les saponosides le retour de la falciformation est de 18,75% de drépanocytes résiduels à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation et l'arginine le retour de la falciformation est de 36,75% à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation. **Mbaye, (2014)** avait obtenu un retour de falciformation avec l'extrait méthanolique de 29,25% de drépanocytes résiduels à cette même concentration.

On peut ainsi conclure que l'extrait saponosique est plus actif que l'extrait polyphénolique qui est plus actif que celui des tanins qui est plus actif que l'extrait méthanolique qui est plus actif celui de l'arginine à la concentration de 5 mg/ ml.

En effet tous les extraits se sont révélés actifs sur la réversibilité de la falciformation.

L'activité des extraits de la poudre de racines de *Maytenus senegalensis* est dose dépendante, plus la concentration est importante, plus l'activité antifalcémiant des extraits est importante.

## **CONCLUSION**

La drépanocytose encore appelée anémie falciforme est une maladie génétique héréditaire de l'hémoglobine. Transmise de façon autosomale récessive, la drépanocytose est due à une mutation unique et ponctuelle du gène  $\beta$ -globine situé sur le chromosome 11. Cette mutation est caractérisée par le remplacement d'un acide aminé par un autre (acide glutamique remplacé par une valine). La conséquence est la synthèse d'une molécule anormale d'hémoglobine dénommée hémoglobine S (HbS), qui présente une diminution de solubilité à l'état désoxygéné.

Elle est la maladie génétique la plus fréquente au monde, avec un taux de prévalence de plus de 50%, dont beaucoup d'enfants. Elle cause un véritable problème de santé publique.

Au Sénégal, le portage du trait drépanocytaire est de 10% dans la population alors que les formes majeures d'hémoglobinopathies représentent 0,5% des naissances.

La maladie est exprimée par des crises douloureuses, par de la fatigue liée à l'anémie, et enfin une moindre résistance aux infections. Des risques de complications graves peuvent survenir.

Pour prévenir ces crises drépanocytaires, il faut une bonne hygiène et une bonne information sur la maladie. La drépanocytose cherche difficilement son traitement. La médecine moderne et la médecine traditionnelle s'évertuent à proposer des traitements. Cependant il faut noter que le premier traitement pour mieux vivre avec sa maladie est d'avoir une hygiène de vie correcte.

- L'hygiène de vie : alimentation, hydratation, prévention des caries dentaires, toxiques, loisirs, vacances (éviter les fatigues physiques, refuser le sport en compétition).
- Le style de vie : éviter les activités professionnelles ou les loisirs avec efforts physiques violents ou brusques, la station debout prolongée et le port de charge.

- L'environnement : protection contre le froid, lutter contre la chaleur et les changements rapides de température ou de pression d'oxygène.
- Respecter des consultations régulières en milieu hospitalier spécialisé.

En raison de son impact médicosocial, la drépanocytose devrait faire l'objet de plus d'investigation. Les progrès réalisés dans sa prise en charge restent jusqu'à présent insuffisants. Il se pose également le problème de l'insertion socioprofessionnelle et de l'organisation de la prise en charge de cette affection génétique au moment où les crises s'installent chez les drépanocytaires.

Ce travail a pour objectif général de démontrer l'efficacité des extraits secs des racines de *Maytenus senegalensis* sur la falciformation d'hématies de sujets drépanocytaires.

Le test utilisé dans cette étude est le test de falciformation d'Emmel qui est un test utilisé en routine au laboratoire, mais aussi l'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin qui permet de différencier les diverses formes de la maladie drépanocytaire.

La présente étude avait pour objectif spécifique de :

- Faire l'extraction des groupes chimiques des racines de *Maytenus senegalensis*
- Faire le dosage des polyphénols
- Enfin étudier l'efficacité de l'extrait des racines de *Maytenus senegalensis* sur du sang drépanocytaire.

A l'issue des essais les résultats suivants ont été obtenus :

- pour le témoin négatif, on note une augmentation du nombre de drépanocytes à toutes les concentrations testées,
- à la concentration de 0,05 mg/ml, les principes les plus actifs étaient contenus dans l'extrait des tanins suivi des polyphénols suivi des saponosides. En effet, pour ces extraits on a eu respectivement un retour de falciformation jusqu'à un taux de drépanocytes de 27,96 % ; 40,14% et 45,11% à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation.

