

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Détermination du mécanisme gastro protecteur de
la curcumine. Étude de cas : Effet sur la micro
vascularisation

Présenté par :

MAKHLOUF Thinhinane & NAIT IDIR Amel

Soutenu le : **03 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme. BENMESSAOUD Yasmine

MAA

Présidente

Mme. CHERAFT Nassima

MAA

Examinatrice

Mme. DEBBACHE Nadjat

MCB

Encadreur

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur : Mme DEBBACH, d'avoir accepté d'être Promotrice de ce mémoire son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail, Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Un grand merci à Mme YOUSSE Farah, pour son aide précieuse durant tout le long de notre travail, pour ces conseils dans le laboratoire durant la période expérimentale, pour sa disponibilité sa patience et sa gentillesse.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir Par leurs propositions

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce projet de fin d'étude...

A mes chers parents,

Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler, Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux, Que dieu leur procure bonne santé et longue vie

A mes chers frères

Malek, Massinissa et Mohamed Sami A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite et de bonheurs

A mon fiancé Mouloud

Pour sa disponibilité, son soutien, son aide, ses conseils et ses Encouragements

A ma nièce Fahima

En souvenir des bons moments passés ensemble dans une atmosphère de fraternité et d'entente sympathique

A toute ma famille

A tous mes amis

A mon binôme et amie Thinhinane et à toute sa famille,

Et à tous mes collègues de promotion

Amel

Je dédie ce modeste travail

A Mon père, l'épaule solide et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

***A ma mère, la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de
m'encourager***

*Vous m'avez donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tout ce que je peux
Vous offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je vous porte. En
Témoignage, je vous offre ce modeste travail pour vous remercier pour vos sacrifices et
Pour l'affection dont vous m'aviez toujours entourée. Aucune dédicace ne pourrait exprimer
Mes Sentiments, que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie.*

A ma chère sœurs Djohra et son fiancé Nassim et mon chère frère DAOUD

*Je vous remercie pour votre soutien indéfectible. Vous m'avez prêté main forte durant la
Réalisation de ce travail. Je sais pertinemment que je peux toujours compter sur vous.*

A mon très chère fiancé oughelissi Hakim

*Je te remercier Pour ta disponibilité à entendre mes frustrations et les sources de mon stress
Les plus Affectueux, pour ton soutien et ta compréhension. Sans ton aide, tes conseils,
Et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour. Que dieu réunisse nos chemins pour un
Long Commun serein.*

A mes chères belles sœurs : Fatima, rezekia et souhila

A mes chers beaux frères

A mon chère grand-père et ma grande-mère maternelle

A l'âme de mon grand-père et ma grande-mère paternelle

A mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins

A mes chères cousines : DOUDA, FAHIMA, SARA, HANANE, Lynda et Nassima

A mes très chères amis : Kenza, Siham, Lydia, Katia, Randa, Lynda

A ma chère amie, binôme : Amel

*Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Je vous remercie pour vos
Encouragements et je vous souhaite bonheur santé et prospérité.*

Thinhinane

Sommaire

| | |
|------------------------|---|
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Introduction..... | 1 |

Chapitre I : Revue Bibliographique

| | |
|--|----|
| I.1 l'estomac et sa vascularisation | 2 |
| I.1.1 L'estomac..... | 2 |
| I.1.1.1 Anatomie | 2 |
| I.1.1.2 Morphologie..... | 2 |
| I.1.1.3 Mécanismes de protection de la muqueuse gastrique..... | 4 |
| I.1.2 Vascularisation..... | 5 |
| I.1.3 La microvascularisation | 6 |
| I.2 Ulcère Gastrique | 7 |
| I.2.1 Les facteurs d'agressions..... | 8 |
| I.3 : Les Traitements | 10 |
| I.3.1 Traitement médicale..... | 10 |
| I.3.2 Traitement Naturelle..... | 11 |

Chapitre II Matériels et Méthodes

| | |
|---|----|
| II.1 Matériels | 14 |
| II.1.1 souris et conditions d'élevage | 14 |
| II.1.2 Produits chimiques | 14 |
| II.1.3 Matériel de laboratoire..... | 14 |
| II.2 Méthodes | 14 |
| II.2.1 Etude <i>in vivo</i> de l'activité gastro protectrice du Misoprostol et de la Curcumine..... | 15 |
| II.2.2 Détermination du mécanisme gastroprotecteur du Misoprostol et de la Curcumine par l'étude de la micro vascularisation..... | 17 |
| II.3 Analyse statistique | 21 |

Chapitre III Résultats et Discussions

| | |
|---|----|
| III.1 Résultats | 22 |
| III.1.1 Evaluation de l'effet gastroprotecteur des molécules testées..... | 22 |
| III.1.1.1 Evaluation macroscopique des lésions | 22 |
| III.1.1.2 Evaluation du degré d'ulcération et d'inhibition de l'ulcère..... | 24 |
| III.1.3 Evaluation de la microvascularisation | 26 |
| III.2 Discussion | 30 |
| Conclusion | 36 |
| Références bibliographiques | 37 |

Liste des abréviations

ACh : Acétylcholine.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.

Anti- H2 : Antihistaminique 2.

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

ATP : Adénosine triphosphate.

CEL : Cellules entérochromaffines like

Cellules D : Cellule à somatostatine

Cellules G : Cellules neuroendocrines à gastrine

CMC : Carboxy méthyl cellulose.

COX-1 : Cyclo-oxygénase 1

COX-2 : Cyclo-oxygénase 2.

DDF: 3, 6-dimethoxy-6'', 6''-dimethyl- [2'', 3'': 7, 8] -chromeneflavone.

GSH : Glutathion déshydrogénase.

H.pylori : *Helicobacter pylori*.

H⁺ /K⁺-ATPase : Hydrogène potassium adénosine triphosphatase.

H⁺ : Ion hydrogène.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

HCl : Acide chlorhydrique.

HCO₃⁻ : Bicarbonate.

IkBa: nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in α -cells inhibitor.

IkBβ: nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor.

IL-1 : Interleukine 1.

IL-6 : Interleukine 6.

IL-8 : Interleukine 8.

INF- γ : Interféron gamma.

iNOS : Inductible oxyde nitrique synthase.

K⁺ : Ion potassium.

NaCl : Chlorure de sodium.

NF-KB : Facteur nucléaire Kappa B.

NMRI: Naval Medical Research Institute.

NP-SH : sulfhydrile non proteiques.

O₂⁻ : Radical superoxide.

OH⁻ : Radical hydroxyl.

PGE1 : prostaglandine E1.

PGE2 : prostaglandine E2.

PGH₂: prostaglandin H₂.

SEM: Standard error of the mean.

SOD: Superoxide dismutase.

TNF- α : Tumor necrosis factor- α .

5-LOX : 5-lipoxygénase.

Liste des figures

| Figure | Titre | page |
|--------|---|------|
| 1 | Anatomie et morphologie de l'estomac | 3 |
| 2 | La muqueuse gastrique est une barrière | 5 |
| 3 | Structures des vaisseaux sanguins | 6 |
| 4 | Les composants de la micro vascularisation | 7 |
| 5 | Plaie forme d'une érosion qui pénètre profondément dans la paroi gastrique entraine un ulcère gastrique | 7 |
| 6 | Le mode d'action d' <i>H.pylori</i> | 8 |
| 7 | Site d'action des AINS | 9 |
| 8 | Structure de misoprostol | 11 |
| 9 | Structure de PGE ₂ | 11 |
| 10 | Le mode d'action du misoprostol | 11 |
| 11 | La curcumine : deux acides féruliques | 13 |
| 12 | Elevage des souris au sein de l'animalerie (photographie originale) | 14 |
| 13 | Des étapes de traitements des souris jusqu'à leur sacrifice (Photographie originale). (A) : gavage de souris ; (B) : anesthésie ; (C) : dislocation cervicale ; (D) : dissection ventro-médiane ; (E) : Prélèvement de l'estomac ; (F) : estomac récupérée. | 16 |
| 14 | Injection de bleu d'Evan (photographie originale) | 18 |
| 15 | Sacrifice de souris traitées par le bleu d'Evan et prélèvements des estomacs (photographie originale) | 19 |
| 16 | Les estomacs prélevés étalé sur une plaque (Photographie originale) | 19 |

