

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie physico-chimique
Spécialité Biochimie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

**Effet gastroprotecteur des extraits éthanoliques des
fruits et feuilles de *Crateagus laciniata***

Présenté par :

MOUSSAOUI Hania Yasmine & BAIR Rania

Soutenu le : 22 Juin 2023

Devant le jury composé de :

Mme SADAoui BOUGOFFA.K	MCA	Présidente
Mme BENLOUKIL.M	MAA	Encadrante
Mme REMILA-KHEREDDINE.S	MCB	Examinatrice
Mme SAIDENE.N	Doctorante	Invitée
Mme KADIR	Doctorante	Invitée

Promotion 2022 - 2023

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères et les plus profonds tout d'abord au bon dieu le tout puissant de nous avoir accordé santé, courage, volonté et surtout patience pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement et très particulièrement notre promotrice Mme BENLOUKIL de nous avoir encadrée et dirigée durant la réalisation de ce travail avec une grande rigueur scientifique ; merci madame pour tout le savoir que vous nous avez transmis, pour les commentaires qui ont enrichis ce travail que ce soit la partie expérimentation ou rédaction.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury pour leur collaboration à l'examen de ce travail, Mme SADAoui et Mme REMILA.

On remercie vivement les doctorantes Naima et Radia, pour leur extrême gentillesse, leur aide, leurs conseils, leur disponibilité tout le long de notre travail et pour le partage de leurs expériences.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans remercier tous les membres de nos familles et nos amis pour leur soutien, encouragement et pour l'énergie positive qu'ils transmettent toujours. Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

**** MERCI POUR TOUT ****

DEDICACES

Avec l'aide de Dieu tout-puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À mon cher Papa Lamri, à qui tous les mots et trésors de l'univers ne suffiront pas pour le remercier de m'avoir accompagnée dès mon premier souffle dans ce monde. Tu m'as élevé, guidé, écouté et inculqué l'amour du savoir et de la connaissance. Je t'aime éperdument, Papa.

À ma chère Maman Karima, l'amour et le pilier de ma vie. Sans toi, je ne serais pas la femme que je suis aujourd'hui. Tu as toujours été là dès le premier jour de ma vie, et je ne saurais te remercier de m'avoir écoutée, soutenue et encouragée durant mes années d'études. J'espère te rendre fière de moi.

À mon cher et unique grand frère Zine-eddine, depuis toute petite, tu es mon parfait exemple, mon idole. Dès le premier jour d'école, tu as pris ma main et depuis ce jour, tu ne l'as jamais lâchée. Tu as su semer en moi l'amour des études et du savoir. J'ai la ferme certitude que tu deviendras un très grand médecin, et j'espère que tu seras fier de ta petite sœur.

À mes chers grands-parents Omar, Bachir, Hayet, Titem, je vous remercie pour tout l'amour et la sagesse que vous nous avez transmis, à nous, vos enfants et petits-enfants. Que Dieu vous garde auprès de nous en bonne santé.

À ma chère famille Moussaoui et Bensadi, à mes chères tantes Farida, Hassiba, Djahida, Lynda, et à mes chers oncles Namir, Sofiane, Nassim, Lamine, Karim, Khaled et à tous mes cousins, vous êtes une famille en or.

À mes chers amis, à toutes les personnes qui comptent pour moi, merci de faire partis de ma vie. Dieu a fait en sorte que nos chemins se croisent, et je vous remercie de contribuer à mon bonheur.

À ma chère binôme Rania, tu es une personne studieuse, ambitieuse et sérieuse. Je te remercie infiniment de m'avoir donné le privilège de travailler ensemble et de voir ce travail naître. Je te souhaite de réaliser tout ce que tu désires. À nos retrouvailles.

À mes chers camarades que j'ai pu rencontrer durant mes années d'études, là où vous êtes, j'espère que vous réalisez tout ce que vous désirez.

À tous mes enseignants, tous les mots du monde ne pourront exprimer la gratitude que j'ai pour chacun de vous. Merci de nous avoir transmis tout ce savoir.

Si je dois dépeindre mes années d'études, j'écrirai des pages
J'écrirai en retenant mes larmes avec beaucoup de courage

Tout a commencé un matin en 2004, où tu m'as confié Papa à ce beau monde du savoir
J'étais une enfant admirative de ce monde des classes, cahiers, stylos et d'histoires
Ces murs de classes qui sont témoins de mes magnifiques et profonds souvenirs
Mes chers camarades, là où vous êtes je n'oublierai jamais vos éclats de rires
Les jours, nuits et années sont passés et là je me tiens auprès de vous, une étudiante accomplie

Je le dois à vous mes enseignants qui ont su m'inculquer cet amour des sciences démesuré

Hania Yasmine

DEDICACES

Louanges et remerciements à ALLAH le tout puissant, le
Miséricordieux qui m'a donné le courage et la force afin d'achever ce modeste travail.

Du plus profond de mon cœur je dédie ce mémoire :

A cette source de tendresse, de patience et de générosité, celle qui m'a tant soutenu dans
les différents moments de ma vie, celle qui m'a toujours encouragé et conseillé et ne
cessera de le faire.

A ma précieuse maman !

A mon père pour les efforts et les sacrifices, grâce à qui je n'ai jamais rien manqué dans
la vie.

A ma merveilleuse sœur, ma meilleure amie et confidente Katia, je te souhaite tout le
bonheur et le succès de monde.

A mon adorable petit frère Badis, mon compagnon de jeux et de complicité.

A toutes mes tantes et oncles pour votre soutien, vos encouragements et votre amour
inconditionnel.

A mes chers cousins et cousines : (Ines, Amine).

A ma chère amie et binôme Hania ainsi que toute sa famille.

A tous mes professeurs

A tous mes amis(es) de promotion en souvenirs de nos fous rires et tous les instants que
nous avons partagés ensemble.

A toute personne qui m'a aidé tout le long de mon parcours d'étude.

A tous ceux que j'aime.

Rania

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction.....1

Partie Théorique : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Structure et Thérapeutique Gastrique

I.	Généralités.....	2
I.1	Anatomie de l'Estomac	2
I.2	Morphologie interne	2
I.3	Cellules endocrines et exocrines de l'estomac	3
I.4	Mécanismes physiologiques de défense de la muqueuse gastrique	3
I.5	Pathologies liées à l'Estomac	4
I.5.1	Gastrite	4
I.5.2	Ulcère gastrique.....	4
I.5.3	Cancer gastrique.....	4
I.6	Facteurs liés aux lésions gastriques	5
I.6.1	Anti-inflammatoires non stéroïdiens et Aspirine	Erreur ! Signet non défini.
I.6.2	<i>Helicobacter pylori</i>	5
I.6.3	Ethanol, facteur de déséquilibre gastrique	5
I.6.4	Lésion ischémie/reperfusion	6
I.6.5	Stress oxydant	6
I.7	Traitement de l'ulcère gastrique	6
I.7.1	Antiacides.....	7
I.7.2	Antisécrétoires gastriques	7
I.7.3	Éradication de l'infection par <i>H.pylori</i>	8
I.8	Utilisation de plantes médicinales dans le traitement des ulcères gastriques.....	9

Chapitre II : Description de la plante

II.	Généralités sur la plante	10
II.1	Description botanique et localisation géographique.....	10
II.2	Systématique de la plante	10
II.3	Étymologie et appellations	11
II.4	Composition en métabolites du genre <i>Crataegus</i>	11
II.5	Activités pharmacologiques de <i>Crataegus</i>	12
II.5.1	Activité cardiovasculaire.....	12

II.5.2	Activité antidiabétique	12
II.5.3	Activité anti-inflammatoire et antimicrobienne	12
II.5.4	Activité antivirale	12
II.5.5	Activité neuroprotectrice	12

Partie Expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1	Matériel	
III.1.1	Espèce végétale	14
III.1.2	Animaux	14
III.2	Méthodes	15
III.2.1	Préparation de l'extrait	15
III.2.2	Activité gastroprotectrice de l'extrait de <i>Crateagus laciniata</i>	17
III.2.3	Etude des activités enzymatiques	18
III.2.4	Analyse histologique	20

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.	Résultats et Discussion	25
IV.1	Teneur en polyphénols totaux (PPT) de <i>Crateagus laciniata</i>	25
IV.2	Evaluation de l'effet gastro protecteur de <i>C.laciniata</i>	25
IV.2.1	Observations macroscopiques	25
IV.2.2	Activités enzymatiques	29
IV.2.3	Observations microscopiques des lésions gastriques	33
	Conclusion	36
	Références bibliographique	38
	Résumé	

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Anti-H₂ : Antihistaminique 2

C. laciniata : *Crateagus laciniata*

CAT : Catalase

CMC : Carboxy methyl cellulose

COX : Cyclo-oxygénase

ECL : Entérochromaffine

ERO : Espèce réactive d'oxygène

FCL : Fruits de *Crateagus laciniata*

GSH : glutathion endogène

IPP : Inhibiteur de la pompe à proton

LCL : Feuilles de *Crateagus laciniata*

MDA : Malondialdehyde

MPO : Myéloperoxydase

PG : Prostaglandines

SOD : Superoxyde dismutase

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Anatomie et morphologie de l'estomac.	2
2	Mode d'action de <i>H. pylori</i> .	5
3	Mode d'action des antisécrétoires gastriques.	8
4	Photo représentant la plante <i>Crataegus laciniata</i> .	10
5	Schéma de tous les effets thérapeutiques du genre <i>crataegus</i> .	13
6	Photographies originales des fruits (A) et des feuilles (B) de <i>C. laciniata</i> .	14
7	Photographie originale des souris au sein de l'animalerie.	14
8	Photographies originales des poudres Feuilles (A) et fruits (B) tamisées.	15
9	Protocole de dosage des polyphénols totaux.	16
10	Différentes étapes de traitements des souris jusqu'à leur sacrifice.	18
11	Préparation des histocassettes.	20
12	Automate de déshydratation.	21
13	Différentes étapes de l'enrobage.	21
14	Etapes de la microtomie.	22
15	Etapes de déshydratation (A) et d'hydratation (B).	22
16	Etapes de la coloration.	23
17	Etape du montage des lames.	23
18	Etape de lecture microscopique	24
19	Photographies originales des estomacs ; A : Estomac normal, B : Estomac traité par l'éthanol absolu et le véhicule CMC.	25
20	Photographie originale d'estomac de souris traitée par l'Oméprazole.	26
21	Photographies originales des estomacs de souris observées sous microscope binoculaire.	26

Liste des figures

22	Effet de l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de <i>C. laciniata</i> sur l'activité de la SOD.	29
23	Effet de l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de <i>C. laciniata</i> sur l'activité de CAT.	31
24	Photographies originales des coupes histologiques des estomacs de groupes de souris.	34

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
I	Classification de la plante <i>C. laciniata</i> .	11
II	Différents noms vernaculaires de <i>C. laciniata</i> .	11
III	Conditions optimales de l'extraction.	15
IV	Répartition des différents groupes selon le type de traitement administré.	17
V	Résultats du dosage des polyphénols totaux dans les fruits et feuilles de <i>C. laciniata</i> .	25
VI	Estimation du pourcentage de lésions ulcéreuses pour les différents groupes.	27

Introduction

Introduction

L'ulcère gastrique est une maladie qui affecte un grand nombre de personnes à travers le monde, c'est une maladie commune avec de multiples étiologies. Des facteurs tels que le tabac, le stress, un régime inapproprié, et des déficiences au niveau des mécanismes de gastro protection sont étroitement reliés au développement des ulcérations de la muqueuse gastrique. L'infection bactérienne avec *Helicobacter pylori* a aussi été soulignée comme étant un facteur prédisposant au développement des ulcères gastriques ainsi qu'à des facteurs endogènes tels que l'acide chlorhydrique, la pepsine, et les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Li et al., 2014**).

Pour éliminer les EROs, la cellule gastrique a recours à plusieurs antioxydants enzymatiques tels que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et non enzymatiques tels que le glutathion endogène (GSH), mais la génération excessive de EROs pendant l'ulcère augmente la peroxydation lipidique et épuise ces systèmes antioxydants (**Boligon et al., 2014**).

Un large spectre de médicaments tels que les antiacides, inhibiteurs de pompes à protons, anticholinergiques, et antagonistes des récepteurs histaminiques ont été développés. Néanmoins, les thérapies existantes ont généralement des effets indésirables (hypersensibilité, arythmie et changements hématopoïétiques) et sont très coûteux (**Batista et al., 2015**).

En raison de l'occurrence de ces derniers, les plantes médicinales sont considérées comme un alternatif présentant moins d'effets secondaires, et comme source principale de nouveaux médicaments à moindre coût (**Lakshmi Srinivas et al., 2013**).

Ainsi ce travail vise à évaluer l'effet gastro protecteur de l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de *Crateagus laciniata* sur un modèle *in vivo*.

Partie Théorique :
Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I :
Structure et Thérapeutique
Gastrique

I. Généralités

I.1 Anatomie de l'Estomac

Situé dans la loge sous-phrénique gauche, l'estomac a une taille qui varie selon la réplétion (Figure 1). En moyenne, il mesure 25 cm de long et 12 cm de large. Il débute par le cardia qui met en communication l'œsophage et se termine par le pylore avec la première portion du duodénum. L'angle formé par l'œsophage abdominal et de fundus (ou grosse tubérosité) est l'angle de His (incisure cardiale). On lui décrit plusieurs parties : la grosse tubérosité verticale et la petite tubérosité (ou antre) qui se continue par le pylore et deux courbures : la petite courbure à droite et la grande courbure à gauche (Zeintoun et al., 2020).

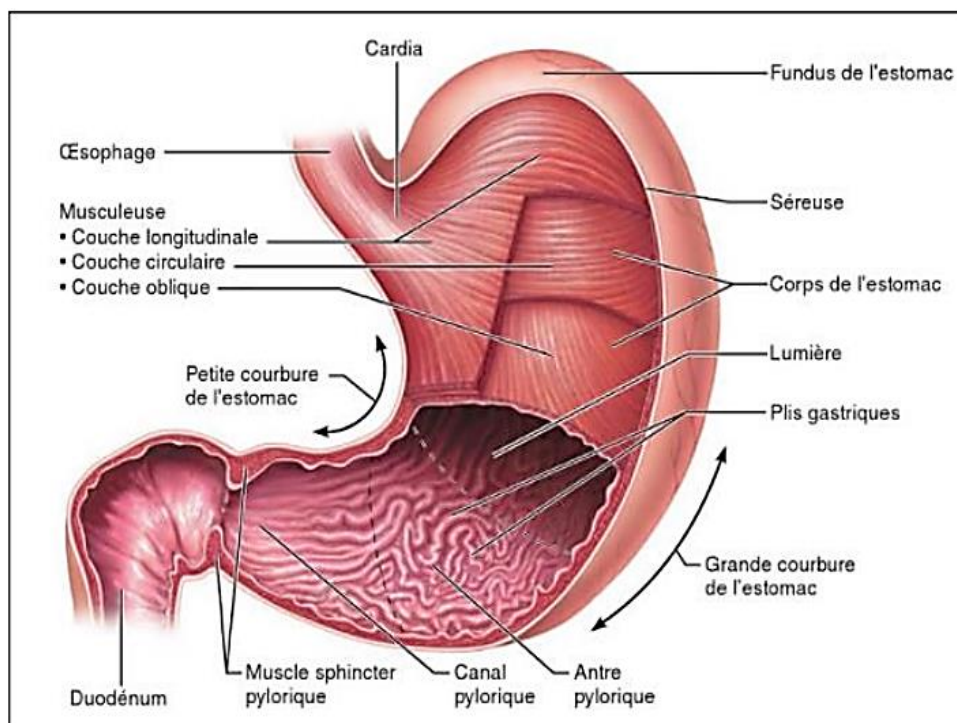


Figure 1 : Anatomie et morphologie de l'estomac (Marieb et Hoehn, 2015).