- à la concentration de 0,5 mg/ml, les principes les plus actifs étaient contenus dans l'extrait polyphénolique, suivi des tanins, suivi des saponosides. En effet, pour ces extraits on a eu respectivement un retour de falciformation jusqu'à un taux de drépanocytes de 23,94% ; 28,06 % et 29,39% à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation.
- à la concentration de 5 mg/ml, les principes les plus actifs étaient contenue dans l'extrait polyphénolique, suivi des tanins, suivi des saponosides. En effet, pour ces extraits on a eu respectivement un retour de falciformation jusqu'à un taux de drépanocytes de 18,75% ; 23,94% et 26,74 % à la 120<sup>ème</sup> mn d'incubation.
- La comparaison de l'activité de la référence utilisée (arginine) avec celle de nos extraits a révélé que ces dernières étaient généralement plus actives.

Ce qui montre que les globules rouges sans traitement augmentent dans le temps contrairement avec ceux traités avec les différents extraits qui diminuent dans le temps. Nous avons montré que l'effet antifalcémiant était dose dépendante car plus la concentration augmente plus l'effet anti drépanocytaire est important avec le temps.

Ces travaux doivent être poussés afin d'isoler et caractériser les molécules impliquées dans la réversibilité des drépanocytes et élucider leurs mécanismes d'action. L'étude toxicologique des extraits doit être également menée.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **Abderrahim M.** 2013. La drépanocytose chez l'enfant au service de pédiatrie à l'hôpital Al Farabi Oujda. Thèse Med FES (Maroc) N° 083.
2. **Abraham, AL .1971. Sosa, AL .2007.** Contribution aux études ethnobotanique et floristique en république populaire du Benin. ACCT France. N° 19.
3. **Acacha-Agody K.M.** 2007. Contribution au recensement des plantes médicinales : Enquête ethnobotanique dans la région maritime du Togo. Thèse de doctorat en pharmacie : N° 79.
4. **Aké A. L.** 1996. Etats des ressources phylogénétiques en Côte d' Ivoire et en Afrique de l'Ouest ; Diversité biologique et valorisation des plantes médicales par M. Rejdali et A. Birouk. Actes Edition, Rabat. Page 39-44.
5. **Ahyi M.R.A. ; Adzakdjev. et coll.** 1986. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin. Rapport ACCT, PARIS. Page 895.
6. **Arbonier M.** 2002. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest ; CIRAD MNHN 2<sup>ème</sup> édition. Page 223.
7. **Bachir D.** 2002. La drépanocytose. Revue Française des laboratoires juin/juillet N° 324.
8. **Bedie. P et Al.** 2011. Sciences et Natures, vol 8, N° 1. Page 1-11.
9. **Baledent.F.** 2006. Biologiste génétique et diagnostic biologique de la drépanocytose centre hospitalier, 93205 saint –Denis France décembre. File:///c:/users /hp/downloads /génétique et diagnostic biologique de la drépanocytose association développement santé.
10. **Benkerrou M., Vilmer E., Elion J.** 2003. L'anémie chez l'enfant drépanocytaire. John LibbeyEurotext. Page 97-104.
11. **Bernard J., Levy J.P., Varet B., Clauvel J.P., Sultan Y.** 1998. Hématologie Masson. Paris. 9<sup>ème</sup> édition. Page 116.
12. **Charache S., Terrin M.L., Moore R.D., Dover G.J., McMahan R.P., Barton F.B.** 1995. And the investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in sickle cell anemia. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. N Effect ; N° 322. Page 1317-1322.