| | | |
|----|---|----|
| 17 | Eppendorfs contenant les estomacs prélevé et le diméthyle formamide. | 20 |
| 18 | Microplaque contenant le mélange bleu d'Evan extrait des estomacs et diméthyle formamide préparé pour la mesure des absorbances | 20 |
| 19 | Estomacs de souris traitée par CMC à 0,8%, (A) et (B) (Photographie originale). | 22 |
| 20 | Estomacs de souris traitée par l'éthanol 96%, (A) et (B) (Photographie originale). | 23 |
| 21 | Estomacs de souris traitée par le misoprostol, (A) et (B) (Photographie originale). | 23 |
| 22 | Estomacs de souris traité par la curcumine 25mg/kg, (A) , (B) . Et curcumine 50 mg/kg, (C) et (D) (Photographie originale). | 24 |
| 23 | Effet de l'administration orale du misoprostol et de la curcumine (25mg/kg) et la curcumine (50mg/kg) sur l'ulcère induite par l'éthanol chez les souris. | 25 |
| 24 | L'effet de l'administration orale du misoprostol et de la curcumine 25mg/kg et la curcumine 50mg/kg sur l'ulcère induit par l'éthanol chez les souris | 26 |
| 25 | Extravasation de bleu d'Evan dans les tissus, (A) (C) souris témoin ; (B) (D) souris a reçu le bleu d'Evan (photographie originale) | 27 |
| 26 | Estomacs ulcéré (A) et traité par la curcumine 25 mg/kg (B) , après injection du bleu d'Evan (Photographie originale). | 27 |
| 27 | La concentration du bleu d'Evan extraite à partir de la muqueuse gastrique des différents groupes | 28 |

Liste des tableaux

| Tableau | Titre | page |
|---------|---|------|
| I | Des médicaments anti ulcéreux | 10 |
| II | Quelques Flavonoïdes ayant une activité antiulcéreuse significative. | 12 |
| III | Répartition des différents groupes selon le type de traitement administré | 15 |
| IV | Récapitulatif sur le protocole d'administration des produits. | 18 |

Introduction

Le rôle essentiel de l'estomac est d'être un réservoir qui, par son travail mécanique en milieu acide, brasse et casse les éléments du bol alimentaire pour le délivrer en suite à l'intestin, cela se fait grâce à la sécrétion de l'acide chlorhydrique (HCl) et des enzymes protéolytiques qui amorcent la digestion des protéines. Grâce à la barrière muqueuse de l'estomac, la paroi gastrique est protégée contre les sécrétions gastriques (**Sherwood, 2015**). L'ulcère gastrique est une érosion qui atteint initialement la muqueuse de l'estomac et peut gagner les couches les plus profondes de la paroi gastrique. L'ulcère est occasionné par une dégradation des mécanismes de défense de l'estomac, le premier événement précoce à la lésion tissulaire est probablement une réponse inflammatoire locale. Cette maladie évolutive peut être associée à un cancer gastrique (**Carpenito, 1997 ; Mezdour et al., 2017**).

Le traitement de l'ulcère comporte la suppression des facteurs favorisants et l'emploi d'anti-sécrétoires ou d'antibiotiques dans le cas d'un ulcère secondaire à une infection par *Helicobacter pylori* (**Akram et al., 2010**). Toutefois, en dépit de leurs bienfaits, il est impératif de constater que les réactions indésirables qu'ils entraînent continuent à être une cause importante et souvent évitable de problème de santé et séjours prolongés à l'hôpital ou même cause de décès.

Aujourd'hui, la phytothérapie vit une véritable révolution et des millions de personnes se tournent avec curiosité et intérêt vers cette thérapie qui complète ou remplace les médicaments de synthèse. Permettant ainsi de prévenir et de traiter toutes sortes de maladies (**Lorrain, 2013**).

Notre travail vise à évaluer l'effet gastroprotecteur d'un composé naturel d'origine végétale qui est la curcumine en utilisant un modèle animal. Nous avons tenté de déterminer l'un des mécanismes gastroprotecteurs qui est la microvascularisation.

Après une introduction générale précisant les objectifs, le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique qui consiste à situer notre sujet mais également à présenter la physiologie de l'estomac et les mécanismes gastroprotecteurs de certaines molécules issues de la synthèse et des molécules naturelles. Le deuxième volet de cette étude décrit les méthodes utilisées pour répondre à la problématique. Au troisième chapitre nous présentons l'ensemble des résultats et leur discussion. Ce document est achevé par une conclusion générale et ouvre sur plusieurs perspectives.

Chapitre I

Revue Bibliographique

I.1 L'estomac et sa vascularisation

I.1.1 L'estomac

I.1.1.1 Anatomie

L'estomac est une portion dilatée du tube digestif sous forme d'un sac en forme de (J) (Figure 1), dans lequel s'opèrent les premiers stades de la digestion. L'estomac occupe la partie supérieure gauche de l'abdomen, sous la coupole diaphragmatique, du côté proximal. Il fait suite à l'œsophage, au niveau du cardia, et il se continue par le duodénum, au niveau du pylore (Bernier, 1984 ; Cosling *et al.*, 2003).

I.1.1.2 Morphologie

- **Histologie**

Les parois gastriques (3 millimètres), présentent de l'intérieur vers l'extérieur (Figure 1) : (Hammoudi, 2010).

- **La muqueuse** : Elle comprend deux types de glandes : les glandes fundiques et les glandes antrales.

-**La sous muqueuse** : est un plan de glissement lâche, elle comprend les éléments vasculaire et nerveux de l'estomac.

-**La musculuse** : Elle contribue au processus de brassage et de progression du bol alimentaire.

-**La séreuse** : est représentée par les deux feuillets de péritoine viscéral qui tapissent sa face antérieure et postérieure et forment des replis au niveau des courbures qui vont servir comme moyens de fixité à l'estomac.

- **La sécrétion gastrique**

Le principal rôle de l'estomac est de transformer les aliments à l'état de chyme semi liquide, qui se déverse dans l'intestin, l'agent de cette transformation est le suc gastrique, Il est un mélange de :

- **Pepsine** : conduit la digestion des protéines.
- **Acide chlorhydrique** : tue les germes, active la pepsine et dénature les protéines.
- **Facteurs intrinsèque** : permet la captation de la vitamine B₁₂ par l'iléon (Marieb et Hoehn, 2015).

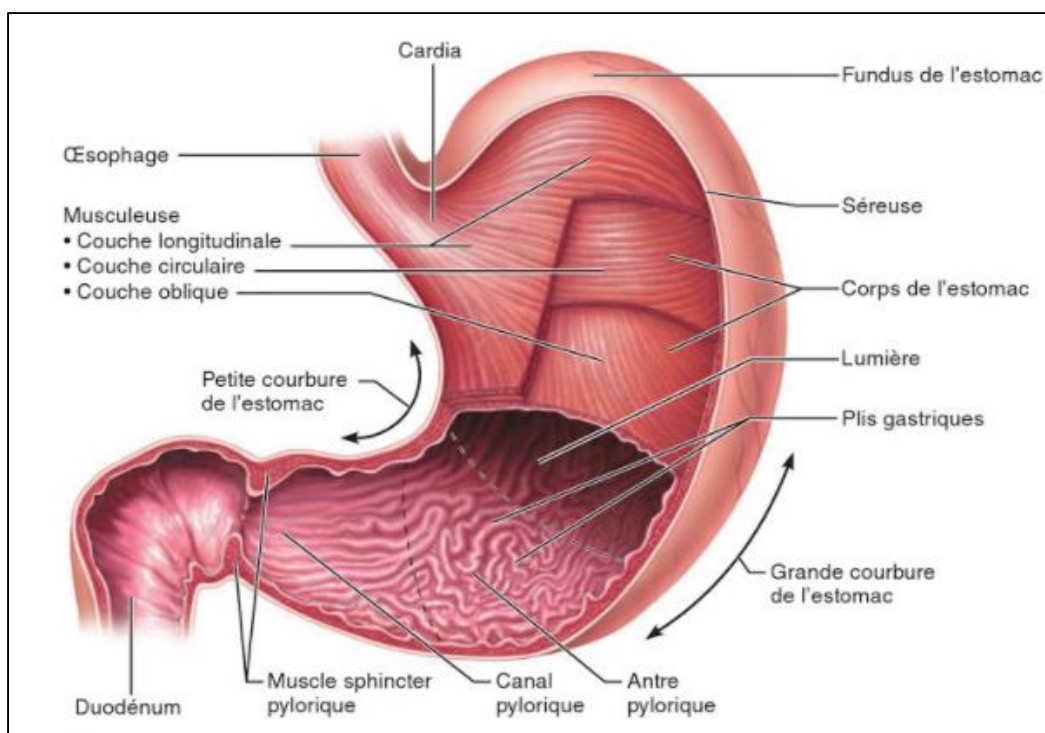


Figure 1. Anatomie et morphologie de l'estomac (Marieb et Hoehn, 2015).