I.2 Morphologie interne

La paroi de l'estomac est très épaisse. Elle comprend de la superficie à la profondeur : **une séreuse, une musculeuse avec trois couches, une sous-muqueuse et une muqueuse** (Figure 1) :

- **La séreuse** est représentée par les deux feuillets du péritoine viscéral qui tapissent sa face antérieure et postérieure, et qui forment des replis au niveau des courbures, qui vont servir comme moyen de fixité à l'estomac, elle est très mince et adhérente (Hammoudi, 2010).

- **La musculieuse** est très développée en raison de son activité motrice importante dans la digestion alimentaire, elle comprend trois couches musculaires superposées, couche longitudinale, circulaire et oblique (**Hammoudi, 2010**).
- **La sous-muqueuse** est un plan de glissement lâche situé entre la muqueuse et la couche musculaire profonde. Elle comprend les éléments vasculaire et nerveux de l'estomac (**Hammoudi, 2010**).
- **La muqueuse** est très épaisse, elle se caractérise par des reliefs à sa surface. Ce sont des plis gastriques longitudinaux bien visibles en endoscopie (**Hammoudi, 2010**).

I.3 Cellules endocrines et exocrines de l'estomac

I.3.1 Les cellules exocrines se divisent en :

- **Les cellules à mucus** produisent une couche de mucus contenant 95% d'eau et 5% de mucine (glycoprotéine). Cette couche forme un gel insoluble qui adhère à la surface de la muqueuse gastrique (**Kierszenbaum, 2002**).
- **Les cellules pariétales** sont spécialisées dans la production d'acide chlorhydrique et la destruction des microorganismes (**Lowe et al., 1997 et Sherwood, 2006**).
- **Les cellules principales** sécrètent de la pepsine sous forme de précurseur inactif, le pepsinogène (**Lowe et al., 1997**).

I.3.2 Les cellules endocrines se divisent en :

- **Les cellules de type entérochromaffine (ECL)** sont stimulées par l'acétylcholine (ACh) et la gastrine qui à son tour stimulent les cellules pariétales (**Sherwood, 2006**).
- **Les cellules G** : sont stimulées par l'acétylcholine (ACh), elles sécrètent la gastrine qui stimule les cellules pariétales et cellules principales (**Sherwood, 2006**).
- **Les cellules D** : sécrètent la somatostatine qui inhibe les cellules pariétales, les cellules G et les CEL (**Sherwood, 2006**).

I.4 Mécanismes physiologiques de défense de la muqueuse gastrique

Les mécanismes qui participent à la protection de l'estomac sont :

- **Un film muqueux** : gélifié d'une épaisseur 0.1 à 0.5 mm qui protège la surface de l'épithélium. Ce mucus est sécrété par les cellules à mucus, il peut être dépolymérisé par la pepsine et donc passer sous forme soluble (**Ramsay et Carr, 2011**).

- **Les ions de bicarbonate (HCO_3^-)** : sécrétés par l'épithélium, ils diffusent dans le film de mucus où ils vont tamponner les ions H^+ provenant de la lumière de l'estomac (Silbernagl et Lang, 2012).
- **Le flux sanguin** : la dernière ligne de défense est l'irrigation sanguine de la muqueuse, le sang emporte rapidement les ions H^+ ou fournit un apport d'ions HCO_3^- et des substrats du métabolisme énergétique (Silbernagl et Lang, 2012).
- **Les cellules épithéliales** : est une surface qui constitue un élément de protection dynamique grâce à son renouvellement cellulaire rapide. L'équilibre entre la multiplication en profondeur et la desquamation en surface assure l'intégrité de la barrière cellulaire (Soybel, 2005).
- **Prostaglandine** : exerce des effets cryoprotecteurs sur la muqueuse gastrique, elle augmente la production du mucus, la sécrétion de bicarbonate, le flux sanguin, et elle réduit la sécrétion acide (Sherwood, 2006).

I.5 Pathologies liées à l'Estomac

I.5.1 Gastrite

Le terme gastrite a été utilisé dans différents contextes pour décrire des symptômes des voies digestives supérieures, des signes macroscopiques d'inflammation ou de lésions gastriques visibles à l'endoscopie et des caractéristiques histologiques d'inflammation ou de lésions de la muqueuse gastrique observées au microscope, elle se définit comme une inflammation de la muqueuse de l'estomac (Paré et al., 2005).

I.5.2 Ulcère gastrique

Les ulcères peuvent être définis comme des lésions muqueuses qui s'étendent à la couche de la musculature et forment une cavité entourée d'une inflammation aiguë ou chronique. Ces ulcères sont divisés en deux types courants d'ulcères gastriques et d'ulcères duodénaux selon l'emplacement de l'ulcère (Najm, 2011). De plus, cette maladie est le trouble gastro-intestinal le plus courant affectant 40% des pays développés et 80% des pays en développement en raison de l'utilisation inconsidérée d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des infections à *Helicobacter pylori* (Ajeigbe et al., 2014), et la forme sévère peut conduire à un cancer.

I.5.3 Cancer gastrique

Cancer gastrique (GC) est un cancer qui se développe à partir de la paroi interne de l'estomac, il peut se propager de l'estomac à d'autres parties du corps, il est la troisième cause de décès par cancer après le cancer du poumon et le cancer du foie. La cause la plus fréquente est

l'infection par la bactérie *H. pylori*, qui représente 60 % des cas. D'autres causes courantes tel que le tabagisme et la génétique (Murtaza et al., 2017).

I.6 Facteurs liés aux lésions gastriques

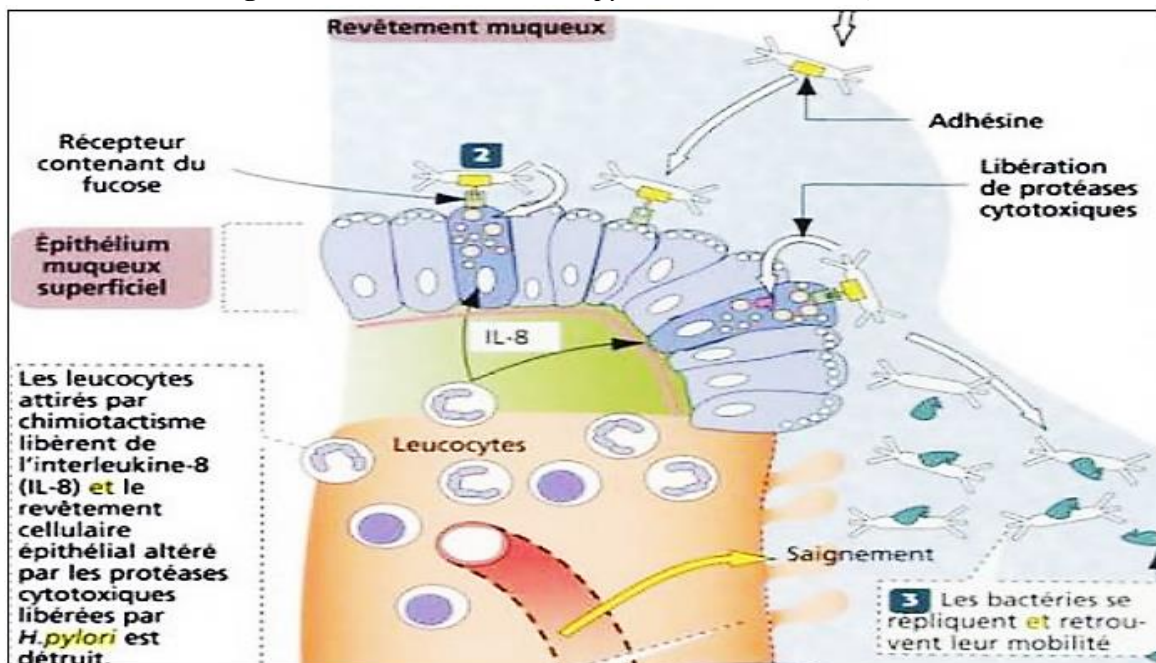
I.6.1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens et Aspirine

Les AINS et l'aspirine inhibent la cyclo-oxygénase (COX), principale enzyme impliquée dans la synthèse de prostaglandines et de la thromboxane A2. Ils entraînent des érosions et/ou des ulcères gastriques et duodénaux. Leur toxicité gastroduodénale est due principalement à la diminution de synthèse des prostaglandines qui jouent un rôle important dans le maintien de la barrière muqueuse, mais également à des mécanismes vasculaires. La prévalence des ulcères gastroduodénaux secondaire à la prise d'aspirine et d'AINS est en nette augmentation car leur prescription est très large (Zeintoun et al., 2020).

I.6.2 *Helicobacter pylori*

H. pylori est un agent pathogène extrêmement courant, capable de modifier la physiologie de l'hôte et de renverser sa réponse immunitaire, lui permettant de persister pendant toute la vie de l'hôte, il est la principale cause des ulcères et du cancer gastrique (Testerman, 2014). C'est une bactérie qui colonise le mucus de l'estomac de l'Homme (Figure 2), elle secrète une grande quantité de l'uréase source d'ammoniac tamponnant l'environnement autour de la bactérie et la protégeant de l'acidité gastrique (Kierszenbaum, 2002).

Figure 2 : Mode d'action de *H. pylori* (Kierszenbaum, 2002).



I.6.3 Ethanol, facteur de déséquilibre gastrique

Les effets de l'éthanol sur la muqueuse gastrique sont complexes et multiples. Ils peuvent être associés à une perturbation de l'équilibre entre les facteurs protecteurs de la muqueuse

gastrique et les facteurs agressifs. La muqueuse gastrique est exposée à l'acide gastrique, à la pepsine et aux stimulants entre autres, tandis que les facteurs gastro protecteurs maintiennent l'intégrité de la couche muqueuse gastrique, le système microcirculatoire, les HCO_3^- , les prostaglandines (PG), la synthèse du facteur de croissance épidermique et la restitution des cellules épithéliales. L'éthanol endommage les cellules endothéliales vasculaires de la muqueuse gastrique et induit une perturbation microcirculatoire et une hypoxie, liée à la surproduction des radicaux oxygénés (Mezdour et al., 2017).

I.6.4 Lésion ischémie/reperfusion

L'ischémie tissulaire peut être décrite comme une situation où l'apport d'oxygène est insuffisant pour couvrir les besoins métaboliques. Alors que les lésions ischémiques sont principalement dues à la mort des cellules privées d'oxygène, la reperfusion produit un large éventail de réponses inflammatoires qui aggravent les lésions locales et entraînent une atteinte systémique (Dorweiler et al., 2007).

L'ischémie/reperfusion endommage la muqueuse gastrique en induisant un stress oxydant, plus précisément les ERO tels que le superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) induisent des réponses inflammatoires et des lésions tissulaires en fragmentant l'ADN cellulaire (Mezdour et al., 2017).

I.6.5 Stress oxydant

Le principal responsable des ulcères de stress est le stress oxydant. Il a été prouvé que le stress psychologique, en plus du stress physique comme l'intervention chirurgicale et l'infection microbienne, conduit à un stress oxydant dans l'estomac. Ce dernier est défini par un état de niveaux élevés des ERO, provoque une multitude de conditions qui stimulent soit une production supplémentaire des ERO, soit une diminution des défenses antioxydantes (Mezdour et al., 2017).

D'autres facteurs sont aussi importants tels que le stress physique et psychologique, le tabagisme et la cigarette, l'alcool et les polluants (Beiranvand, 2022).

I.7 Traitement de l'ulcère gastrique

I.7.1 Antiacides

Les antiacides sont des composés basiques qui neutralisent l'acide dans la lumière gastrique et apportent un soulagement symptomatique contre l'hyperacidité sans inhiber le transport de l'acide par la pompe à protons de la cellule (**Bandyopadhyay, 2006**).

Ces agents neutralisent directement l'acide contenu dans l'estomac, augmentant ainsi le pH gastrique. Cette augmentation du pH aura à son tour un effet inhibiteur sur les enzymes peptiques dont l'activité cesse à un pH d'environ 5 (**Beaulieu et al., 2015**).

Les antiacides les plus couramment utilisés sont le bicarbonate de sodium, le carbonate de calcium, l'hydroxyde de magnésium et l'hydroxyde d'aluminium (**Beiranvand, 2022**).

Des agents additionnels, non antiacides en soi, sont parfois combinés avec les antiacides pour leurs propriétés particulières. Parmi ceux-ci, les alginates, aussi appelés acides alginiques ou alginates de sodium, forment une couche mousseuse agissant directement au niveau de la « poche acide » pour neutraliser l'acide sécrété au-dessus du chyme alimentaire et comme barrière protectrice qui empêche le contact du contenu gastrique acide avec l'œsophage (**Beaulieu et al., 2015**).

I.7.2 Antisécrétoires gastriques

I.7.2.1 Inhibiteurs de la pompe à protons

Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) sont principalement divisés en deux catégories : les inhibiteurs réversibles et irréversibles. Les inhibiteurs irréversibles de la pompe à protons comprennent des médicaments tels que l'oméprazole, le lansoprazole, le rabéprazole, le pantoprazole, l'ésoméprazole et d'autres (**Beiranvand, 2022**).

Les inhibiteurs de la pompe à protons sont des anti-sécrétoires gastriques. Ils agissent par inhibition de la pompe H^+/K^+ ATPase, présente au niveau de la membrane plasmique des cellules pariétales de l'estomac permettant la libération d'ions H^+ responsables de l'acidité dans la lumière gastrique (**Mas, 2022**).

I.7.2.1.1 Mécanisme d'action

Les inhibiteurs de la pompe à protons sont des prodrogues sans action locale qui appartiennent à la famille des Benzimidazoles (Figure 3), leurs effets découlent de leur absorption, de leur accumulation et de leur distribution dans l'organisme permettant leur activation. Ils n'agissent pas de façon directe sur les cellules digestives mais par passage dans la circulation sanguine puis action sur les cellules productrices d'HCl (**Mas, 2022**).