- 13. Carboni C.** 2009. La drépanocytose au Sénégal : un exemple de médecine traditionnelle. Thèse pharmacie Grenoble (France) N° 7046.
- 14. Cissé M.** 1998. La drépanocytose homozygote au Sénégal: profil évolutif et facteurs de tolérance. Thèse Pharmacie, Dakar ; N° 63.
- 15. Dème Ly I.** 2007. HLA-E et susceptibilité aux infections bactériennes sévères chez les enfants et adolescents drépanocytaires homozygotes sénégalais. Thèse de doctorat de médecine : Dakar ; N°135.
- 16. Diagne I.** 2013. Congrès Martinique ; Stratégies de lutte contre la drépanocytose au Sénégal.
- 17. Diagne T, Col.** 1999. Etude *in vitro* de l'action antifalcémiant de *Calotropis procera* et des associations avec *Fagara xanthoxyloides* et de *Khaya senegalensis* sur les hématies drépanocytaires. Thèse de doctorat de pharmacie. Page 65.
- 18. Dièye. A.M.** 2013. Les manifestations cardio-vasculaires au cours de la drépanocytose en pédiatrie « thèse de médecine, N° 18. Page 80.
- 19. Diop.S.EP.** 2013. Enquête ethnobotanique sur la prise en charge de la drépanocytose à Dakar et fatick. « Thèse de pharmacie ». N° 28.
- 20. El Jai Badr E. A.** 2012. Drépanocytose et rôle du pharmacien dans la prise en charge du traitement .Thèse Pharmacie Dakar N° 40.
- 21. Emmel V.E.** 1917. A study of the erythrocytes in case of severe anemia with elongated and Sickle = shaped red blood corpuscles. Arch.Intern.Med; N0 20. Page 586–599.
- 22. Fall Gueye A.** 2008. Aspects épidémiologiques, diagnostiques et évolutifs de la drépanocytose SC à Dakar. Thèse de doctorat de médecine, Dakar, N° 116.
- 23. Favier A.** 2003. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité chimique. Page 58-60.
- 24. Galacteros.F.** 2008. Les bases physiopathologiques de la drépanocytose prise en charge et actualités thérapeutiques. Hôpital Henri monder, centre de la drépanocytose, 9400 cretell, France. E. mail centre drépanocytose @hmn.ap-hap-paris.fr manuscrit № 2298/drepano.

- 25. Gentiline M.** 1993. Hémoglobinoses. In : Médecine Tropicale. Med. SCI. 5<sup>e</sup> édition Flammarion, Paris. Page 513-531.
- 26. Gessler M.C.; Nkunya M.H.H.; Mwasumbi L.B; Heinrich M. and Tanner M.** 1994. Screening Tanzanian medicinal plants for antimalarial activity. Acta Tropical, N<sup>o</sup> 56. Page 65-72.
- 27. Girot R.** 2003. Les syndromes thalassémiques et les syndromes drépanocytaires. Aspects cliniques et thérapeutiques. Paris John Libbey. Page 211-219.
- 28. Guéye S ND, Dan V.** 1963. Drépanocytose et hématurie. Med Afrique Noire de Langue Française. N<sup>o</sup> 10. Page 387-8.
- 29. Hernigou P.** 2003. Complications ostéo-articulaires dans la drépanocytose chez l'adulte. La drépanocytose John Libbey Eurotext. Page 171-175.
- 30. Jean P.** 1990. Les petits guides de la santé naturelle : éditions Saint Paul ISBN 2-85049-447-X : Comment soigner le paludisme et la drépanocytose. 184, avenue de Verdun 92130 Issy les Moulineaux. N<sup>o</sup> 635.
- 31. Kébé A.** 1990. Contribution à l'étude des plantes médicinales de la région de LOUGA (Sénégal). Thèse de Pharmacie, DAKAR. N<sup>o</sup> 90.
- 32. Kéclarat L. ; Romana M. ; Saint Martin C.** 2004. Epidémiologie des gènes de globines dans le bassin caribéens in la drépanocytose regards croisés sur une maladie orpheline. Ed Khartala. Page 75-95.
- 33. Kerharo J., Adam J.G. Vigot et Frères.** 1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Paris France. Page 333- 334.
- 34. Khalid S. A., Friedrichsen G. M., Christensen S. B., El Tahir A., And Gwiria M.** 2007. Isolation and characterization of pristimerin as the antiplasmodial and antileishmanial agent of *Maytenus senegalensis* (Lam) Exell. ARKIVOC (ix). Page 129-134.
- 35. Koshy M., Entsua H.R., Koranda A., Kraus A.P., Johnson R., Bellevue R., Floumoy- Gil Z., Levy P.** 1986. Leg ulcers in patients with sickle cell disease. Blood; N<sup>o</sup> 75. Page 1403-1408.