Les glandes de fundus et du corps de l'estomac où se passe la plus grande partie de la digestion élaborent l'essentiel des sécrétions gastriques. Les glandes de ces régions renferment divers types de cellules sécrétrices (Marieb et Hoehn, 2015), dont l'importance en nombre varie d'une région à l'autre produisant des sécrétions différentes, ces cellules sont :

❖ Cellules exocrines

- **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, 2006).
- **Cellules pariétales (cellules bourdantes)** : elles sécrètent de l'acide chlorhydrique (HCl) et le facteur intrinsèque, Aussi elles libèrent des ions de bicarbonate HCO_3^- (Kierszenbaum, 2006).
- **Cellules principales** : elles sécrètent le pepsinogène qui est la forme inactive de la pepsine et qui sera activé sous l'effet de HCl (Ravens *et al.*, 2017).

- **Les endocrinocytes gastro-intestinaux** : libèrent divers messagers chimiques comme l'histamine, la sérotonine, la somatostatine et les gastrines.
- **Cellules entérochromaffines like (CEL)** : sont stimulées par l'acétylcholine (ACh) et la gastrine. Elles sécrètent l'histamine qui stimule les cellules pariétales.
- **Cellules G** : sont stimulées par l'acétylcholine (ACh), elles sécrètent la gastrine qui stimule les (CEL) et cellules pariétales et cellules principales.
- **Cellules D** : sécrètent la somatostatine qui inhibe les cellules pariétales, les cellules G et les CEL (Sherwood, 2015).

I.1.1.3 Mécanismes de protection de la muqueuse gastrique

La protection de la muqueuse gastrique contre les composants agressifs (acide, pepsine) du suc gastrique est assurée par plusieurs mécanismes. Les plus importants d'entre eux sont la régulation entéro-hormonale des activités sécrétoires et les corrélations nerveuses, mais les principales protections locales sont fournies par : (Sherwood *et al.*, 2016).

- **La couche mucus** : riche en HCO_3^- sert de barrière chimique qui neutralise l'acidité (Figure 2)
- **Le flux sanguin** : traverse les vaisseaux de la lamina propria.
- **Renouvellement constant des cellules** : la durée de vie des cellules de l'épithélium de surface est de l'ordre de 3 à 6 jours leur renouvellement constant est dû à la présence de cellules-souches gastro-intestinales.
- **Prostaglandine** : exerce des effets cytoprotecteurs sur la muqueuse gastrique, elle augmente la production mucus, la sécrétion de bicarbonate, le flux sanguin, et elle réduit la sécrétion acide.

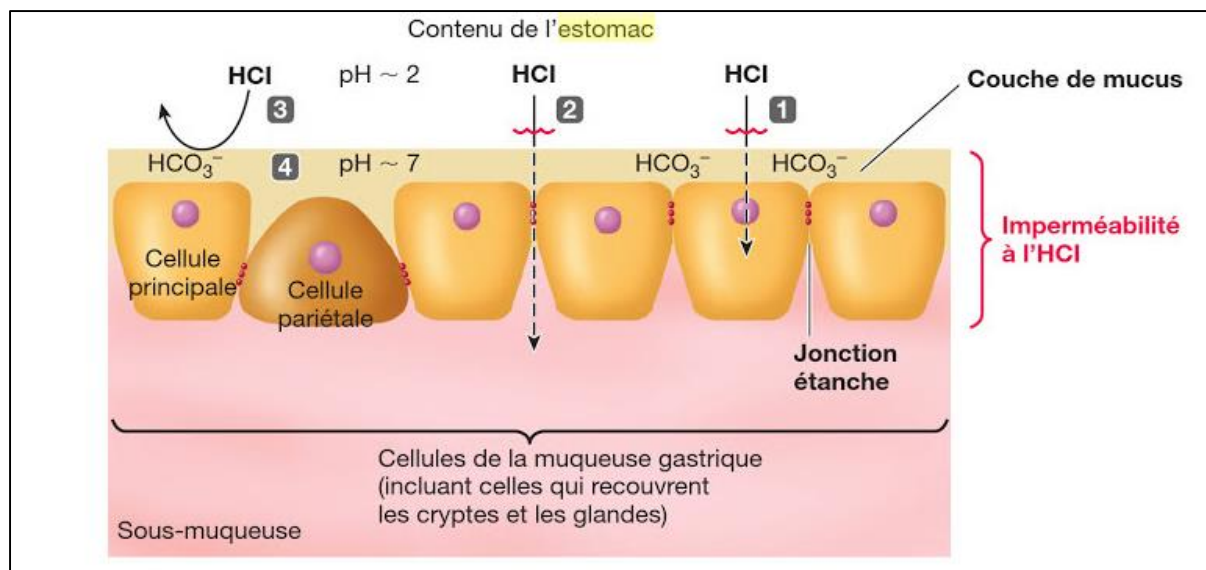


Figure 2. La muqueuse gastrique (Sherwood *et al.*, 2016).

I.1.2 La vascularisation

Le sang chemine successivement dans les artères, les artérioles, les capillaires, les veinules et les veines.

Les artères et les veines sont divisées au niveau de la sous-muqueuse pour former un important réseau qui est le siège d'anastomoses artério-veineuse susceptible de court-circuiter l'irrigation de la muqueuse (Figure 3) (Chambon *et al.*, 2012).

➤ Les artères

La vascularisation gastrique est riche, elle est assurée par plusieurs pédicules issus de tronc cœliaque et de ces branches, les artères gastriques gauche et droite, l'artère pylorique, l'artère oeso-cardio-tubérositaire et les vaisseaux courts gastrique. Les artérioles sont les ramifications des artères, possèdent les mêmes caractéristiques que ces dernières mais dont le diamètre est plus petit (Chambon *et al.*, 2012).

➤ Les veines

Le drainage veineux de l'estomac est tributaire de la veine porte qui est un tronc veineux annexé au tube digestif. Elle conduit au foie le sang veineux des différents segments du tube digestif, de la rate et du pancréas. Elle se situe entre deux réseaux capillaires : celui de tube digestif, du pancréas, de la rate et celui du foie. Les veinules sont plus petites que les veines, leurs parois ont les même caractéristiques que les veines (Hammoudi, 2010).

➤ **Les capillaires**

Ils assurent la liaison entre les artérioles et les veinules. Constituent un réseau fortement ramifié qui délivre l'oxygène et les nutriments du sang aux tissus (**Chambon et al., 2012**).

➤ **Les lymphatiques**

Les lymphatiques de l'estomac drainent les réseaux muqueux, sous-muqueux et sous-séreux et se rendent aux lymphonœuds (ganglions lymphatique) centraux de la région cœliaque après avoir traversé lymphonœuds de relais correspondant à chaque territoire de drainage (**Hammoudi, 2010**).

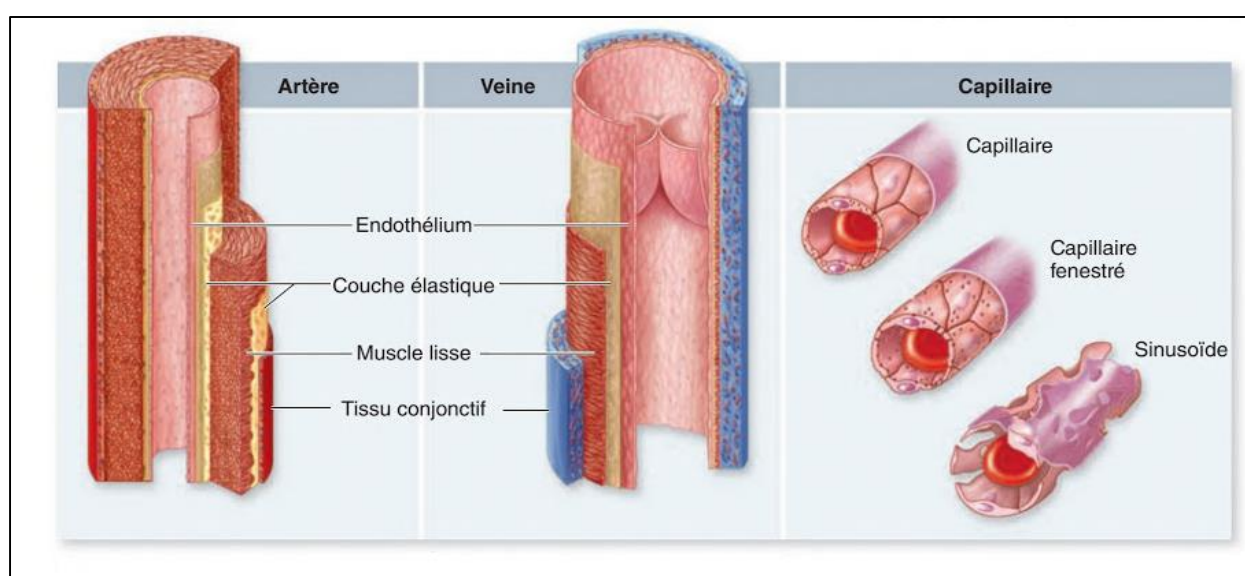


Figure 3. Structures des vaisseaux sanguins (**Ravens et al., 2017**).