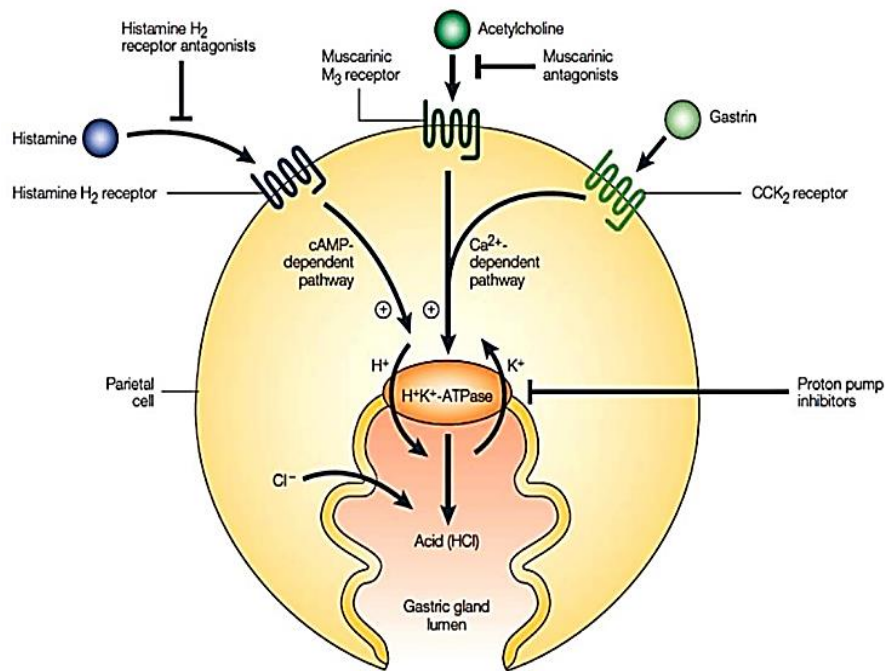


Figure 3 : Mode d'action des antisécrétoires gastriques (Olbe et al., 2003).

I.7.2.2 Antagonistes des récepteurs H₂ de l'histamine

Les antagonistes des récepteurs H₂ de l'histamine (agents anti-H₂) inhibent de façon compétitive et réversible l'action de l'histamine au niveau des récepteurs membranaires H₂ du pôle vasculaire des cellules pariétales de l'estomac (Figure 3) (Beaulieu et al., 2015).

Cimétidine, ranitidine, famotidine et sulfotidine sont des produits chimiques qui via les récepteurs H₂ des cellules pariétales, bloquent la sécrétion d'acide stimulée par l'histamine. Ces médicaments ne réduisent pas totalement la sécrétion d'acide en raison d'autres mécanismes impliquant les récepteurs cholinergiques et des récepteurs de la gastrine qui ne sont pas directement liés au récepteur H₂ (Bandyopadhyay, 2006).

I.7.2.3 Antagonistes muscariniques

La sécrétion d'acide, de mucus et de pepsinogène dans la muqueuse gastrique est stimulée par les récepteurs muscariniques. En raison de la grande affinité des antagonistes muscariniques pour bloquer les récepteurs muscariniques au niveau du ganglion de la paroi gastrique, la Pirenzépine et la Télienzépine ont été développées en tant que médicaments sécrétoires (Figure 3) (Beiranvand, 2022).

I.7.3 Éradication de l'infection par *H. pylori*

Le premier traitement efficace contre cette bactérie a été introduit dans les années 1980 et comprenait une combinaison de bismuth, tétracycline et métronidazole qui a duré deux semaines. Cependant, des limitations telles qu'un régime médicamenteux compliqué, des

nausées, la diarrhée et les étourdissements ont rendu ce traitement difficile (**Kuna et al., 2019**).

I.8 Utilisation de plantes médicinales dans le traitement des ulcères gastriques

Les plantes médicinales sont utilisées pour traiter les ulcères gastriques en raison de leurs propriétés apaisantes et anti-inflammatoires. Des herbes telles que la réglisse, la camomille et l'aloé vera peuvent soulager les symptômes et favoriser la cicatrisation des tissus endommagés.

➤ *Glycyrrhiza glabra* (réglisse)

Les propriétés antioxydantes des flavonoïdes et des tanins de *G.glabra* ont été liées à l'activité anti-ulcéreuse puisque des radicaux libres sont développés dans les lésions de la muqueuse gastrique. La réglisse contient également des stéroïdes qui sont connus pour réduire le développement des ulcères (**Ghader et al., 2014**).

➤ *Zingiber officinale* (gingembre)

Des études animales sur des rats de laboratoire ont montré que l'administration orale d'extrait d'acétone de gingembre, inhibait significativement lésions gastriques induites par l'éthanol (**Haniadka et al., 2014**).

➤ *Aloe vera*

A.vera a montré une activité antiulcéreuse statistiquement significative comparable au médicament standard Oméprazole. Cependant, les mécanismes cellulaires de ces actions restent à établir (**Sai Krishna Borra et al., 2011**).

Et parmi ces plantes on retrouve *Crateagus laciniata* qui possède des propriétés intéressantes pour le traitement des ulcères gastriques.

CHAPITRE II :

Description de la Plante

II. Généralités sur la plante

II.1 Description botanique et localisation géographique

Crataegus est un grand genre d'arbres et d'arbustes de la famille des roses, les Rosaceae avec environ 250 espèces, le nom du genre *Crataegus* est dérivé des mots grecs *Kratos* signifiant dureté du bois (**Kashyap et al., 2012**).

Les feuilles de l'espèce *C. laciniata* sont caduques, possèdent 5-9 lobes, insérées isolément sur un axe à différents niveaux. Les fleurs sont blanches, ordinairement sur un seul plan porté par des pédoncules de longueurs inégales, elles contiennent à la fois des organes mâles et femelles et sont principalement fécondés par des insectes, qui sont attirés par le parfum dégagé par les fleurs. Le fruit est sous forme de baie charnue, de couleur rougeâtre (**Bachiri et al., 2015 et Kumar et al., 2012**).

Ces arbres de taille petite à moyenne (5 à 15 m de haut) sont cultivés comme plante de haie en Europe et se trouvent principalement dans les régions tempérées comme l'Amérique du Nord, l'Asie occidentale, l'Inde, la Chine et l'Afrique du Nord (**Kashyap et al., 2012**).

Les espèces de *Crataegus* (Figure 4) possèdent d'immenses applications médicinales, mais peu d'espèces ont été étudiées pour leurs activités biologiques (**Kumar et al., 2012**).



Figure 4 : Photographie représentant la plante *Crataegus laciniata* (**Bachiri et al., 2015**).

II.2 Systématique de la plante

La classification de la plante de *Crataegus laciniata* est représentée dans le tableau suivant :

Tableau I : Classification de la plante *C.laciniata* (**Bellakhdar, 1997**).

Règne	<i>Plantae</i> (Plantes)
Sous règne	<i>Tracheobionta</i> (plantes vasculaires)
Embranchement	<i>Spermatophyta</i> (spermaphytes)
Sous embranchement	<i>Angiospermae</i> (angiospermes)
Classe	<i>Magnoliophyta</i> (dicotylédones)
Famille	<i>Rosaceae</i>
Genre	<i>Crataegus</i>
Espèce	<i>Crataegus laciniata</i>

II.3 Etymologie et appellations

L'étymologie et les appellations dans de différentes langues de *Crataegus laciniata* sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau II : Différents noms vernaculaires de *C.laciniata* (**Bellakhdar, 1997 et Bachiri et al., 2015**).

Français	Aubépine lacinié, Bois de mai, épine de mai, Poire d'oiseau
Anglais	Hawthorn
Arabe	Tabgha
Kabyle	Admam
Latin	<i>Crataegus laciniata</i>

II.4 Composition en métabolites du genre *Crataegus*

Plusieurs groupes de composés représentant les métabolites primaires et secondaires ont été reportés dans différentes parties des aubépines. Dans les fruits, les sucres sont les métabolites primaires les plus abondants (**Urbonaviciute et al., 2006**) alors que les métabolites secondaires majeurs sont les composés phénoliques. Par rapport à ces derniers, les oligomères procyanidines et leurs glycosides sont les principaux composés majeurs, tandis que les flavonoïdes dominant dans les feuilles (**Liu et al., 2011**).

L'analyse chimique a permis d'identifier plus de 150 molécules dans l'aubépine, dont les acides phénoliques (gallique, p-coumarique, chlorogénique, caféique), la quercétine, la pérocachétine, les terpénoides, les lignanes, les stéroïdes, les acides organiques (fumarique, citrique) et des sucres (maltose, saccharose, glucose, fructose) (**Nazhand et al., 2020**).

II.5 Activités pharmacologiques de *Crataegus*

II.5.1 Activité cardiovasculaire

Crataegus est largement utilisé en cardiologie (**Blesken, 1992**), elle peut améliorer le flux sanguin dans les artères coronaires et les contractions du muscle cardiaque, d'où son utilisation répandue dans les troubles cardiovasculaires comme l'arythmie, l'infarctus du myocarde et l'insuffisance cardiaque (**Long et al., 2006**).

II.5.2 Activité antidiabétique

Le diabète sucré est un syndrome qui touche de plus en plus de personnes dans tous les pays du monde. Les extraits de plantes contenant du *Crataegus* ont été largement utilisés pour traiter cette maladie au Mexique. Un tel traitement peut s'avérer très bénéfique, en particulier aux premiers stades de la maladie *Crataegus mexicana* Moc, *C. pubescens* et *C. presl* contenant des constituants actifs tels que des tanins et des flavonoïdes peuvent agir comme antidiabétique (**Andrade-Cetto et Heinrich, 2005**).

II.5.3 Activité anti-inflammatoire et antimicrobienne

C. monogyna, *C. oxycantha* et *C. laevigata* ont montré des activités anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Les composants actifs identifiés dans l'extrait pourraient être à l'origine du potentiel antimicrobien de l'extrait qui a été étudié contre les bactéries Gram-positives (**Tadic et al., 2008**).

II.5.4 Activité antivirale

Cette activité a été étudiée sur les feuilles et les baies de *C. monogyna* et a été évaluée pour la quantité de flavonoïdes et la teneur totale en proanthocyanidines. Les résultats ont révélé que l'extrait contenant ces constituants actifs se sont avérés très efficaces contre l'herpès labial et ont été vérifiés comme étant très efficaces contre le virus Herpès simplex (**Orhan et al., 2007**).

II.5.5 Activité neuroprotectrice

Les sommités fleuries ont une action sédatrice sur le système nerveux et une action régulatrice sur le système cardio-vasculaire, elles corrigent les troubles du rythme cardiaque, elles sont hypotensives et antispasmodiques au niveau des muscles lisses vasculaires. Ces actions neuro-sédatives, cardio-sédatives, vasodilatatrices et antispasmodiques peuvent être utilisées dans les insomnies, le nervosisme, l'émotivité et le surmenage (**Girre et al., 2000**).

En général toutes les espèces du genre *Crataegus* ont les mêmes effets thérapeutiques (Figure 5).

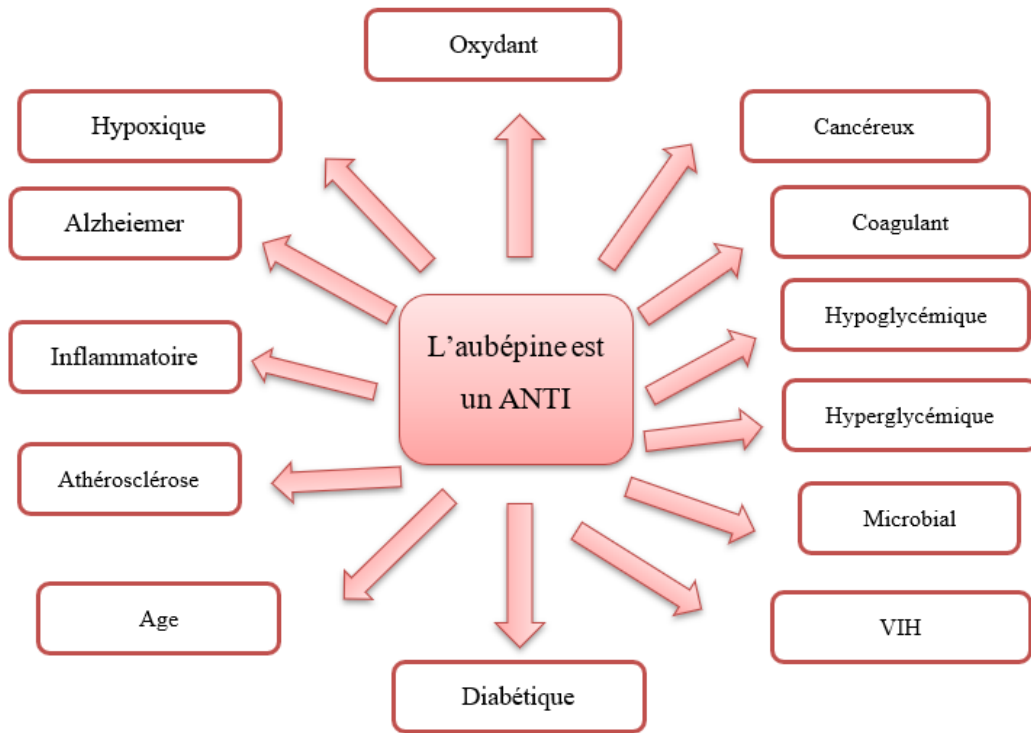


Figure 5 : Schéma de tous les effets thérapeutiques du genre *Crataegus* (Nazhand et al., 2020).

Partie
Expérimentale

CHAPITRE III :
Matériel et Méthodes

III.1 Matériel

III.1.1 Espèce végétale

Le travail a été réalisé sur les feuilles et les fruits d'une espèce de la famille des rosacées appelée *Crataegus laciniata*.



Figure 6 : Photographies originales des fruits (A) et des feuilles (B) de *C.laciniata*.

III.1.2 Animaux

Des souris femelles albinos de type BALB/c, provenant de l'Institut Pasteur Kouba, de poids corporel varie entre (25-30g) dont l'âge varie de 8-12 semaines ont été utilisées pour étudier l'activité gastroprotectrice *C.laciniata*. Les souris femelles ont été placées à l'animalerie de l'université de Bejaia dans des cages à température ambiante de (25-27°C) et un cycle de lumière de 12h par jour, avec un accès libre à l'eau et à l'alimentation de type bouchon.



Figure 7 : Photographie originale des souris au sein de l'animalerie.

III.2 Méthodes

III.2.1 Préparation de l'extrait

➤ Récolte et identification

Les feuilles et fruits de *C. laciniata* préalablement identifiés au laboratoire de botanique, ont été récoltés en Octobre 2021 dans la région de Djurdjura, dans la wilaya de Tizi Ouzou (Algérie).

➤ Lavage et séchage

Les feuilles ont été nettoyées de toute poussière ou contaminant, elles ont été séchées à l'étuve à 37°C.

Les fruits ont été lavés avec de l'eau distillée, coupé en petits morceaux après élimination du noyau, congelés à -20°C puis lyophilisés.

➤ Broyage et Tamisage

Les produits obtenus après le séchage sont réduits en poudres à l'aide d'un broyeur électrique et elles été tamisées pour obtenir des poudres de 63µm de diamètre (Figure 8).