- 36. Labie D., Elion J.** 2005. Génétique et physiopathologie de la drépanocytose in la drépanocytose. Ed John LibbeyEurotex. Page 1-2.
- 37. Labie., Wajcman.H.** 1984. Biologie de l'hémoglobine in la maladie drépanocytaire. Ed Sandoz. Page 39.
- 38. Lionnet F., Stankovic K., Girot R.** 2009. Drépanocytose de l'adulte. Hématologie, EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), 13-006-D.
- 39. Maiga A., Diallo D. Sanogo R.** 2006. Activités analgésiques et anti-inflammatoire de extraits de *Maytenus senegalensis*, utilisées dans le traitement traditionnel des dysménorrhées au mali. Pharm. Méd. Trad. Afr, Vol. XIV. Page 123-136.
- 40. Mbaye M, 2014.** *Maytenus senegalensis* dans la prise en charge de la drépanocytose. Thèse Pharmacie Dakar N°79.
- 41. Michel Cordoso Vieira et Al.** 2011. Floresta et Ambiente N° 18. Page 1-18.
- 42. Montalembert M.** 2004. Urgences chez l'enfant drépanocytaire : Réanimation, soins intensifs, médecine d'urgence. Périodique. Vol 10,2. Page 81- 87.
- 43. Morris CR.** 2014. Alteration of the arginine metabolome in sickle cell disease: A growing rationale for arginine therapy. Hematology oncology clinic of north America, **28**(2): 45-50.
- 44. Nature et Technologie.** 2013. N° 09. Page 35-40.
- 45. Ndiaye A.** 2013. *Maytenus senegalensis* dans la prise en charge de la drépanocytose. Thèse Pharmacie Dakar. N°29.
- 46. Neuwinger.** 2000. Isolation and characterization of pristimerin as the Antiplasmodial and antileishmanial agent of *Maytenus senegalensis* (Lam.) Exell. ARKIVOC (ix). Page 129-134.
- 47. Ogungbemi SI, Anigbogu CN, Kehinde MO, Jaja SI.** 2013. L- arginine Increases nitricoxide and attenuates pressor and heart rate responses to Change in posture in sickle cell anemia subjects. Nigeriam Journal of Physiological Sciences, **28**(1) : 45-50.

- 48. Parot A., Maitre B.** 2003. Syndrome thoracique aigue de l'adulte. La drépanocytose John Libbey Paris. Page 135-143.
- 49. Ralimana Z. I.** 2009. Surveillance biologique des drépanocytaires. Thèse Médecine Antananarivo. N<sup>o</sup> 7944.
- 50. Sylla M. K.** 2013. Phytothérapie traditionnelle de la drépanocytose au Sénégal : Enquête ethnobotanique chez des patients drépanocytaires et des tradipraticiens, dans les régions de Dakar et Thiès. Thèse Pharmacie Dakar. N<sup>o</sup> 19.
- 51. Sofowora E.A., Isacs W.A., Ogunkoya L.O.** 1975. Isolation and cracterization of an antisickling agent from *Fagara xanthoxyloides* root. Lioydia.
- 52. Wajcman H.** 2004. Diagnostic et dépistage de la drépanocytose. Rev Prat; N0 54. Page 1543-1547.
- 53. Weatherall DJ, Clegg JB.** 2000. Inherited heamoglobindisorders: an increasing global health problem. Bulletin of the who. **79**. Page 704-12
- 54. Yameogo P.** 2009. Contribution à l'étude des paramètres hématologiques chez les femmes enceintes atteintes d'un alpha thalassémie au centre médical Saint Camille de Ouagadougou. Mémoir de DEA Université d'Ouagadougou. Page 26-11.
- 55. Yuma et Col.** 2013. Etude de l'activité antifalcémiant et de la thermo- et photo -dégradation des anthocyanes de *Centellas asiatica*, *Thomandersiahensii* et *Maesopsiseminii*. Int. J. Biol. Chem. SCI. 7(5). Page 1892-1901.

# SERMENT DE GALIEN

---

*Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes Condisciples.*

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

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

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

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

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

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

## **PERMIS D'IMPRIMER**

Vu :

Le président du jury

Vu :

Le Doyen.....

Vu et Permis d'imprimer

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

Le Doyen