I.1.3 La microvascularisation

La partie du système circulatoire est composée de petits vaisseaux, tels que les capillaires, les artérioles et les veinules. (Figure 4).

Dans la multitude de mécanismes impliqués dans le développement de l'inflammation de la muqueuse gastrique, la perturbation du système microcirculatoire est une voie initiale commune en réponse aux antigènes, l'endothélium microvasculaire transmet le signal aux cellules de circulation (**Rhoades et Bell, 2009**).

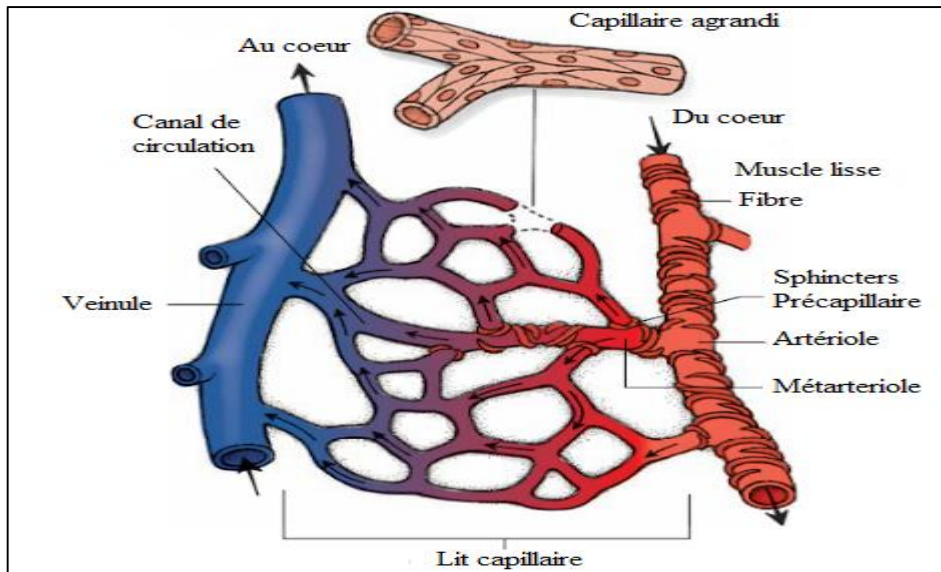


Figure 4. Les composants de la microvascularisation (Rhoades et Bell, 2009).

I.2 L'ulcère Gastrique

L'ulcère gastrique se définit en anatomo-pathologie comme une perte de substance muqueuse allant au-delà de la couche musculaire muqueuse, Ce ci expose l'estomac à l'acide chlorhydrique, et à la pepsine du suc gastrique. Ils résultent de plusieurs mécanismes concomitants : nécrose de la paroi gastrique sous l'effet de l'hyperacidité (Figure 5), réponse inflammatoire aiguë à cette nécrose, organisation et formation d'un tissu de granulation et apparition d'une cicatrice fibreuse. Provoquant des douleurs ulcéreuses, des hémorragies digestive extériorisée, état de choc hémorragique ou simple syndrome anémique en plus des douleurs abdominales (Mezdour *et al.*, 2017).



Figure 5. Plaie forme d'une érosion qui pénètre profondément dans la paroi gastrique entraîne un ulcère gastrique. Ces plaies sont souvent douloureuses, l'ulcère cause une perforation de la paroi gastrique suivi d'une hémorragie massive (Marieb et Hoehn, 2015).

La pathologie d'un ulcère gastrique est complexe et multifactorielle. Les ulcères gastriques affectent beaucoup de personnes dans le monde et son développement est le résultat du déséquilibre entre les facteurs agressifs et protecteurs la muqueuse gastrique (Marieb et Hoehn, 2015).

I.2.1 Les facteurs d'agressions

- ***Helicobacter pylori* (*H. pylori*)** : Elle est à l'origine de 80% des ulcères (Litschgi, 2012), provoqués par un Bacille à gram négatif, de forme spiralée, mobile. C'est une bactérie qui colonise le mucus de l'estomac de l'Homme, elle secrète une grandes quantité de l'uréase source d'ammoniac tamponnant l'environnement autour de la bactérie et la protégeant de l'acidité gastrique (Figure 6) (Kierszenbaum, 2006).

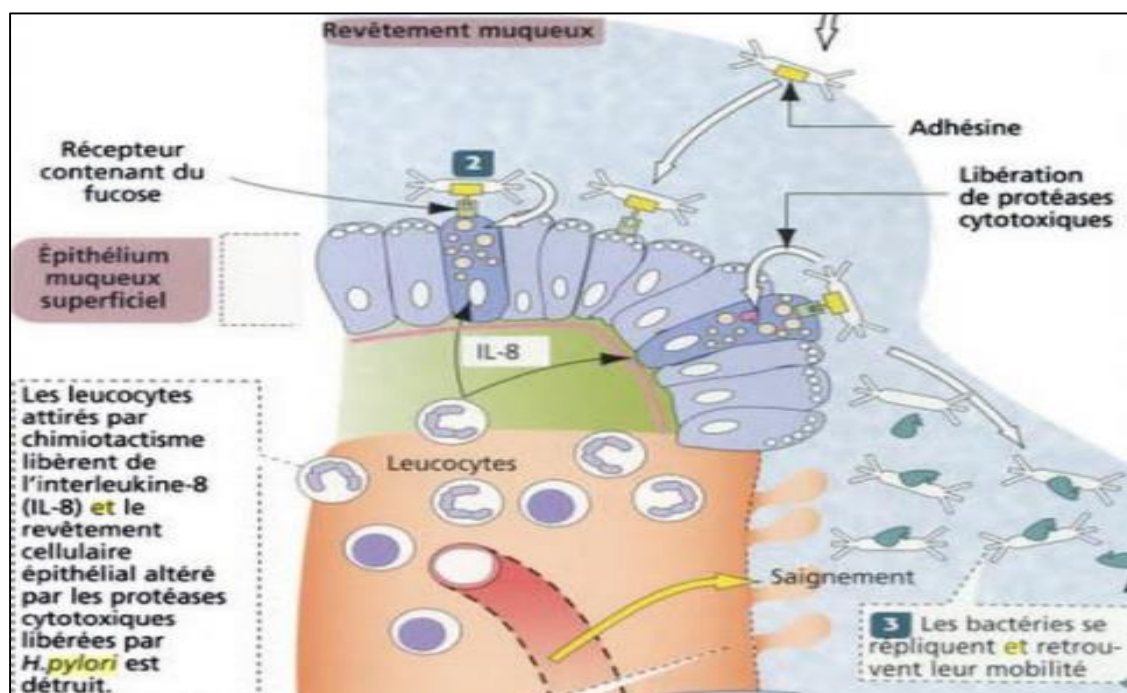


Figure 6. Le mode d'action d'*H. pylori* (Kierszenbaum, 2006).

- **Les anti-inflammatoire non stéroïdiens** : 30- 40% des patients sous traitement par AINS prolongé auront un effet indésirable digestif sévère. Les AINS inhibent la biotransformation de l'acide arachidonique issu des phospholipides membranaires en prostaglandine H₂ (PGH₂) par une enzyme cyclooxygénase (COX) (Figure 7), qui joue un rôle physiologique dans la protection de la muqueuse gastrique (Mezdour et al., 2017).