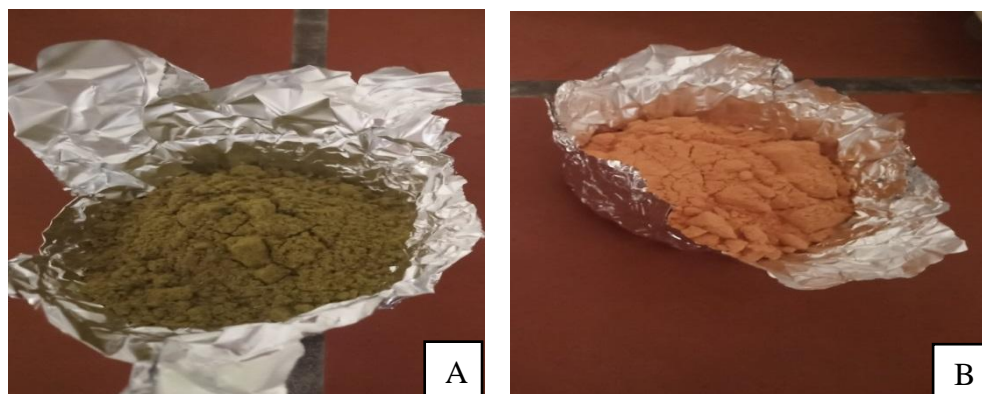


Figure 8 : Photographies originales des poudres Feuilles (A) et fruits (B) tamisées.

➤ Extraction

L'extraction a été réalisée avec des ultrasons en utilisant un bain à ultrasons. Une optimisation des conditions d'extraction a été préalablement réalisée, et les conditions optimales de chaque partie de plante ont été appliquées pour l'extraction, comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau III : Conditions optimales de l'extraction.

	Ethanol/eau (%)	Température (°C)	Temps (min)
Feuilles	50	35	50
Fruits	80	70	25

Une filtration a été réalisée afin de récupérer l'éthanol contenant les polyphénols extraits, l'éthanol a été évaporé grâce à un évaporateur rotatif. Enfin, le résidu obtenu a été lyophilisé pour récupérer un extrait brut sous forme de pâte pour les fruits et de poudre pour les feuilles (Tableau III).

III.2.1.1 Dosage des polyphénols totaux (PPT) :

Le dosage des polyphénols totaux et la détermination de leur teneur est effectué par la méthode de réactif de Folin Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**) en utilisant une méthode de dosage sur microplaque adaptée et décrite par (**Muller et al., 2010**).

➤ Principe

Le principe de la méthode (Figure 9) est basé sur l'oxydation, en milieu basique des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu, complexe de l'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Il voit ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction $-OH$ des phénols (**Catalano et al., 1999**). Ceci entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui absorbe à 760 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Ribéreau-Gayon, 1968**), les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide gallique/g d'extrait, en utilisant une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme étalon.

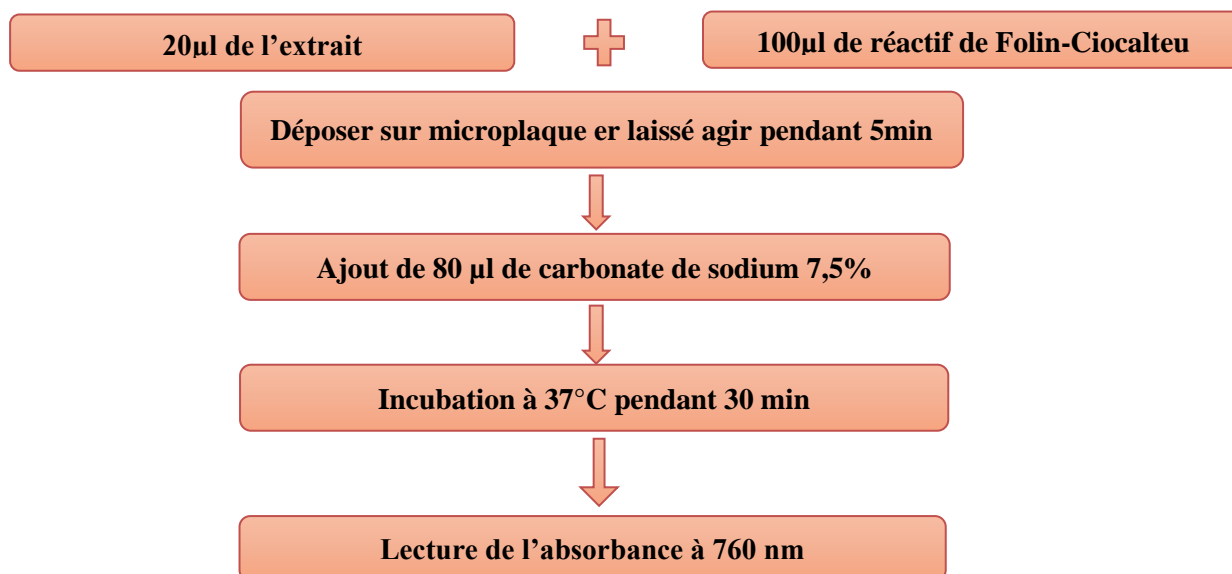


Figure 9 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.

III.2.2 Activité gastroprotectrice de l'extrait de *Crateagus laciniata*

L'activité anti-ulcère de l'extrait des feuilles et fruits de *C.laciniata* a été testée sur l'ulcère expérimental induit par l'éthanol absolu selon le protocole modifié de (Yous et al., 2018).

Les souris ont été privées de nourriture 14h avant le test puis privées d'eau 2h avant tout traitement, elles ont été réparties en 08 groupes (n=6) (voir tableau ci-dessous).

Tableau IV. Répartition des différents groupes selon le type de traitement administré.

Le groupe	Traitement
Le groupe 1 (Contrôle négatif)	Reçoit le véhicule (CMC) +Ethanol absolu.
Le groupe 2 (Contrôle positif)	Reçoit l'éthanol et le médicament
Le groupe 3 (Traité)	Reçoit l'éthanol et FCL 50mg /kg
Le groupe 4 (Traité)	Reçoit l'éthanol et FCL 100mg/kg
Le groupe 5 (Traité)	Reçoit l'éthanol et FCL 200mg /kg
Le groupe 6 (Traité)	Reçoit l'éthanol et LCL 50mg /kg
Le groupe 7 (traité)	Reçoit l'éthanol et LCL 100mg /kg
Le groupe 8 (traité)	Reçoit l'éthanol et LCL 200mg /kg

III.2.2.1 Induction de l'ulcère

Une inflammation gastrique aiguë a été induite par l'administration d'éthanol absolu 0.2ml/souris par gavage intragastrique (Figure 10), soixante minutes après que les souris ont été traitées avec le véhicule CMC 0.8%, FCL et LCL 50, 100, 200 mg/kg ou le médicament de référence Oméprazole 20mg.

Les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale, 1 h après l'induction de l'ulcère. Les estomacs ont été prélevés et une dissection ventro-médiane a été appliquée pour une ouverture de l'estomac selon la grande courbure, elles ont été lavées avec du KCL 0,9%, puis pesées (Figure 10).

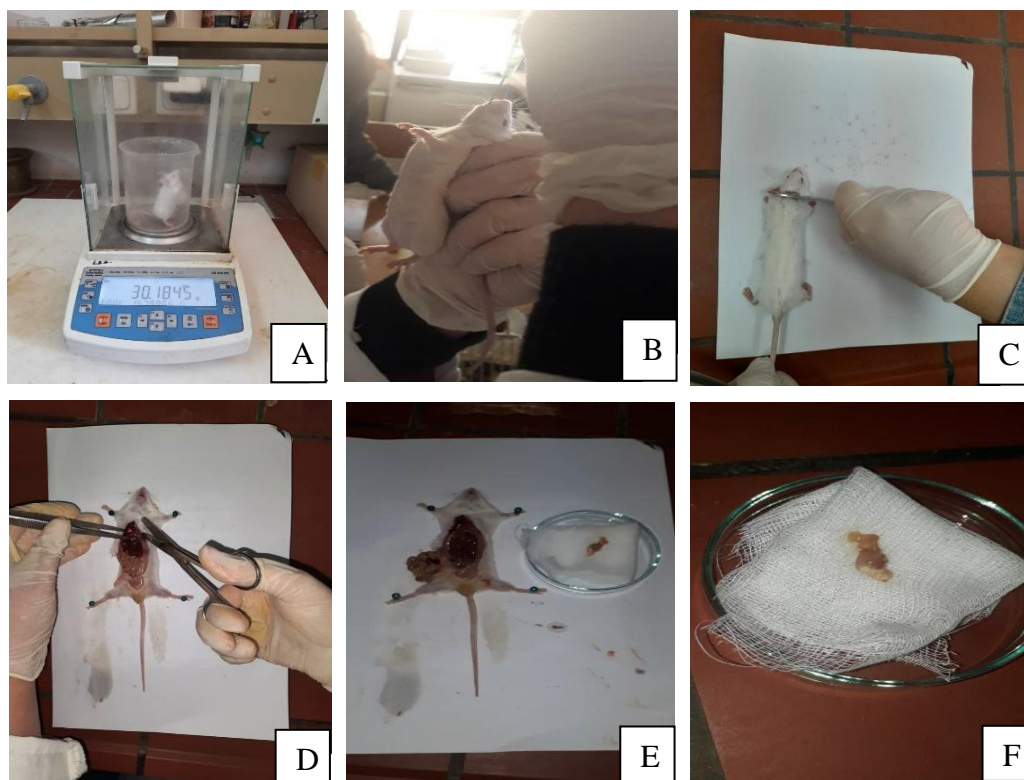


Figure 10 : Photographies originales des différentes étapes de traitements des souris jusqu'à leur sacrifice : **A** : pesage de souris ; **B** : gavage de souris ; **C** : dislocation cervicale ; **D** : dissection ventro-médiane ; **E** : prélèvement de l'estomac ; **F** : estomac récupéré.

III.2.2.2 Evaluation de l'activité anti-ulcère des extraits :

Les échantillons d'estomacs ont été pris sous microscope et analysés par logiciel *image J* pour évaluer l'action inhibitrice des extraits sur l'ulcère provoqué par l'éthanol chez les souris en mesurant les surfaces des zones lésées. Les résultats obtenus nous ont permis de calculer le paramètres :

- Le pourcentage d'ulcération :

Le pourcentage d'ulcération a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'ulcération} = \left(\frac{\text{surface ulcérée du contrôle} - \text{surface ulcérée du test}}{\text{surface ulcérée du contrôle}} \right) * 100$$

III.2.3 Etude des activités enzymatiques

III.2.3.1 Préparation de l'homogénat :

Les tissus gastriques ont été homogénéisés dans un tampon phosphate 0.1M à pH 7.4 et centrifugés deux fois à 8 000 rpm à 4°C pendant 10 min.

La mesure de la quantité de protéines dans l'homogénat a été réalisée par un dosage spectrométrique selon la méthode de (Bradford *et al.*, 1979).

III.2.3.2 Mesure de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)

➤ Principe

Les superoxydes dismutases sont des métallo-enzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en oxygènes moléculaires et peroxydes d'hydrogènes (Comhair et Erzurum, 2001) selon la réaction suivante :



➤ Procédure

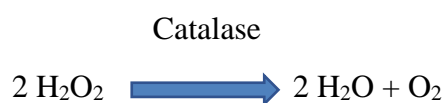
Le mélange réactionnel est constitué de 100µl de solution de pyrogallol (15mM/ 10mM HCl), 20µl de surnageant et 1440µl de tampon Tris-HCl (50mM/L mM EDTA, pH 8,2) pour atteindre un volume final de 1550µl. L'auto-oxydation du pyrogallol a été contrôlée par spectrométrie par l'augmentation de l'absorbance du mélange à 420 nm pendant 3min (Yous *et al.*, 2018), les résultats ont été exprimés en U/mg de protéines.

III.2.3.3 Mesure de l'activité de la Catalase (CAT)

➤ Principe

La catalase est une enzyme qui transforme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en une simple molécule d'eau.

Elle est principalement présente dans les peroxysomes de diverses cellules, dans les plaquettes et le stroma des érythrocytes (Pincemail *et al.*, 2002) selon la réaction suivante :



➤ Procédure

Le mélange réactionnel est composé de 380µl de tampon phosphate de potassium (PB) 0.1M, pH 6,8, 1600µl de H₂O₂ (36mM) et 20µl de surnageant. L'activité de la catalase a été estimée en mesurant la diminution de l'absorption du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 240nm à 25°C pendant 180s (Yous *et al.*, 2018), les résultats ont été exprimés en µmol H₂O₂/mg protéines/min.

III.2.4 Analyse histologique

III.2.4.1 Etude macroscopique

Les estomacs ont été préalablement mis dans des tubes qui contiennent du Formol 10% qui permet d'arrêter toute activité biologique par la suite, les estomacs sont disposés sur des histocassettes (Figure 11).



Figure 11 : Photographies originales de la préparation des histocassettes.

III.2.4.2 Déshydratation

Les tissus contiennent des quantités importantes d'eau intra et extracellulaire, cette étape permet de faire sortir l'eau par de l'éthanol pour la remplacer par de la paraffine qui va donner une certaine rigidité aux tissus et en utilisant du xylène qui est considéré comme intermédiaire pour faciliter la pénétration de la paraffine.

Cette étape de la technique se fait d'une façon automatique grâce à un appareil appelé Automate de déshydratation (Figure 12), elle dure presque 11 heures.

Cet appareil réalise trois étapes successives :

- Déshydratation.
- Désalcoolisation et éclaircissement.
- Inclusion en paraffine.

Elle se fait en mettant les histocassettes contenant les estomacs dans un panier, ce panier va se déplacer d'un bac à un autre en réalisant :

- Deux bains d'éthanol 70% et chacun dure 45 min.
- Deux bains de xylène et chacun dure 30 min.
- Deux bains de paraffine et chacun dure 1h30.



Figure 12 : Photographie originale de l'Automate de déshydratation.

III.2.4.3 Station d'enrobage

Cette étape consiste à rajouter de la paraffine fondue à 56°C sur les organes d'estomacs qui ont été disposées sur des moules et cela pour donner une forme aux tissus pour pouvoir les faire passer au microtome. Lorsque les moules sont refroidis, on les dispose sous la plaque réfrigérante (Figure 13).



Figure 13 : Photographies originales des différentes étapes de l'enrobage.

III.2.4.4 Microtomie

Le bloc de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à un appareil spécialisé dit microtome permettant d'obtenir les coupes minces de 2 micromètres d'épaisseur, qui sont étalées sur des lames et les mettre dans un bain marie de 69°C (Figure 14).

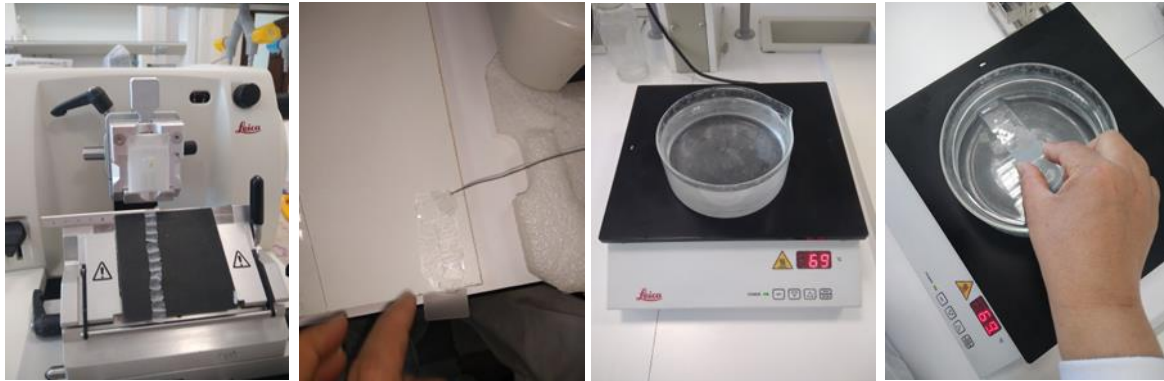


Figure 14 : Photographies originales des étapes de la microtomie.

Après fixation dans de l'eau chaude, le porte lames est mis dans l'étuve à 76°C ou plus afin de les déparaffiner. On procède ensuite à une déshydratation avec du xylène pendant 30min, une déshydratation avec l'éthanol durant 10 min et enfin une réhydratation des cellules pendant 10 min avec de l'eau distillée (Figure 15).

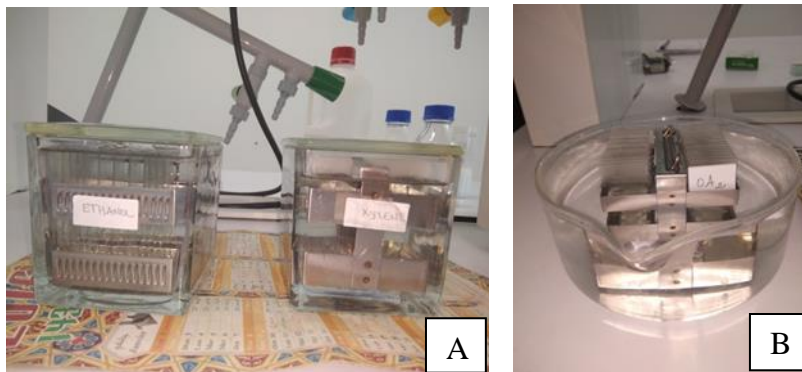


Figure 15 : Photographies originales des étapes de déshydratation (A) et d'hydratation (B).

III.2.4.5 Coloration

Coloration hématoxyline et éosine dite topographique qui permet une vue d'ensemble de la morphologie et de la structure cellulaire d'un tissu. Les lames ont été trempées durant 3 min dans un bac d'éosine pour une coloration de fond ciblant le cytoplasme. Les lames ont été rincées avec de l'eau afin d'éliminer l'excès du colorant puis ont été éclaircies par submersion successive dans les bacs suivants : un bac d'éthanol pure (1 min), un bac d'éthanol et xylène (1 min) et deux bacs de xylène (2min chacun), respectivement (Figure 16).

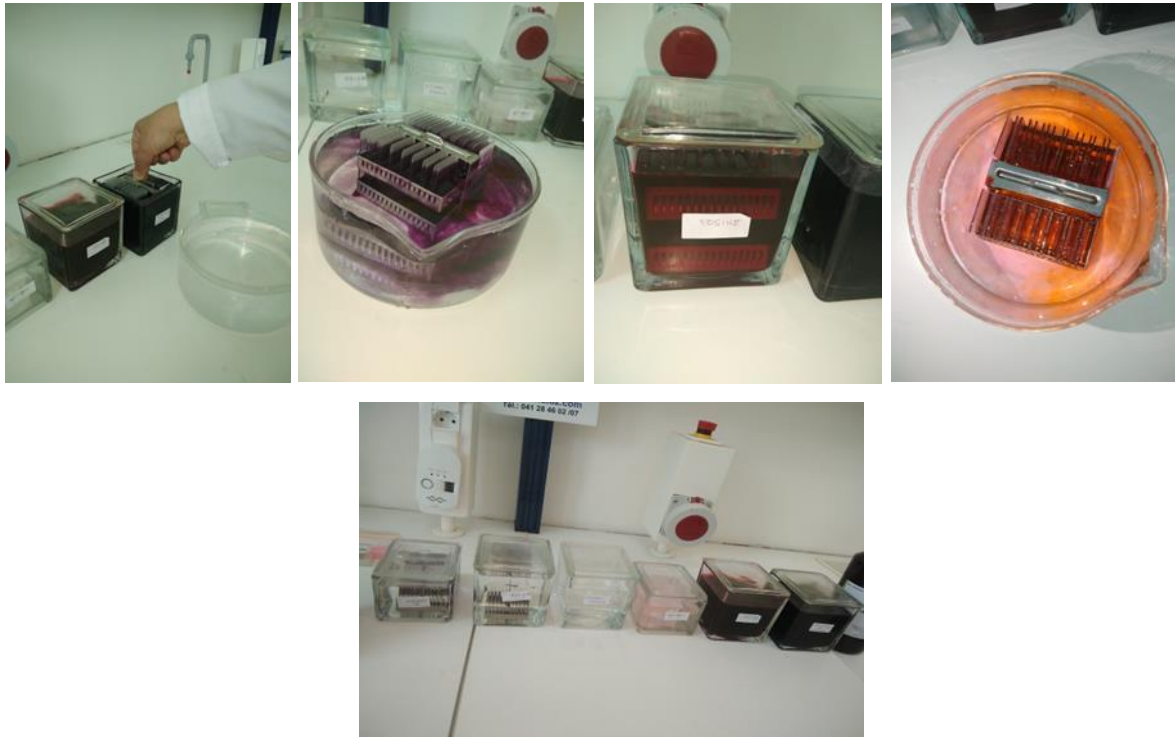


Figure 16 : Photographies originales des étapes de la coloration.

III.2.4.6 Montage

Le montage représente la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture microscopique. Il s'agit de recouvrir l'étalement avec une lamelle en utilisant l'EUKITT (colle biologique) qui a pour rôle de protéger mécaniquement l'étalement et de conserver l'éclat des colorations aussi longtemps que possible (Figure 17).



Figure 17 : Photographies originales de l'étape du montage des lames.

III.2.4.7 Observation des lames

L'observation des lames a été réalisée en utilisant un microscope à fond clair (Figure 18), au principe de la microscopie de base permettant d'observer les lames ayant des structures colorées. Ces dernières ont été photographiées et enregistrées directement à l'aide d'un appareil photos intégré relié à un ordinateur.



Figure 18 : Photographie originale de l'étape de lecture microscopique.

III.2.5 Analyses statistiques

Les résultats de l'ensemble des tests réalisés sont exprimés en moyenne \pm SEM ($n= 6$). Les analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel GraphPad Prism 9.0. Le test Anova univarié (one-way Anova) afin de comparer les valeurs des groupes traités aux valeurs du groupe contrôle négatif, les différences ont été considérées comme significatives ; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative $p > 0,05$ par rapport au contrôle négatif.

Chapitre IV :
Résultats et Discussion

IV. Résultats et Discussion

IV.1 Teneur en polyphénols totaux (PPT) de *Crateagus laciniata*

Les résultats du dosage des polyphénols sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V : Résultats du dosage des polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques des fruits et des feuilles de *C. laciniata*.

	Feuilles	Fruits
Polyphénols (mg EqAG/g d'extrait)	301,75± 10.96	100,44 ± 1.67

Eq AG : *Equivalent acide gallique*.

D'après le tableau V, les feuilles de *C. laciniata* sont plus riches en polyphénols ($301,75 \pm 10.96$ mg EqAG/g d'extrait) par rapport aux fruits ($100,44 \pm 1.67$ mg EqAG/g d'extrait), comparés aux résultats obtenus par Tadic et ses collaborateurs, 2008 qui ont trouvé des résultats en teneur des composés phénoliques totaux moindres de l'ordre $35,4 \pm 2,48$ dans les fruits d'aubépine.

Des études précédentes ont montré que plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénolique : les facteurs géographiques, climatiques, la période de sa récolte, la durée de stockage, la méthode d'extraction par solvant (Nacz et Shahidi, 2014).

IV.2 Evaluation de l'effet gastro protecteur de *C.laciniata*

IV.2.1 Observations macroscopiques

Les observations macroscopiques sous un microscope binoculaire ont montré que les estomacs de souris ayant reçus l'éthanol absolu et le véhicule CMC (Figure 19A) ont montré des ulcérations, des rougeurs par rapport à l'estomac de souris non traitée (Figure 19B).

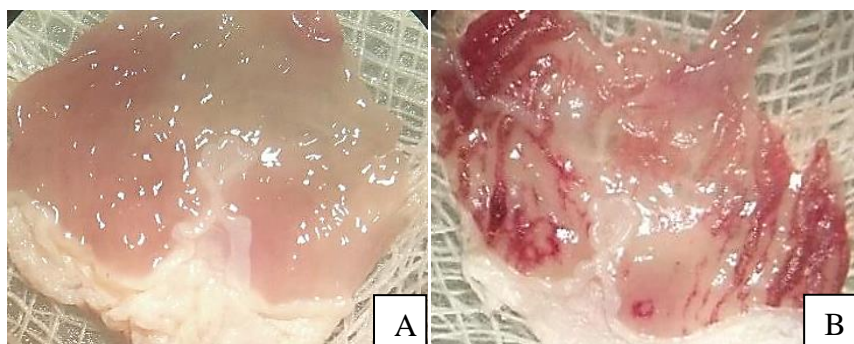


Figure 19 : Photographies originales des estomacs observées sous microscope binoculaire, **A** : Estomac non ulcéré ; **B** : Estomac traité par l'éthanol absolu et le véhicule CMC.

Tandis qu'on note chez les souris prétraitées par le traitement de l'Oméprazole à une dose de 20mg/kg une réduction remarquable des ulcérations induites par l'éthanol absolu (Figure 20).



Figure 20 : Photographie originale d'estomac de souris traitée par l'Oméprazole.

D'autre part, les estomacs des souris traitées respectivement par l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de *C. laciniata* à différentes concentrations 50, 100 et 200mg/kg (Figure 21), une heure avant l'administration de l'agent ulcérogène a réduit les lésions de façon dose-dépendante qui a été significative pour les doses de 100 et 200mg/kg montrant un aspect presque normal comparé à celles des souris traitées par l'éthanol absolu. Par contre, un effet moindre pour la concentration de 50mg/kg a été observé montrant la persistance de foyers d'ulcérations.

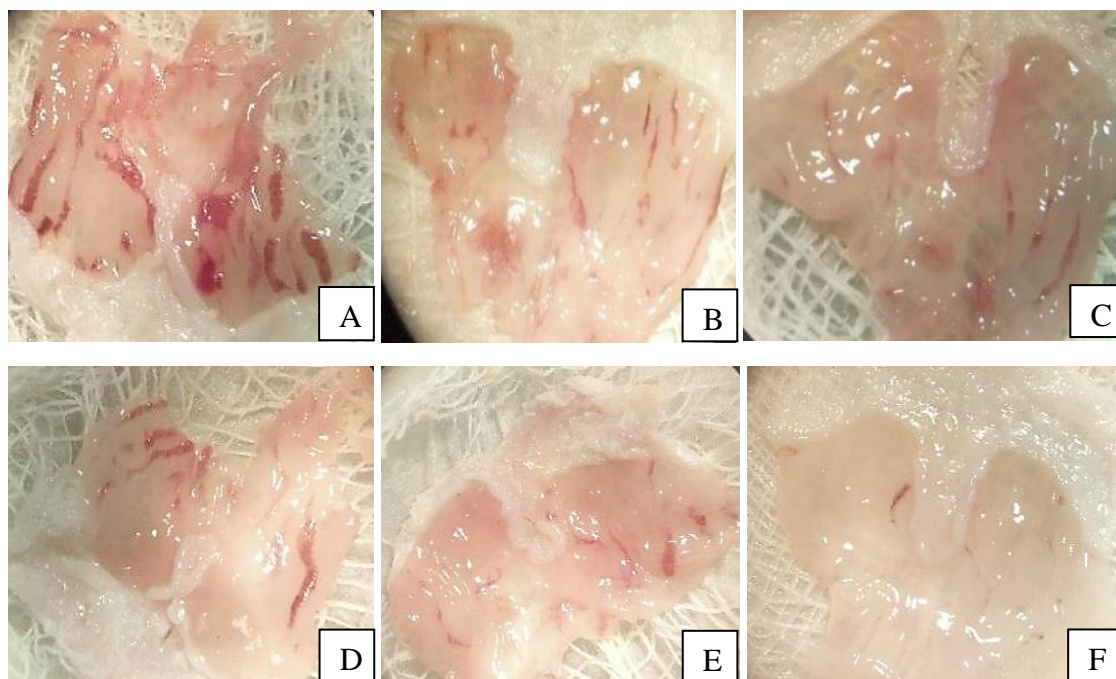


Figure 21 : Photographies originales des estomacs de souris observées sous microscope binoculaire ; **A** : Estomac traité par LCL à 50mg/kg ; **B** : Estomac traité par LCL à 100mg/kg ; **C** : Estomac traité par LCL à 200mg/kg ; **D** : Estomac traité par FCL à 50 mg/kg ; **E** : Estomac traité par FCL à 100 mg/kg ; **F** : Estomac traité par FCL à 200 mg/kg.

➤ Pourcentage d'ulcération

Les pourcentages des lésions ulcéreuses pour les différents groupes de souris sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Estimation du pourcentage de lésions ulcéreuses pour les différents groupes.

Groupes	Doses (mg/kg)	Ulcérations (%)
Contrôle négatif (C-)	-	26,70 ± 1,45
LCL	50	13,66 ± 7,06
	100	19,86 ± 2,84
	200	8,79 ± 3,04**
FCL	50	8,05 ± 1,83****
	100	6,01 ± 1,91****
	200	1,67 ± 0,37****
Contrôle positif (Oméprazole)	20	1,62 ± 0,64***

Les valeurs des indices d'ulcères sont représentées par la moyenne ± SEM pour n=6 ; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au contrôle négatif.

Les groupes de souris ayant été traitées avec l'extrait de fruits aux concentrations 50, 100 et 200 mg/kg (Tableau VI), ont révélé la présence d'une différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) présentant des pourcentages d'ulcération $8,05 \pm 1,83$, $6,01 \pm 1,9$ et $1,68 \pm 0,37\%$ respectivement comparés au groupe contrôle négatif présentant un pourcentage d'ulcération de $26,70 \pm 1,45\%$.

Tandis que le groupe de souris ayant été traitées avec l'extrait de feuilles aux concentrations de 50, 100 mg/kg ont révélé une différence non significative ($p > 0,05$) présentant des pourcentages d'ulcération $13,66 \pm 7,06$, $19,86 \pm 2,84\%$ respectivement. Cependant, le groupe qui a reçu la dose de 200 mg/kg a révélé une différence hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$) avec un pourcentage d'ulcération $8,79 \pm 3,04\%$ comparé au groupe contrôle négatif.

Les souris ayant été traitées avec de l'Oméprazole à la dose de 20mg/kg ont révélé une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) avec un pourcentage d'ulcération de $1,62 \pm 0,64\%$ par rapport au groupe contrôle négatif.

Le calcul des surfaces lésées, relative à la surface totale de l'estomac, a été réalisé à l'aide du logiciel Image J. Ce qui nous a permis de déterminer le pourcentage d'ulcération induit par l'éthanol absolu chez les souris non traitées et qui est de $26,70 \pm 1,45\%$ qui se rapproche des

pourcentages obtenus par Pan et ses collaborateurs, 2005, qui sont de l'ordre de $23,8 \pm 1,4\%$ chez le groupe contrôle négatif.