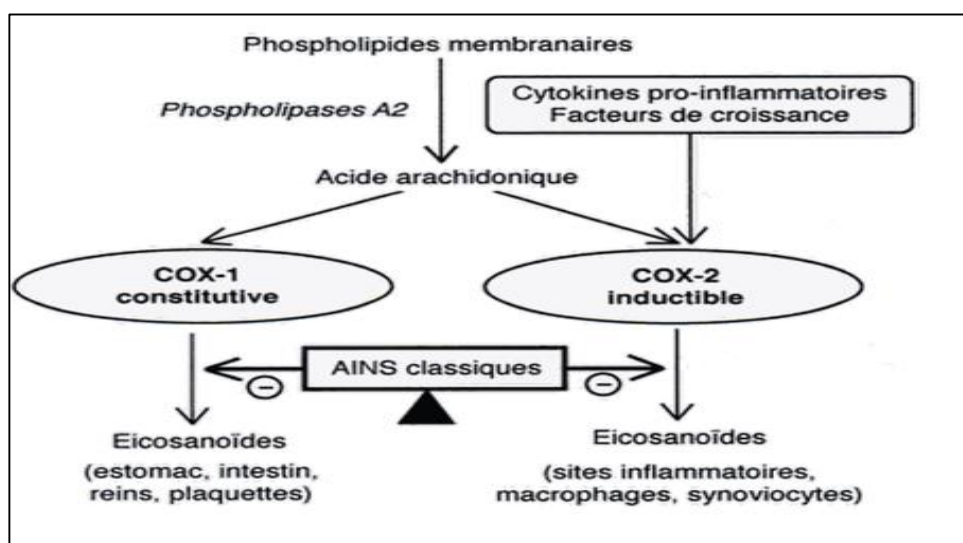


Figure 7. Site d'action des AINS.

- **L'alcool** : et les autres boissons irritantes (café, thé noire bu en excès) augmentent la sécrétion de suc gastrique.
- **Le tabac** : la nicotine est un cofacteur de l'ulcérogenèse, qui agit en fragilisant la barrière de défense muqueuse par divers mécanismes.
- **Le stress** : il peut aggraver un ulcère ou intensifier ses manifestations (**Litschgi, 2012**).
- **Éthanol comme agent ulcérogène**

L'éthanol agit directement sur la muqueuse en tant que substance agressive à l'origine de la diminution des mécanismes gastro protecteurs favorisant les lésions gastriques. Il est également capable de stimuler la sécrétion d'acide gastrique, à augmenter la mobilité gastrique, à diminuer du flux sanguin dans la muqueuse et diminuer de la production de prostaglandine. L'augmentation de l'acidité dans l'estomac aboutit au déclenchement de la réaction inflammatoire. Ceci est suivi d'une augmentation de la formation d'espèces réactives d'oxygène comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), l'hydrogène peroxyde (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), qui favorisent la peroxydation lipidique et la formation des lésions gastriques. Il provoque ainsi une nécrose cellulaire et la libération de médiateurs vasoactifs suivie d'une vasoconstriction, œdème et hémorragie (**Yeo et al., 2018**).

I.3 Les Traitements

I.3.1 Traitement médical

Plusieurs traitements chimiques de l'ulcère gastrique existent (Tableau I), ces derniers présentent des mécanismes d'action différents, nous allons détailler le mécanisme d'action du misoprostol car il a fait objet de notre étude.

Tableau I. Des médicaments anti ulcéreux (Michel, 2017).

| Classe | Médicament | Mode d'action |
|--------------------------------|--|--|
| Les anti sécrétoires | Antihistaminique H2 : Cimétidine Ranitidine | Bloque l'action de l'histamine sur les cellules pariétales et réduisent la sécrétion acide |
| | Inhibiteurs de la pompe à protons : Ompérazole, lansoprazole | En milieu acide ces médicaments se réarrangent en 2 types de molécules réactives lesquelles interagissent avec le groupement sulfhydrile de la H ⁺ /K ⁺ -ATPase. |
| Les protecteurs de la muqueuse | Sucralfat (Ulcars *, Kéal*) | Se fixe sur les protéines du cratère ulcéreux, inhibe la rétrodiffusion des ions H ⁺ . |
| | Les prostaglandines de synthèse : Le Misoprostol (Cytotec) | Effet cytoprotecteurs |
| | Les sous nitrate de Bismuth colloïdale (Dénole *) | Son efficacité semble voisine de celle des anti- H2 |

➤ Le Misoprostol (Cytotec®)

Le misoprostol est commercialisé sous forme de comprimé sécable 200 µg, analogue de la PGE1 (Figure 8 et 9), a une action anti sécrétoire et cytoprotéctrice (Figure 10). Le misoprostol augmente la sécrétion de mucus et de bicarbonate, réduit la sécrétion d'acide et assure la protection gastrique (Ali Khan *et al.*, 2017).

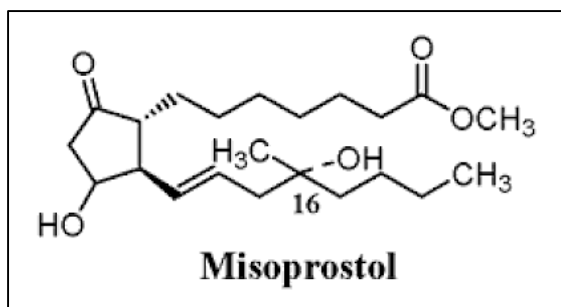


Figure 8. Structure de misoprostol
(Kirkiacharian, 2010).

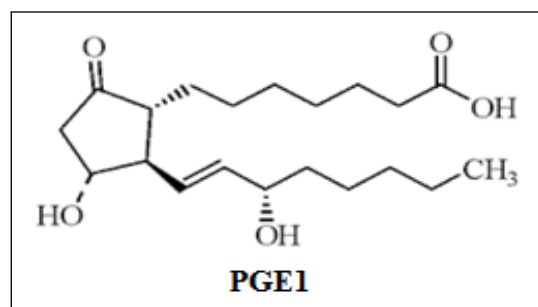


Figure 9. Structure de PGE1
(Kirkiacharian, 2010).

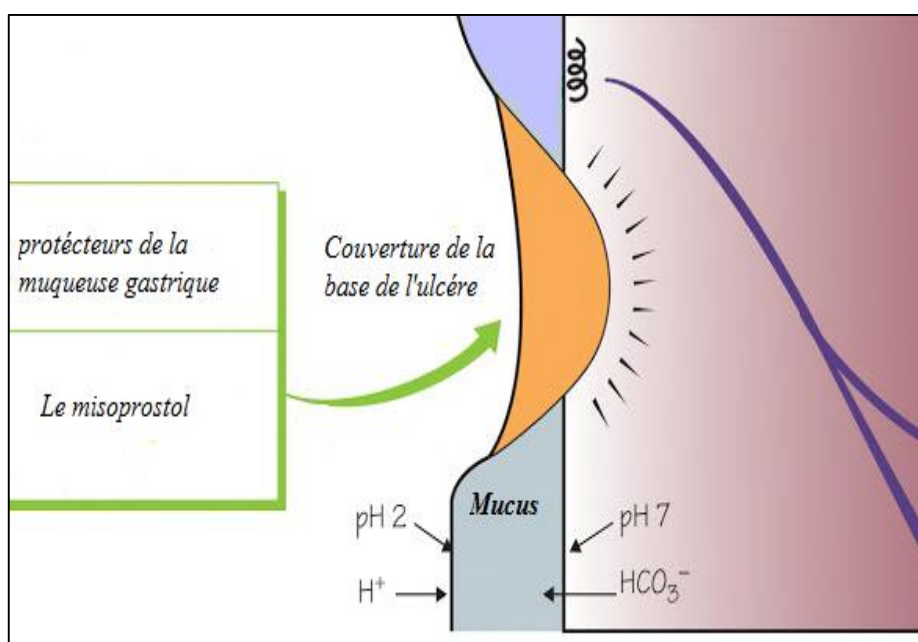


Figure 10. Le mode d'action du misoprostol (Sugiyama, 2015).

I.3.1 Traitement naturel

Un large spectre de médicaments a été développé, néanmoins, les thérapies existantes ont généralement des effets indésirables (hypersensibilité, arythmie, impotence, gynécomastie, et changements hématopoïétiques) et sont très coûteux. Ceci a stimulé la recherche continue pour de nouvelles alternatives thérapeutiques. A ce point, on insère les molécules les plantes médicinales (Tableau II).

La curcumine a été sélectionnée pour cette étude, le choix n'est pas arbitraire mais suite à une combinaison de critères à savoir, son mécanisme anti-inflammatoire connu.

Elle est le principale composé phénolique du *curcuma langa* (50 /60%) (Figure 11), qui est un pigment de couleur jaune présent dans le rhizome du curcuma. La curcumine possède des propriétés anti tumorales, anti-inflammatoires et antioxydants (Edeas, 2006). La curcumine réduit le stress oxydatif et les dommages aigus de la muqueuse gastrique en restaurant l'activité des enzymes glutathion déshydrogénase (GSH) et superoxyde dismutase (SOD) (Chattopadhyay *et al.*, 2006). Des travaux antérieurs ont rapporté que la curcumine a réduit l'expression de l'ARNm des protéines pro-inflammatoires COX-2, les enzymes iNOS et 5-lipoxygénase (5-LOX), de divers Cytokines pro-inflammatoires comprenant le TNF- α , l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8 et l'interféron gamma (INF- γ). De plus, Il a été montré que la curcumine bloque l'activation de NF-kB induit par *H .pylori* par l'inhibition de la dégradation d'IkBa et IkB β (Akram *et al.*, 2010).

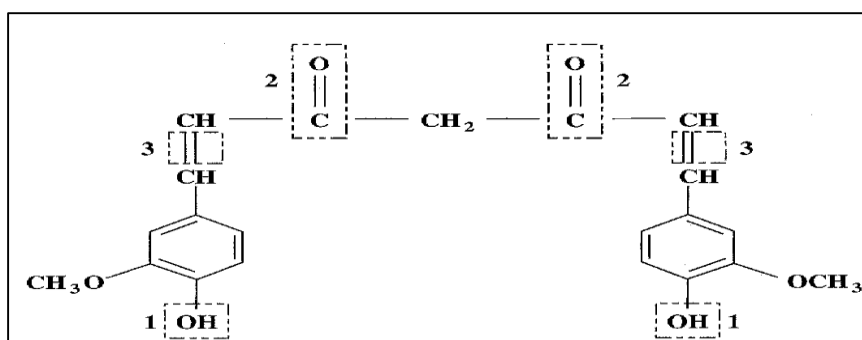


Figure 11. La curcumine : deux acides féruliques (Edeas, 2006).

Tableau II : Quelques Flavonoïdes ayant une activité antiulcéreuse significative.

| Plante | Composant | Effet anti ulcère | Référence |
|---|--|--|---------------------------------|
| <i>Silybim marianum</i> | Silymarin | Inhibition de la peroxydation par la voie de la lipoxygénase, Inhibition de la synthèse de leucotriènes. | Alarcon et al., 1992 |
| <i>Anacardium occidentale</i> Linn | Catechins | Effets anti-sécrétoires et anti-ulcérogènes dus à leur activité inhibitrice sur la H ⁺ , K ⁽⁺⁾ - ATPase gastrique | Murakami et al., 1992 |
| <i>Curcuma langa</i> | Curcumine | Effets anti-inflammatoires et antioxydants | (Edeas, 2006). |
| <i>Erica andevalensis</i> <i>Cabezudo-Rivera</i> | extrait d'acétate d'éthyle myricétine 3-O-D-galactoside) | Prévenir l'ulcération gastrique induite par le stress | Reyes et al., 1996 |
| <i>Genista rumelica</i> <i>Vel</i> | flavonoïde total mélange, lutéoline-7-glycoside, génistine | Inhibition de la phase exsudative du L'inflammation expérimentale. | Rainova et al., 1988 |
| <i>Sideritis leucantha</i> | l'hypolaétine-8-O-β-D-glucoside (H-8-G) | Effets cytoprotecteurs médiés par les prostaglandines endogènes (PGs) et associés à une augmentation de la production de mucus gastrique avec ses effets antisécrétoires modérés. | Alcaraz et Tordera, 1988 |
| <i>Citrus paradisi</i> <i>Macfad</i> | Naringenin | Inhibiteur de l'histidine décarboxylase, Inhibition de la formation et la libération d'histamine endogène dans la muqueuse gastrique | Parmar, 1983 |
| <i>Lonchocarpus araripensis</i> Benth | DDF (3,6-dimethoxy-6 ^{''} , 6 ^{''} -dimethyl- [2 ^{''} , 3 ^{''} : 7,8] - chromeneflavone) | Effet antioxydant prévenir la déplétion de NP-SH gastrique, Stimulation de Prostaglandines endogènes Libération d'oxyde nitrique, Activation des afférences gastriques sensibles à la capsaïcine et ouverture des Canaux K ⁺ ATP. | Deive., et al 2008 |

Chapitre II
Matériel et Méthodes

II.1 Matériels

II.1.1 Souris et conditions d'élevage

Des souris albinos de type NMRI (Naval Medical Research Institute) (mâles), provenant de l'animalerie de l'université de Bejaia, de poids corporel varie entre (25-30g) dont l'âge varie de 8-12 semaines ont été utilisées pour étudier l'effet de la curcumine et Misoprostol sur la micro vascularisation de tissus gastrique. Les souris ont été placées 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 12). L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de génétique de l'université de Bejaia.



Figure 12. Elevage des souris au sein de l'animalerie (photographie originale).

II.1.2 Produits chimiques

Ethanol 96 % (C_2H_6O), l'eau distillée, l'eau physiologique (NaCl 0,9%), Chloroforme, Misoprostol (gélules de 200 μ g). Bleu d'Evan (2%), Diméthyle formamide, CMC 0,8% (carboxy méthyl cellulose), curcumine. (25mg/kg) et (50mg/kg).

II.1.3 Matériel de laboratoire

Sonde de gavage, vortex (VLEP), loupe binoculaire (CARL ZRADWAG, lecteur de microplaque (BioTok), Centrifugeuse (SIGMA), Homogénéisateur (VELP), balance de précision (RADWAG), solicateur, Bain-Marie.

II.2 Méthodes

II.2.1 Etude *in vivo* de l'activité gastro protectrice du Misoprostol et de la Curcumine

L'activité anti ulcère du Misoprostol et la curcumine a été testée sur l'ulcère expérimental induit par l'éthanol selon le protocole de (Zakaria *et al.*, 2011).

Les souris ont été privées de la nourriture 14h avant le test puis privées d'eau 2h avant tout traitement (voir tableau ci-dessous). Les souris ont été réparties en 5 groupes (n=6), et l'ulcère a été induit par l'administration intra gastrique de l'éthanol à 90% (10ml/kg).

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

| Le groupe | Traitement |
|------------------------|---|
| Le groupe1 (Témoin) | Reçoit le véhicule (CMC) |
| Le groupe 2 (Ulcéré) | Reçoit l'éthanol 96% |
| Le groupe 3 (Standard) | Reçoit l'éthanol et le misoprostol |
| Le groupe 4 (traité) | Reçoit l'éthanol et la curcumine 25 mg/kg |
| Le groupe 5 (traité) | Reçoit l'éthanol et la curcumine 50 mg/kg |

- **Préparation des solutions**

A. Le Misoprostol est le médicament utilisé à dose de 200 µg/kg, la solution de Misoprostol a été préparée dans du CMC (0,8 %).

B. La curcumine : La curcumine a été testée à deux concentration 25mg/kg et 50 mg/kg. La solution curcumine a été préparée dans du CMC (0,8 %).

- **Administration des traitements**

Le Misoprostol et la curcumine ont été administrés (10 ml/kg) par gavage à l'aide d'une sonde gastro-œsophagienne 1h avant l'administration de l'éthanol (Figure 13.A).

- **Sacrifice**

Les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale sous anesthésie, 1 h après l'administration de l'éthanol (Figure 13.B et C).

Les estomacs ont été prélevés et une dissection ventro-médiane a été appliquée pour une ouverture de l'estomac selon la grande courbure. Les estomacs ont été pesés, lavés avec l'eau physiologique, puis étalés sur un verre de montre (Figure 13.D, E et F).



Figure 13. Des étapes de traitements des souris jusqu'à leur sacrifice (Photographie originale). (A) : gavage de souris ; (B) : anesthésie ; (C) : dislocation cervicale ; (D) : dissection ventro-médiane ; (E) : Prélèvement de l'estomac ; (F) : estomac récupérée.

- **Observation macroscopiques**

Les estomacs ont été étalés sur un verre de montre pour mieux observer les lésions formées. Les observations ont été réalisées à l'aide d'une loupe binoculaire (G 0,8) et des photographies ont été prises.

- **Evaluation du pourcentage d'ulcération**

Des photos d'échantillons d'estomacs ont été enregistrées sur l'ordinateur et analysées par le logiciel image J qui permet de mesurer la surface totale de l'estomac et la surface de la région ulcérée (**Zakaria et al., 2011**).