Le traitement par l'Oméprazole nous a montré un potentiel gastro-protecteur vis-à-vis de l'éthanol, avec un pourcentage d'ulcération de $1,62 \pm 0,64 \%$. Ce résultat est en concordance avec ce qui a été obtenu par Yous et ses collaborateurs en 2018. L'oméprazole est un inhibiteur de la pompe à proton qui présente une protection contre les lésions de la muqueuse à des doses qui n'inhibent pas la sécrétion de mucus (Nordin et al., 2014).

Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique des fruits de *C. laciniata* présentent une meilleure protection gastrique par rapport l'extrait éthanolique des feuilles, en effet les fruits présentent des pourcentages d'ulcération d'ordre de $8,05 \pm 1,83$, $6,01 \pm 1,91$ et $1,67 \pm 0,37\%$ pour les doses 50, 100, 200mg/kg avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) respectivement, et qui sont inférieurs aux résultats obtenus par l'extrait des feuilles présentant des pourcentages d'ulcération d'ordre de $13,66 \pm 7,06$, $19,86 \pm 2,84$ et $8,79 \pm 3,04\%$ pour les mêmes doses 50, 100, 200mg/kg avec des différences non significatives ($p > 0,05$) et hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$) respectivement.

Les résultats révèlent que l'Oméprazole présente une plus haute protection gastrique en comparaison avec les feuilles et les fruits, avec un pourcentage d'ulcération de $1,62 \pm 0,64\%$ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$). Néanmoins, les fruits à la concentration de 200 mg/kg démontre une protection similaire à celle du médicament qui est de l'ordre de $1,67 \pm 0,37\%$ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$).

Les résultats de l'étude ont démontré que l'extrait éthanolique des feuilles et les fruits de *C. laciniata* offrent une meilleure protection gastrique à la dose de 200 mg/kg pour les feuilles, ainsi qu'à des doses de 100 et 200 mg/kg pour les fruits. Les pourcentages d'ulcérations respectifs étaient de $8,79 \pm 3,04$, $6,01 \pm 1,91$ et $1,67 \pm 0,37\%$. Les résultats obtenus pour notre plante sont en concordance avec ceux de Yous et ses collaborateurs, 2018 sur l'effet gastro protecteur de *Clematis flammula* qui a obtenu des résultats de l'ordre de $19,58 \pm 3,92$, $11,18 \pm 1,92$ et $11,33 \pm 1,82\%$ respectivement pour les mêmes concentrations. Il convient de noter que la dose de 100 mg/kg des feuilles a montré un effet moins prononcé dans cette étude.

L'éthanol provoque des lésions nécrotiques de la muqueuse gastrique de manière multiforme par une action nécosante directe, qui à son tour réduit les facteurs de défense (Golbabapour et al., 2013). En effet, il existe plusieurs mécanismes de protection de la muqueuse gastrique, tels que la production de prostaglandines, l'oxyde nitrique, d'enzymes antioxydantes et de

systèmes antioxydants non enzymatiques, la barrière mucus-bicarbonate et autres (Minozzo et al., 2016).

Les lésions de la muqueuse gastrique induite par l'éthanol sont multifactorielles. L'un des principaux facteurs est sa pénétration rapide dans la muqueuse gastrique, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité de la muqueuse et la libération des facteurs vasoactifs, qui provoquent des lésions vasculaires et des lésions gastriques (Narayan et al., 2004).

IV.2.2 Activités enzymatiques

IV.2.2.1 Activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)

Les résultats de l'effet de l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de *C. laciniata* sur l'activité de la SOD sont représentés dans les figures ci-dessous :

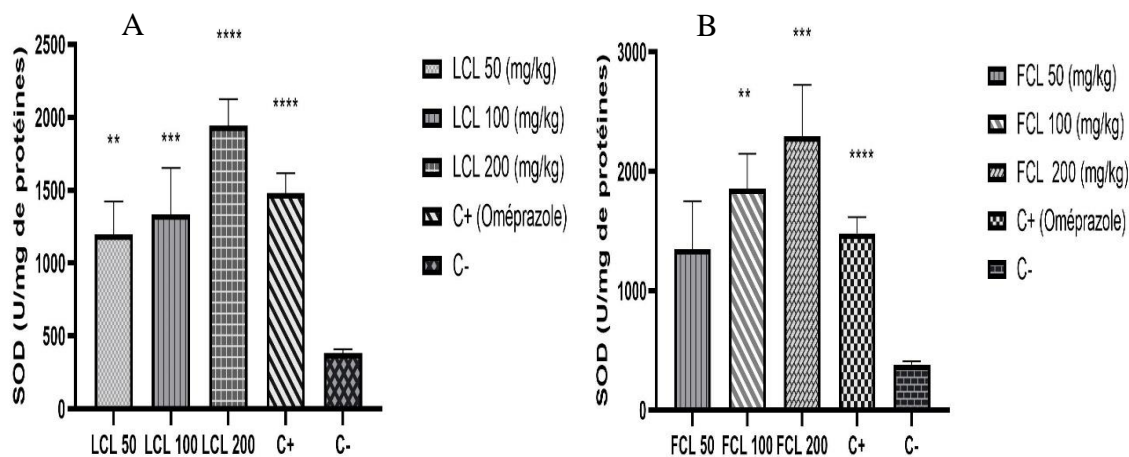


Figure 22 : Effet de l'extrait éthanolique des feuilles (A) et fruits (B) de *C. laciniata* sur l'activité de la SOD. Les valeurs des indices d'ulcères sont représentées par la moyenne \pm SEM pour $n=6$; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au contrôle négatif.

Le groupe de souris traitées avec de l'éthanol absolu présente une diminution de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase de $382,45 \pm 2,79$ U/mg de protéines. En comparaison, les groupes de souris ayant reçu l'extrait de fruits à différentes concentrations révèlent des résultats significativement différents. Le groupe ayant reçu une dose de 50 mg/kg présente une activité enzymatique de $1349,38 \pm 401,12$ U/mg de protéines, qui ne montre aucune différence significative ($p > 0,05$). En revanche, les groupes ayant reçu des doses de 100 et 200 mg/kg révèlent respectivement des différences hautement ($0,01 \geq p > 0,001$) significative et très hautement significative ($p \leq 0,001$) avec des activités enzymatiques de $1855,64 \pm 293,76$ et $2294,14 \pm 431,79$ U/mg de protéines.

Tandis que les groupes de souris qui ont reçu l'extrait de feuilles à la dose de 200mg/kg montrent une différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) avec une activité enzymatique de $1942,15 \pm 183,745$ U/mg de protéines, quant aux groupes ayant reçus les doses 50 et 100 mg/kg indiquent une différence hautement significative ($0,05 \geq p > 0,01$) et très hautement significative ($p \leq 0,001$) respectivement avec des activités enzymatiques de $1194,21 \pm 229,65$ et de $1334,30 \pm 31,92$ U/mg de protéines en comparaison avec le groupe contrôle négatif qui démontre une activité enzymatique de $382,45 \pm 2,79$ U/mg de protéines.

Les souris ayant été soumises au traitement de l'Oméprazole 20mg/kg ont révélé une différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) avec une activité enzymatique de $1480,82 \pm 137,63$ U/mg de protéines.

Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique des fruits et feuilles de *C. laciniata* à la concentration de 200 mg/kg montrent un meilleur maintien de l'activité de la SOD avec des différences très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et très hautement significative ($p \leq 0,001$) respectivement d'une valeur de $2294,14 \pm 431,79$ et $1942,15 \pm 183,74$ U/mg de protéines par rapport à celle du médicament qui est de $1480,82 \pm 137,63$ U/mg de protéines.

L'extrait éthanolique des feuilles de *C. laciniata* aux concentrations de 50, 100 et 200 mg/kg avec des différences hautement significative ($0,05 \geq p > 0,01$), très hautement significative ($p \leq 0,001$) et très hautement significative ($p \leq 0,0001$) respectivement avec des valeurs de $1194,21 \pm 229,65$, $1334,30 \pm 31,92$ et $1942,15 \pm 183,745$ U/mg de protéines montrent un meilleur maintien de l'activité de la SOD par rapport à l'extrait des fruits aux mêmes concentrations qui montrent des différences non significative ($p > 0,05$), hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$) et très hautement significative ($p \leq 0,001$) respectivement avec des valeurs de $1349,38 \pm 401,12$, $1855,64 \pm 293,76$ et $2294,14 \pm 431,79$ U/mg de protéines.

L'étude menée par Santos et ses collaborateurs, 2023, suivant le même protocole sur l'effet gastroprotecteur d'*Egletes viscosa* contient des huiles essentielles agissent contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol absolu chez les souris a révélé que l'activité de la SOD chez le contrôle négatif est de $0,03 \pm 0,002$ U/mg de protéine, tandis que chez les souris traitées par l'extrait à 100mg/kg a donné une valeur de $0,088 \pm 0,012$ U/mg de protéines.

IV.2.2.2 Activité de la Catalase (CAT)

Les résultats de l'effet de l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de *C. laciniata* sur l'activité de la CAT sont représentés dans les figures ci-dessous

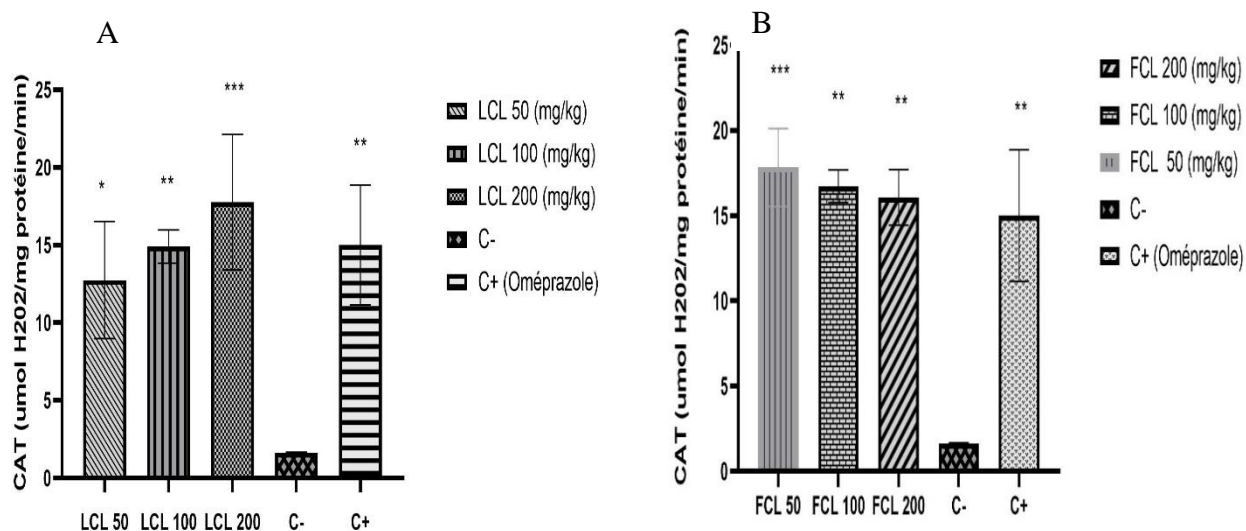


Figure 23 : Effet de l'extrait éthanolique des feuilles (A) et fruits (B) de *C. laciniata* sur l'activité de la CAT. Les valeurs des indices d'ulcères sont représentées par la moyenne \pm SEM pour $n=6$; *différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$), ** différences hautement significatives ($0,01 \geq p > 0,001$), *** différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), **** différence très hautement significative ($p \leq 0,0001$) et une différence non significative ($p > 0,05$) par rapport au contrôle négatif.

Le groupe de souris traitées avec de l'éthanol absolu présente une diminution de l'activité enzymatique de la catalase de $1,62 \pm 0,06$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$, Le groupe ayant reçu l'extrait de fruit de 50 mg/kg présente une activité enzymatique de $17,82 \pm 2,28$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$, avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$). En revanche, les groupes ayant reçu des doses de 100 et 200 mg/kg montrent une différence hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$), avec des activités enzymatiques de $16,72 \pm 0,95$ et $16,07 \pm 1,62$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$, respectivement.

Alors que les groupes de souris qui ont reçu l'extrait de feuilles à la dose de 200mg/kg montrent une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) avec une activité enzymatique de $17,76 \pm 4,36$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$, quant aux groupes ayant reçus les doses 50 et 100 mg/kg indiquent respectivement, des différences significative ($0,05 \geq p > 0,01$) et hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$) avec des activités enzymatiques de $12,75 \pm 3,77$ et $14,90 \pm 1,07$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$, comparés avec le groupe contrôle négatif.

En ce qui concerne les souris ayant été soumises au traitement à l'Oméprazole à la dose 20mg/kg ont révélé une différence hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$) avec une activité enzymatique de $15,01 \pm 3,86$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$.

Les feuilles à 50mg/kg et fruits à 200 mg/kg de *C. laciniata* a présenté un meilleur maintien de l'activité de la CAT en comparaison avec celle du médicament.

L'extrait éthanolique des fruits à la dose de 50 mg/kg avec une valeur de $17,82 \pm 2,28$ d'une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) montre un meilleur maintien de l'activité de la CAT par rapport à celle des feuilles d'une valeur de $12,75 \pm 3,77$ avec une différence significative ($0,05 \geq p > 0,01$). Quant à la dose de 100 mg/kg montre un résultat presque similaire pour les feuilles et fruits avec des valeurs respectives de $14,90 \pm 1,07$ et $16,72 \pm 0,95$ avec une différence hautement significative ($0,01 \geq p > 0,001$).

L'étude menée par Santos et ses collaborateurs, 2023, suivant le même protocole sur l'effet gastroprotecteur du d'*Egletes viscosa* qui contient des huiles essentielles agissent contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol absolu chez les souris a révélé que l'activité de la CAT chez le véhicule est de $24.23 \pm 3.5 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$ respectivement, tandis que chez les souris traitées par l'extrait à 100mg/kg a donné une valeur respective $79.010 \pm 10.510 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$ et cette activité a été mesurée selon le protocole de **(Beauchamp et Fridovich, 1971)**.

L'extrait éthanolique des feuilles et fruits de *C. laciniata* a inhibé la diminution de l'activité de la SOD et la CAT pour les doses 50, 100, 200mg/kg, ceci peut être expliqué par la présence d'un effet anti-oxydant. L'étude menée par **(Tadic et al., 2008)** sur le genre *Crateagus* a démontré que les flavonoïdes tels que l'hyperoside et l'isoquercitrine présentent une capacité de piégeage des radicaux libres, impliquant leur potentiel antioxydant.

Dans ce cas pathologique, la réduction de sécrétion de mucus induit l'activation des enzymes génératrices des ERO tels que : nitrique oxyde synthase (NOS), la xanthine oxydase (XO), myolepyroxidase (MPO), créant ainsi un stress oxydatif **(Banergee et al., 2013)**.

Pour faire face à cette situation, le corps humain dispose d'un système antioxydant exogène (vitamine E et C, les flavonoïdes) et endogène, ce dernier est représenté par des enzymes à savoir, la superoxyde dismutase (SOD), et la catalase (CAT) **(Abdulla et al., 2010)**.

La superoxyde dismutase (SOD) et la catalase sont des enzymes connues dans les systèmes de défenses antioxydants de l'organisme, protégeant les cellules contre des attaques radicalaires. La catalase permet la dismutation du peroxyde d'hydrogène et la SOD est une oxydoréductase inactive l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot -}$) en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) **(Gao et al., 1998)**.

L'éthanol est un agent nécrosant bien connu qui détruit la barrière muqueuse, augmente la perméabilité vasculaire et diminue l'activité SOD et CAT de la muqueuse gastrique **(Al-**

Batran et al., 2013), dans notre étude il a induit une diminution de l'activité de la SOD et la CAT de l'ordre de $382,45 \pm 2,79$; $1,62 \pm 0,05$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$ respectivement.

Les composés phénoliques dont les flavonoïdes sont de puissants piègeurs de radicaux libres, leurs capacité antioxydants est principalement attribuée à leurs propriétés oxydo-réductrice car, en réagissant avec ces molécules, ils s'oxydent à leur tour en radicaux moins réactifs plus stables (**Panda et Khambat, 2014**).

Les résultats ont montré que la dose de 50 mg/kg d'extrait éthanolique de fruits de *C. laciniata* a entraîné une meilleure préservation de l'activité de la SOD par rapport aux doses de 100 mg/kg et 200 mg/kg. Cette différence d'efficacité pourrait être attribuée à des facteurs tels que l'encombrement stérique. L'encombrement stérique se réfère à la présence d'atomes ou de groupes d'atomes qui occupent de l'espace dans une molécule, ce qui peut affecter la façon dont cette molécule interagit avec d'autres substances. En plus de l'encombrement stérique, l'effet observé de l'extrait de fruits de *C. laciniata* à différentes doses peut également être attribué à la compétitivité des molécules présentes dans l'extrait envers l'enzyme, dans ce cas, la superoxyde dismutase (SOD).

IV.2.3 Observations microscopiques des lésions gastriques

Dans le but de confirmer les résultats obtenus au cours de l'observation macroscopique des lésions gastriques, une étude histologique a été réalisée sur les estomacs prélevés, qui a permis de mieux évaluer l'activité gastro-protectrice de l'extrait éthanolique des feuilles et fruits de *C. laciniata* et de l'Oméprazole. Les résultats des analyses histologiques de la muqueuse gastrique des différents groupes de souris, observées au microscope optique reliée à une caméra sont présentés dans la Figure 24.

Le groupe de souris non traitées (Figure 24A) présente une organisation architecturale des couches histologiques normales : la muqueuse, sous muqueuse, musculuse et la séreuse, qui représente un aspect sain.

Chez le groupe traité par l'éthanol absolu (Figure 24B), les coupes histologiques révèlent une désorganisation de l'architecture de la muqueuse de l'estomac désignée principalement par : une desquamation et un effilochage de la muqueuse, des ulcères, une perte des cellules épithéliales, une infiltration des neutrophiles, des œdèmes ainsi que l'infiltration du mucus gastrique à l'intérieur de la muqueuse.

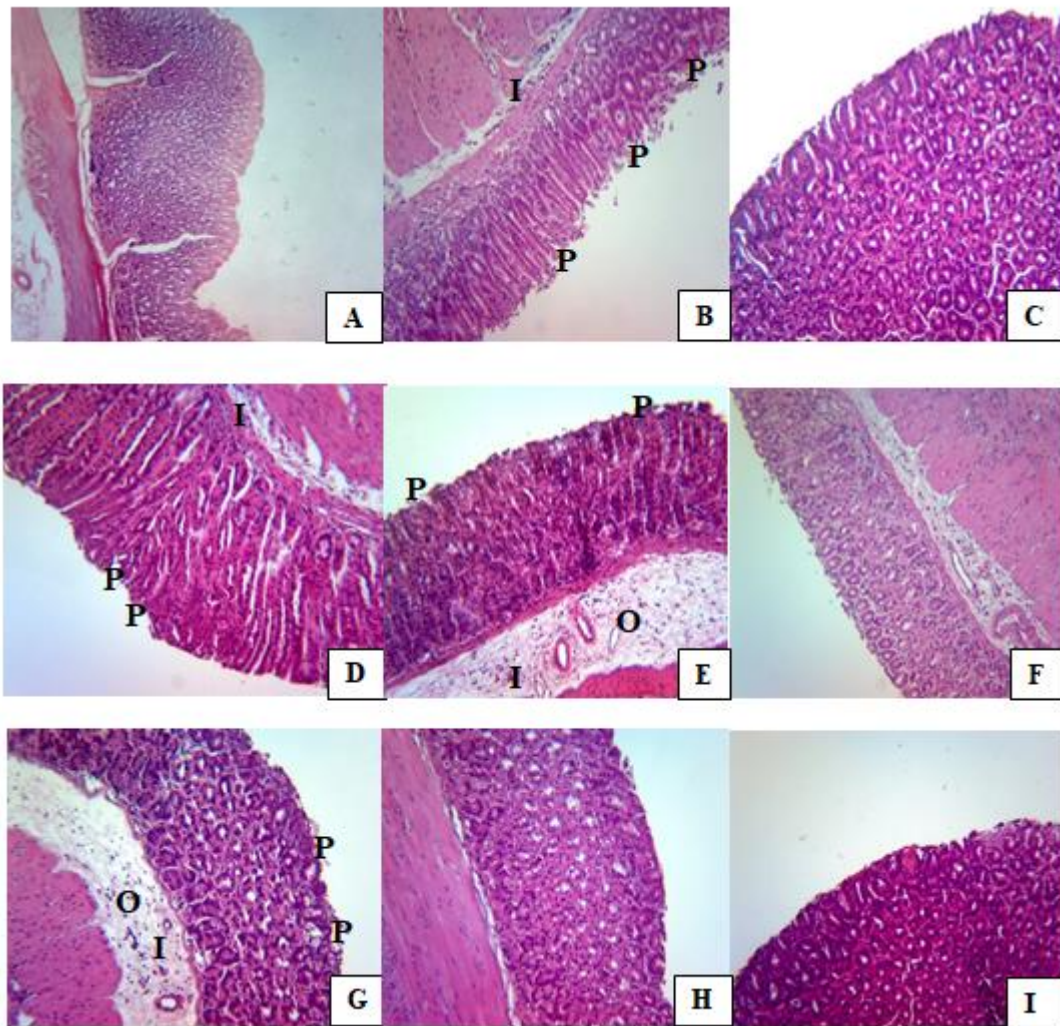


Figure 24 : Photographies originales des coupes histologiques des estomacs de groupes de souris ; **A** : Estomac non traitée ; **B** : Estomac traité avec l'éthanol ; **C** : Estomac traité avec l'oméprazole ; **D** : Estomac traité par LCL à 50mg/kg ; **E** : Estomac traité par LCL à 100mg/kg ; **F** : Estomac traité par LCL à 200mg/kg ; **G** : Estomac traité par FCL à 50 mg/kg ; **H** : Estomac traité par FCL à 100 mg/kg ; **I** : Estomac traité par FCL à 200 mg/kg observées sous microscope optique . (G : x 10), réalisées à 2 μ m. **P** : Perte des cellules épithéliales ; **O** : Cédème ; **I** : Infiltration des neutrophiles.

Ces résultats sont en accord avec ceux de (Mary et al., 2015) qui montrent que l'éthanol absolu provoque un fort endommagement de la muqueuse gastrique, entraînant une augmentation de l'infiltration des neutrophiles. Les radicaux libres d'oxygène dérivés de neutrophiles infiltrés dans des tissus gastriques ulcérés inhibent la guérison des ulcères. Les neutrophiles se substituent à la peroxydation lipidique par la production d'anions superoxyde (Kobayashi et al., 2001), ils constituent une source majeure de médiateurs inflammatoires et peuvent libérer des EROs puissants tels que le peroxyde d'hydrogène, les oxydes de peroxyde et les oxydants dérivés de la myéloperoxydase. Ces EROs sont hautement cytotoxiques et peuvent produire des dommages aux tissus (Cheng et al., 2005 et Swarnakar et al., 2005).

Le groupe qui a été soumis au traitement de l'Oméprazole 20mg/kg (Figure 24C) présente de légers dommages à l'épithélium superficiel de la muqueuse en comparaison avec les dommages causés par l'éthanol.

Les estomacs des groupes de souris ayant reçus les doses de fruits et feuilles à 50 mg/kg (figure 24D et 24G) respectivement montrent une perte des cellules épithéliales, une infiltration des neutrophiles, un œdème concernant l'estomac de groupe de souris traité avec l'extrait éthanolique des fruits.

Les tissus des muqueuses prétraitées par l'extrait éthanolique de feuilles à la dose de 100 mg/kg (Figure 24 E) indiquent un épithélium muqueux endommagé, une infiltration des cellules inflammatoires ainsi qu'un œdème étendu.

Tandis que les muqueuses des estomacs des groupes de souris ayant reçus les doses de 200mg/kg d'extrait éthanolique de feuille (Figure 24F) et de 100 et 200mg/kg d'extrait éthanolique de fruit (Figure 24H et 24I) montrent une structure intacte de la muqueuse similaire à la muqueuse des estomacs des groupes non traités avec une absence de l'infiltration de neutrophiles, en effet la suppression de l'infiltration de neutrophiles au cours de l'inflammation a été révélée pour améliorer la guérison des ulcères gastriques. Al Rashidi et ses collaborateurs, 2012 ont montré que l'infiltration des neutrophiles est impliquée dans les processus initiateurs de la formation des lésions.

Les résultats histologiques sont en accord avec les résultats obtenus dans les précédents testes réalisées dans la présente étude (SOD et CAT), l'administration de l'éthanol absolu a fait baissé les activités des enzymes anti-oxydantes. Par contre les extraits éthanoliques des feuilles à la dose de 200mg/kg et des fruits à la dose de 100 et 200mg/kg exercent un effet gastroprotecteur dont lequel on observe le maintien de l'intégrité de la muqueuse et l'absence ou la diminution de l'infiltration leucocytaire.

Conclusion

Conclusion

Cette étude vise à explorer les propriétés gastroprotectrices des extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *Crateagus laciniata*, une plante appartenant à la famille des rosacées et fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle en raison de ses effets bénéfiques antioxydants, anti-inflammatoires et antiulcéreux.

L'objectif principal était d'évaluer l'efficacité de ces extraits pour prévenir les ulcères gastriques aigus induits par l'éthanol absolu chez des souris. Dans cette étude, les souris ont été traitées par voie orale soit avec de l'oméprazole (20 mg/kg), un médicament couramment utilisé pour traiter les ulcères gastriques, soit avec les extraits éthanoliques des fruits et des feuilles à des doses de 50, 100 et 200 mg/kg. Différentes mesures ont été effectuées pour évaluer l'efficacité des traitements, notamment la surface des lésions gastriques, les niveaux de superoxyde dismutase (SOD) et de catalase (CAT), deux enzymes impliquées dans la protection contre les dommages oxydatifs, ainsi que des analyses microscopiques pour observer les lésions histologiques.

Les résultats ont révélé une différence extrêmement significative dans l'activité enzymatique de la SOD à la dose de 200 mg/kg des extraits, indiquant une amélioration notable de la capacité antioxydante. De plus, l'activité enzymatique de la catalase a été fortement augmenté à la dose de 50 mg/kg pour l'extrait de feuille et à la dose de 200 mg/kg pour l'extrait de fruit par rapport au groupe témoin traité à l'éthanol. Ces observations suggèrent que les extraits de *C.laciniata* peuvent renforcer la capacité de l'organisme à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène, contribuant ainsi à réduire les dommages oxydatifs causés par les ulcères gastriques.

Les évaluations macroscopiques ont montré que la dose de 200 mg/kg des extraits de fruits était la plus efficace, avec un pourcentage d'ulcération comparable à celui de l'oméprazole. Par ailleurs, les observations microscopiques ont révélé une architecture préservée de la muqueuse gastrique chez les souris traitées avec les extraits de fruits à des doses de 100 et 200 mg/kg, présentant ainsi une apparence similaire au groupe traité avec de l'oméprazole, sans effilochage ni œdème.

En conclusion, cette étude confirme l'effet gastroprotecteur de *C. laciniata*, étayant ainsi l'utilisation traditionnelle de cette plante en médecine traditionnelle. Les résultats suggèrent que les extraits éthanoliques des fruits de *C. laciniata*, notamment à la dose de 200 mg/kg, pourraient représenter une thérapie prometteuse pour le traitement des ulcères gastriques.

Des études complémentaires pourront être réalisées dans le but :

- Mesurer d'autres paramètres enzymatiques MPO, MDA, GSH, etc.
- D'isoler, caractériser et identifier les composés actifs présents dans les extraits qui sont responsables de l'effet gastro protecteur.

- Elucider les mécanismes d'action précis des composés bioactifs contre l'ulcère gastrique.
- Il serait nécessaire de poursuivre et d'approfondir les études de recherches dans le cadre d'une application pharmacologique de *C. laciniata* dans l'espoir d'obtenir un principe actif efficace dans les soins prodigués, et de s'assurer de son innocuité.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Ajeigbe K., Onifade A., Omotoso D., Enitan S. et Olaleye S. Anti ulcerogenic activity of *Aspilia africana* leaf extract : roles of gastric acid, oxidative stress and neutrophil infiltration. *Afr. J. Biomed. Res* ; 2014, 17 : 193–201.

Al Rashidi A.S., Salama S.M., Alkiyumi S.S., Abdulla M.A., Hadi A.H.A. et Abdelwahab S.I. Mechanisms of gastroprotective effects of ethanolic leaf extract of *Jasminumsambac* against HCl/ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *E B C A M* ; 2012.

Andrade-Cetto A. et Heinrich M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol* ; 2005, 99 : 325-348.

B

Bachiri L., Daoudi A., Labazi N., Ibijbijen J. et Nassiri L. Étude floristique du val d'Ifrane « Bassin versant du Oued Tizguit ». *Journal of animal & plant sciences* ; 2015, 26(1) : 3977-4006.

Bandyopadhyay D. et Chattopadhyay A. Reactive oxygen species-induced gastric ulceration: protection by melatonin. *Curr Med Chem*; 2006, 13(10) : 1187–202.

Batista L.M., Lima G.R.D.M., De Almeida A.B.A., Magri L.D.P., Calvo T.R., Ferreira A.L. et Brito A.R.M.S. Ulcer healing and mechanism (s) of action involved in the gastroprotective activity of fractions obtained from *Syngonanthus arthrotrichus* and *Syngonanthus bisulcatus*. *BMC complementary and alternative medicine* ; 2015, 15(1), 1.

Beaugerie L. et Harry S. Les fondamentaux de la pathologie digestive. *Edition Elsevier-mason* ; 2014 : 29.

Beaulieu Pierre, Vincent Pichette, Desroches et Patrick du Souich. Précis de pharmacologie : Du fondamental à la clinique 2eme édition, Edition les presses de l'université de Montréal ; 2015 : 608.

Beiranvand M. A review of the most common in vivo models of stomach ulcers and natural and synthetic anti-ulcer compounds: A comparative systematic study. *Phytomedicine Plus*; 2022, 2(2) : 100264.

Beserra A.M.S.S., Calegari P.I., Souza M.C., Santos R.A.N., Lima J.C.S., Silva R.M., Balogun S.O et Martin D.T.O. Gastroprotective and ulcer-healing mechanisms of ellagic acid in experimental rats. *J. Agric. Food Chem* ; 2011, 59 : 6957–6965.