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

➤ $\% \text{ D'ulcération} = (\text{surface totales des lésions} / \text{la surface totale de l'estomac}) \times 100$

L'activité anti ulcère a été définie comme le pourcentage d'inhibition des lésions gastriques mesurée selon la formule suivante :

➤ $\% \text{ inhibition} = (\text{Surface ulcérée du contrôle} - \text{Surface ulcérée du teste} / \text{Surface ulcérée du contrôle}) \times 100$

II.2.2 Détermination du mécanisme gastro protecteur du misoprostol et de la Curcumine par l'étude de la micro vascularisation

❖ Principe

Cette méthode est basée sur l'injection intraveineuse du Bleu d'Evan chez la souris en tant que modèle animal d'essai (**Radu et Chernoff, 2013**). Le colorant azoïque bleu d'Evan est connu pour se lier quantitativement à l'albumine *in vivo* (**Rawson, 1943**).

Dans des conditions physiologiques, l'endothélium est imperméable à l'albumine, de sorte que l'albumine liée au bleu d'Evan reste restreinte dans les vaisseaux sanguins.

Lors d'une inflammation, l'endothélium devient perméable aux petites protéines, c'est l'augmentation de la perméabilité vasculaire qui résulte l'écoulement des fluides riches en protéines telle que l'albumine. Cette condition permet l'extravasation du Bleu d'Evan dans les tissus (**Radu et Chernoff, 2013**).

- **Préparation de solution du bleu d'Evan à 2%**

Une solution du bleu d'Evan a été préparée dans du NaCl à (0,9 %).

- **Injection intraveineuse du bleu d’Evan**

Les groupes ont été répartis et traités comme montré dans le tableau ci-dessous

Tableau IV. Récapitulatif sur le protocole d’administration des produits.

| Temps | Le traitement | Groupe 1 (Témoin) | Groupe 2 (Ulcéré) | Groupe 3 (Standard) | Groupe 4 (Traité) | Groupe 5 (Traité) |
|-------------------------------|------------------------|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| T ₀ | CMC (0.8%) | ✓ | ✓ | | | |
| | Misoprostol (200µg/kg) | | | ✓ | | |
| | Curcumine (25 mg/kg) | | | | ✓ | |
| | Curcumine (50mg/kg) | | | | | ✓ |
| T ₁ : après 1h | Éthanol 96% | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| T ₂ : après 30 min | Bleu d’Evan | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| T ₃ : après 30 min | sacrifice | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

Les queues des souris ont été exposées à une source de lumière pour les chauffer, pour que la veine latérale soit plus visible. 200 µl de la solution Blue d'Evan ont été aspirés dans une seringue. La solution est ainsi injectée lentement dans la veine de la queue de la souris (Figure 14) (Radu et Chernoff, 2013).



Figure 14. Injection de bleu d’Evan (photographie originale).

• Sacrifices

- Après 30 minutes les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale sous anesthésie.
- Le sacrifice des souris doit être rapide, car peu de temps après la mort, les vaisseaux sanguins deviennent plus perméables.
- Les estomacs ont été prélevés suite à une dissection ventro-médiane puis ont été ouverts selon la grande courbure (Figure 15), puis ont été pesés, lavée avec l'eau physiologique, puis étalés sur une plaque pour le séchage des estomacs pendant 12h (Figure 16).

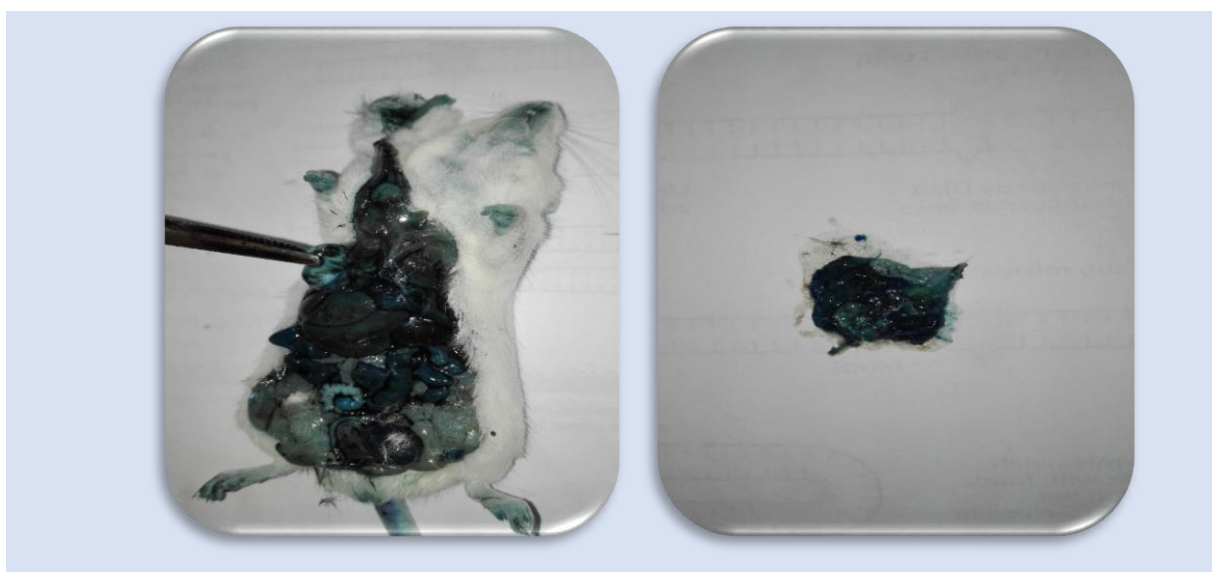


Figure 15. Sacrifice de souris traitées par le bleu d'Evan et prélèvements des estomacs (photographie originale).

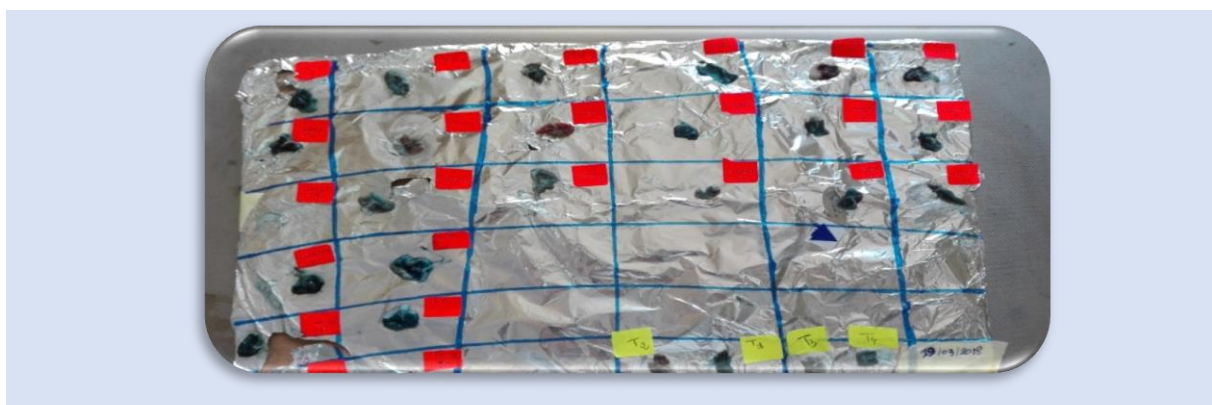


Figure 16. Les estomacs prélevés étalés sur une plaque (Photographie originale).

• Extraction de bleu d'Evan

Les estomacs ont été conservés dans des Eppendorfs, et un volume de diméthyle formamide a été ajouté. Les tubes ont été transférés dans un bain-marie à 60° C puis incubés

pendant 24 heures pour extraire le Bleu d'Evan des tissus (Figure 17). Le mélange diméthyle Formamide / bleu d'Evan a été centrifugé pour obtenir un culot de tous les fragments de tissus.



Figure 17. Eppendorfs contenant les estomacs prélevé et le diméthyle formamide.

- **Quantification du bleu d'Evan extravasé dans le tissu :**

Après la récupération de surnageant, les l'absorbances ont été mesurées à 610 nm à l'aide d'un lecteur microplaque (Figure 18).