Bellakhdar J. La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Edition Ibis Press* ; 1997 : 759-760.

Boligon A.A., Freitas R.B., Brum T.F., Waczuk E.P., Klimaczewski C.V., de Ávila D.S., Athayde M.L. et Bauermann L.F. Antiulcerogenic activity of *Scutiabuxifolia* on gastric ulcers induced by ethanol in rats. *Acta Pharmaceutica Sinica B* ; 2014, 4 : 358-367.

Blesken R. Crataegus in cardiology. *Fortschr Med.* 1995; 15 : 290-292.

Boizot N. et Charpentier J.P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques ; 2006 : 79-83.

C

Cheng H.C, Kao A.W., Chuang C.H. et Sheu B.S. The efficacy of high-and low-dose intravenous omeprazole in preventing rebleeding for patients with bleeding peptic ulcers and comorbid illnesses. *Dig Dis Sci*; 2005, 50(7) : 1194–201.

Comhair S.A., Bhathena P.R., Farver C., Thunnissen F.B., et Erzurum S.C. Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *FASEB J*; 2001, 15 : 70–78.

D

Dorweiler B., Pruefer D., Andradi T.B., Maksan S.M., Schmiedt W., Neufang A. et Vahl, C.F. Ischemia-Reperfusion Injury: Pathophysiology and Clinical Implications. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg* ; 2007, 33 : 600–612.

G

Ghader Jalilzadeh-Amin., Najarnezhad V., Anassori E., Mostafavi M. et Keshipour H. Antiulcer properties of *Glycyrrhiza glabra* L. Extract on experimental models of gastric ulcer in mice. *Iran. J. Pharm* ; 2015, 14 : 1163–1170.

Girre L. Les plantes médicinales. Ouest-France (Ed). Rennes 2000 : 30.

Golbabapour S., Hajrezaie M., Hassandarvish P., AbdulMajid N., A. Hamid A.H., Nordin N. et Abdulla M.A. Acute Toxicity and Gastroprotective Role of *M. pruriens* in Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injuries in Rats. *BioMed Research International*; 2013.

H

Hammoudi Si Salah. Anatomie de l'appareil digestif. Edition HS ; 2010 : 34.

Haniadka R., Saldanha E., Sunita V., Palatty P.L., Fayad R., Baliga M.S. A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) *Food Funct* ; 2013; 4:845–855.

K

Kashyap C.P., Arya V. et Thakur N. Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus oxyacantha*. *Pacific journal of tropical biomedicine* ; 2012 ; 2(2): 1194-1199.

Kierszenbaum Abraham. Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. Edition de Boeck supérieur ; 2006 : 412-414.

Kobayashi T., Ohta Y., Yoshino J. et Nakazawa S. Teprenone promotes the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcers in rats by inhibiting neutrophil infiltration and lipid peroxidation in ulcerated gastric tissues. *Pharmacol Res*; 2001, 43(1): 23–30.

Kumar D., Arya V., Ali Bhat Z., Ahmad Khan N. et Nandan Prasad D. The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian. Journal of Pharmacognosy*; 2012, 22(5): 1187-1200.

Kuna L., Jakab J., Smolic R., Raguz-Lucic N., Vcev A. et Smolic M. Peptic ulcer disease: a brief review of conventional therapy and herbal treatment options. *J Clin Med*; 2019, 8 : 179.

L

Lakshmi Srinivas T., Mohana Lakshmi S., Neelufar Shama S., Koteswara Reddy G. et Prasanna K.R. Medicinal Plants as Anti-Ulcer Agents. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* ; 2013, 2 (4): 91-97.

Li, W., Hao D., Fan T., Huang H. et Yao H. et Niu X. Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Chemico-Biological Interactions* ; 2014, 208 : 18–27.

Liu P., Yang B. et Kallio H. "Phenolic Compounds in hawthorn (*Crataegus grayana*) fruits and leaves and changes during fruit ripening". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 201, 59 (20): 11141–11149.

Long S.R., Carey R.A., Crofoot K.M., Proteau P.J. et Filtz TM. Effect of hawthorn (*Crataegus oxycantha*) crude extract and chromatographic fractions on multiple activities in a cultured cardiomyocyte assay. *Phytomedicine* ; 2006, 13 : 643-650.

Lowe James Steven et Alan Stevens. Histologie humaine, Edition de Boeck ; 1997 : 150.

M

Marieb E. et Katja H. Anatomie et physiologie humaines 11eme édition, Edition Pearson ; 2015 : 1020.

Mary S.J. et Merina A.J. Gastroprotective Effect of *Guttarda speciosa* against Ethanol Induced Gastric Ulcer in Rats. *Med Arom Plants* ; 2015, 5: 224.

Mas Alexandra. Étude observationnelle des prescriptions des IPP chez les personnes de 65 ans et plus en officine. *Sciences du Vivant [q-bio]* ; 2022, dumas-03578138.

Mezdour S. et Hanfer M.A. Oxidative stress and its relationship with the emergence of various stomach damages. *Batna J Med Sci* ; 2017, 4 : 145-148.

Minozzo B.R. Anti-ulcer mechanisms of polyphenol extract of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology* ; 2016 : 29–40.

Murtaza M., Menon J., Muniandy R.K, et al. Gastric cancer: Risk factors, diagnosis and management. *IOSR-JDMS* ; 2017, 16(03) : 69-74.

N

Najm Wadie. Peptic Ulcer Disease. Primary Care: Clinics in Office Practice; 2011, 38:383-394.

Narayan S., Devi R.S., Jainu M., Sabitha K.E et Devi C.S.S. Protective effect of polyherbal drug, ambrex in ethanol-induced gastric mucosal lesion in experimental rats. *Indian J Pharmacol* ; 2004, 36:34-37.

Nazhand A. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An Updated Overview on. *Forests* ; 2020 :2-4.

Nordin N., Salama S.M et Golbabapour S. Anti-ulcerogenic effect of methanolic extracts from *Enicosanthellum pulchrum* (King) Heusden against ethanol-induced acute gastric lesion in animal models. *Journal Plos On* ; 2014, 9(11) : e111925.

O

Olbe L., Carlsson E. et Lindberg P. A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. *Nat Rev Drug Discov* ; 2003, 2(2) : 132–9.

Orhan I, Ozcelik B, Kartal M, Ozdeveci B, et Duman H. HPLC Quantification of vitexine-2-*O*-rhamnoside and hyperoside in three *Crataegus* species and their antimicrobial and antiviral activities ; 2007 , 66: S153-S157.

P

Pan L.R., Tang Q., Fu Q., Hu B.R., Xiang J.Z. et Qian J.Q. Roles of nitric oxide in protective effect of berberine in ethanol-induced gastric ulcer mice. *Acta pharmacologica sinica* ; 2005, 26 (11) :1334–1338.

Panda P. et Khambat P. Evaluation of antiacid activity of garcinia indica fruit rind by a modified artificial stomach model. *Bulletin of Environment Pharmacology and life Sciences* ; 2012, 2(7) : 38-42.

Paré P.E.A., Sgaffer A.B.R., Thomson D.M. et Boivin M. Principes fondamentaux de gastro-entérologie. Edition JANSSEN-ORTHO ; 2005:180.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. et Defraigne J.O. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* ; 2002, 16: 233–239.

R

Ramsay P.T. et Carr A. Gastric acid and digestive physiology. *Surgical Clinics* ; 2011 , 91(05) : 977-982.

S

Sai Krishna Borra., Lagisetty R.K. et Mallel G.R. Antiulcer effect of Aloe vera on nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced peptic ulcers in rats. *Afr J Pharm Pharmacol* ; 2011, 5 : 1867–1871.

Sherwood Lauralee. Physiologie humaine. Edition de Boeck supérieur ; 2006 : 453-454.

Silbernagl S. et Lang F. Atlas de poche de physiopathologie. Lavoisier Médecine édition. Paris ; 2012.

Soybel M.D et David I. Anatomy and physiology of the stomach. *Surgical Clinics Of North America*; 2005 , 85 : 875-894.

Stypinski P.T. Biology and ecology of European mistletoe (*Viscum album*, Viscaceae) .*Fragmenta floristica et geobotanicaseries polonica ,supplementum*; 1997 : 1-117.

Swarnakar S., Ganguly K., Kundu P., Banerjee A., Maity. et Sharma A.V. Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention andhealing of indomethacin-induced gastric ulcer. *J Biol Chem* ; 2005 , 280(10): 9409–15.

T

Tadic V.M., Dobric S., Markovic G.M, Sofija M. et Tanja S. Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radicalscavenging and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *J Agr Food Chem* ; 2008 , 6 : 7700-7709.

Testerman T.L. et Morris J. Beyond the stomach: an updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. *World J Gastroenterol* ; 2014 , 20 : 12781–12808.

U

Urbonaviciute A., Jakstas V., Kornygova O., Janulis V. et Maruska A. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styledhawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. *Journal of Chromatography* ; 2006 , 1112 : 339–344.

Y

Yous F., Atmani-Kilani D., Debbache-Benaida N., Cherift N., Sebaihi S., Saidene N., Benloukil M. et Atmani D. Activité anti-ulcérogène et inhibitrice de la pompe à proton (H⁺, K⁺ ATPase) de l'extrait de *climattis flammula* L. *Journal sud-africain de botanique* ; 2018, 119 :390-399.

Z

Zeitoun J., Chryssostalis A. et Lefebvre J. iKb Hépto-gastro-entérologie et chirurgie viscérale 7eme édition, Edition VG ; 2020 : 34.

Résumé

Crataegus laciniata appartenant à la famille des rosacées et qui pousse dans les régions méditerranéennes est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses effets antioxydants, anti-inflammatoire et antiulcéreux. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet gastroprotecteur des extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *C.laciniata* contre l'ulcère gastrique aigu induit par l'éthanol absolu chez des souris traitées par voie orale avec l'Oméprazole (20mg/kg) ou par les extraits éthanoliques des fruits et feuilles (50, 100 et 200 mg/kg). Une évaluation macroscopique en mesurant la surface des lésions, la mesure du taux du superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) et des observations microscopiques des lésions ont été réalisées. L'activité de la SOD révèle une différence très hautement significative à la dose 200mg/kg ($2294,14 \pm 431,79$ U/mg de protéines). Tandis que l'activité de la catalase a hautement augmentée pour les doses de 50mg/kg ($17,82 \pm 2,28$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$) pour l'extrait de feuille et 200mg/kg ($17,76 \pm 4,36$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$) pour l'extrait de fruit par rapport à celle notée chez des souris de groupe éthanol ($1,62 \pm 0,06$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protéines}/\text{min}$). La dose de 200mg/kg des fruits s'est avérée être plus efficace avec un pourcentage d'ulcération ($1,67 \pm 0,37\%$) comparable à celui de l'oméprazole ($1,62 \pm 0,64\%$). L'examen histologique a révélé une architecture de la muqueuse protégée semblable à celle du groupe positif (oméprazole) et les groupes traités avec les fruits à 100 et 200mg/kg. Ces résultats confirment la validité de l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle et offrent un espoir pour le développement d'une thérapie antiulcéreuse efficace.

Mots clés : *Crataegus laciniata*, ulcère, éthanol, gastroprotecteur, Oméprazole.

Abstract

Crataegus laciniata belongs to the Rosaceae family and grows in Mediterranean regions. It is widely used in traditional medicine for its antioxidant, anti-inflammatory and anti-ulcer effects. The aim of this study was to evaluate the gastroprotective effect of ethanolic extracts from the leaves and fruits of *C.laciniata* against acute gastric ulcer induced by absolute ethanol in mice treated orally with Omeprazole (20mg/kg) or ethanolic extracts from the fruits and leaves (50, 100 and 200 mg/kg). Macroscopic evaluation of lesion surface area, measurement of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) levels and microscopic observations of lesions were carried out. SOD activity showed a highly significant difference at the 200mg/kg dose ($2294,14 \pm 431,79$ U/mg protein). Catalase enzymatic activity was highly increased at doses of 50mg/kg (17.82 ± 2.28 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protein}/\text{min}$) for leaf extract and 200mg/kg (17.76 ± 4.36 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protein}/\text{min}$) for fruit extract, compared with that observed in ethanol group mice (1.62 ± 0.06 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mg protein}/\text{min}$). The results show that the 200mg/kg fruit dose was more effective, with a percentage of ulceration ($1.67 \pm 0.37\%$) comparable to that of Omeprazole ($1.62 \pm 0.64\%$). Histological examination revealed an architecture of the protected mucosa similar to that of the positive group (Omeprazole), with no fraying or oedema in the groups treated with fruit at 100 and 200mg/kg. These results confirm the validity of using this plant in traditional medicine and offer hope for the development of an effective anti-ulcer therapy.

Key words: *Crataegus laciniata*, ulcer, ethanol, gastroprotective, omeprazole.

ملخص

Crataegus laciniata ينتمي إلى عائلة الوردية والتي تنمو في مناطق البحر الأبيض المتوسط على نطاق واسع في الطب التقليدي لتأثيراته المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات ومضادة للقرحة. الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير المعدي للمستخلصات الإيثانولية لأوراق وثمار *C. laciniata*. ضد قرحة المعدة الحادة التي يسببها الإيثانول المطلق في الفئران المعالجة عن طريق الفم بأوميبرازول (20 مجم / كجم) أو بالمستخلصات الإيثانولية للفواكه والأوراق (50 ، 100 ، 200 مجم / كجم). تقييم مجهري عن طريق قياس سطح الآفات وقياس مستوى الأوكسيد الفائت تم إجراء ديسموتاز (SOD) وكاتالاز (CAT) والملاحظات المجهرية للآفات . يكشف نشاط SOD عن اختلاف كبير للغاية عند جرعة 200 مجم / كجم (2294.14 ± 431.79 وحدة / مجم من البروتينات) . بينما زاد نشاط الكاتالاز بشكل كبير لجرعات 50 مجم / كجم (17.82 ± 2.28 ميكرو مول من H_2O_2 / مجم بروتين / دقيقة) لمستخلص الأوراق و 200 مجم / كجم (17.76 ± 4.36 ميكرو مول من H_2O_2 / مجم بروتين / دقيقة) لمستخلص الفاكهة. بالمقارنة مع ذلك الذي لوحظ في الفئران في مجموعة الإيثانول (1.62 ± 0.06 ميكرومولتر H_2O_2 / مجم بروتين / دقيقة). أثبتت جرعة 200 مجم / كجم من الفاكهة أنها أكثر فاعلية مع نسبة تقرح ($1.67 \pm 0.37\%$) مقارنة بجرعة أوميبرازول ($1.62 \pm 0.64\%$) . كشف الفحص النسيجي عن بنية الغشاء المخاطي المحمي مماثلة لتلك الخاصة بالمجموعة الإيجابية (أوميبرازول) والمجموعات المعاملة بالثمار عند 100 و 200 مجم / كجم. تؤكد هذه النتائج صحة استخدام هذا النبات في الطب التقليدي وتوفر الأمل في تطوير علاج فعال مضاد للقرحة.

الكلمات الدالة : *Crataegus laciniata* ، القرحة ، الإيثانول ، جهاز حماية المعدة ، أوميبرازول .