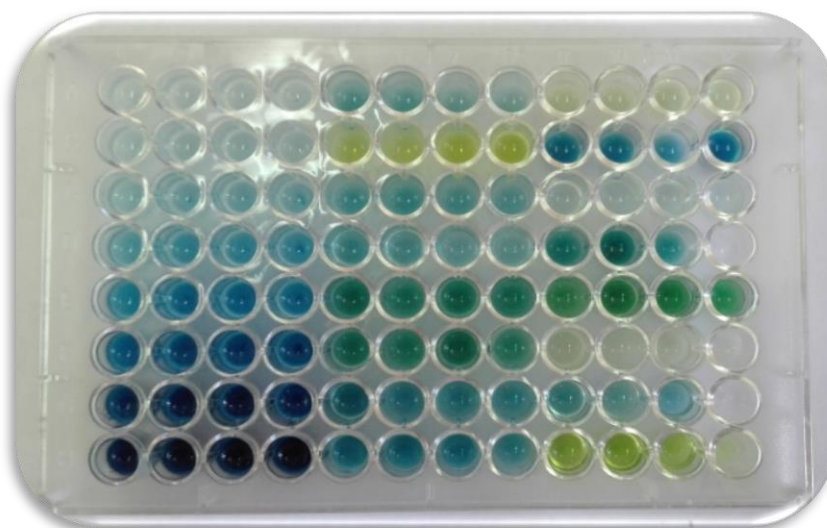


Figure 18. Microplaque contenant le mélange bleu d'Evan extrait des estomacs et diméthyle formamide préparé pour la mesure des absorbances.

Une courbe d'étalonnage a été dressée en utilisant la solution du bleu d'Evan dans du diméthyle formamide comme standard. Une série de dilution de moitié a été réalisée.

II.3 Analyse statistique

Les résultats de l'ensemble des tests réalisés ont été exprimés en moyenne (M) \pm SEM pour chaque groupe, Les analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism (5,0), les différences sont considérées significatives à partir de $p < 0,05$.

Chapitre III

Résultats et Discussions

Dans le but d'étudier l'effet gastroprotecteur de la curcumine et de la molécule de référence misoprostol nous avons appliqué un modèle d'ulcération induit par l'éthanol, qui est l'un des meilleurs modèles d'induction de l'ulcère chez la souris.

Pour cela, trois paramètres d'évaluation ont été sélectionnés. Nous nous sommes intéressés aux paramètres macroscopiques, aux calculs des surfaces ulcérées exprimées en pourcentage d'ulcération et en pourcentage d'inhibition de l'ulcère, et à l'évaluation de la microvascularisation en utilisant le bleu d'Evan comme marqueur.

III.1 Résultats

III.1.1 Evaluation de l'effet gastroprotecteur des molécules testées

III.1.1.1 Evaluation macroscopique des lésions

Après traitement des souris, ces dernières ont été sacrifiées et leurs estomacs ont été prélevés. Les estomacs ont été étalés et observés sous loupe. Les figures 19, 20, 21 et 22 montrent l'aspect des tissus gastriques des différents groupes traités. Il n'a été enregistré aucune lésions de la muqueuse des estomacs du groupe témoin ayant reçu le CMC, révélant que le CMC n'a aucun effet sur la muqueuse de l'estomac. Les résultats révèlent aussi le bon choix du véhicule.

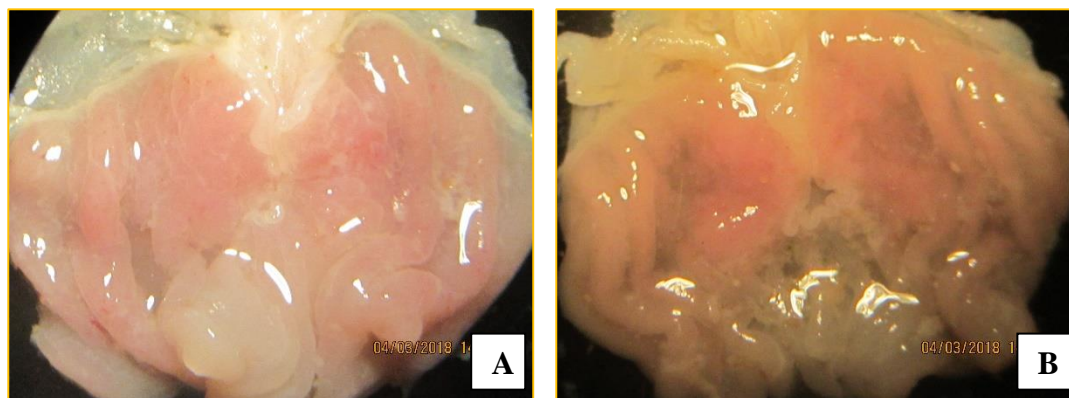


Figure 19. Estomacs de souris traitée par CMC à 0,8%, (A) et (B) (Photographie originale).

L'observation macroscopique des estomacs des souris du groupe traité par l'éthanol (96 %) a montré de très importantes et profondes lésions de la muqueuse des estomacs, la couleur de la muqueuse est d'un rouge foncé. De plus, des œdèmes, des hémorragies et des perforations ont été observés (Figure 20).

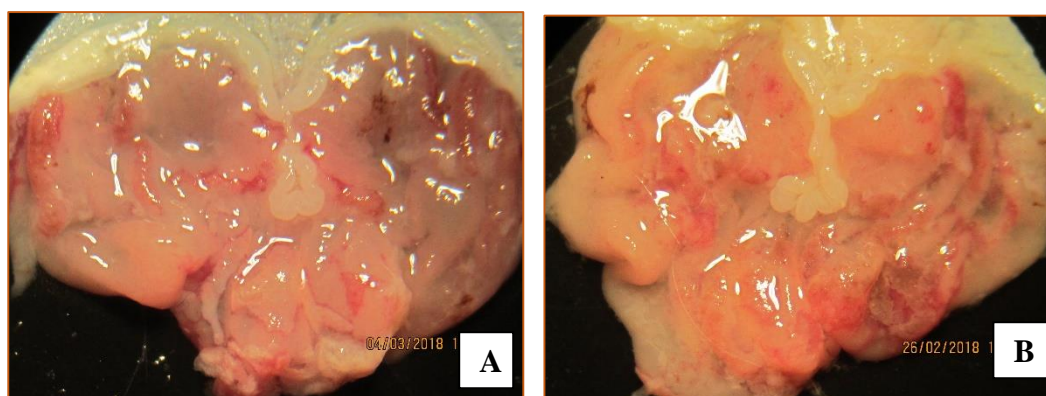


Figure 20. Estomacs de souris traitée par l'éthanol 96%, (A) et (B) (Photographie originale).

Le prétraitement des souris au misoprostol suivi d'une induction de l'ulcère à l'éthanol a restauré l'aspect normal de la muqueuse gastrique. Aucune lésion n'a été observée, ce qui pourrait valider le modèle choisi et révélant l'effet gastroprotecteur du misoprostol (Figure 21).

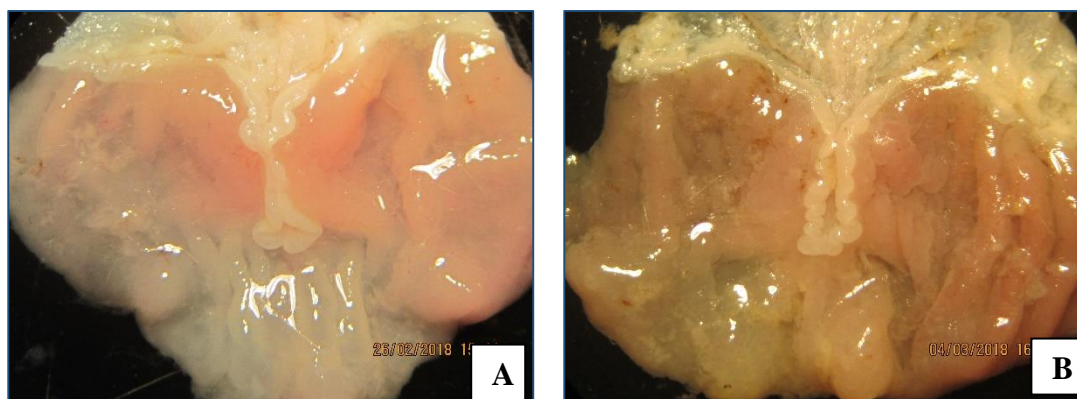


Figure 21. Estomacs de souris traitée par le misoprostol, (A) et (B) (Photographie originale).

Une alternative aux traitements chimiques sont les molécules bioactives d'origine végétale, ainsi la curcumine a été sélectionnée pour cette étude. Les résultats ont révélé un effet protecteur dose dépendant contre les lésions induites par l'éthanol. Des lésions moins importantes que celles enregistrées au sein du groupe traité par l'éthanol ont été observées chez les groupes prétraités par la curcumine 25 et 50mg/Kg. Aussi la muqueuse gastrique du groupe prétraité par la curcumine 50mg/Kg

apparaît d'un aspect presque équivalent à celui observé chez le groupe témoin (Figure 22).

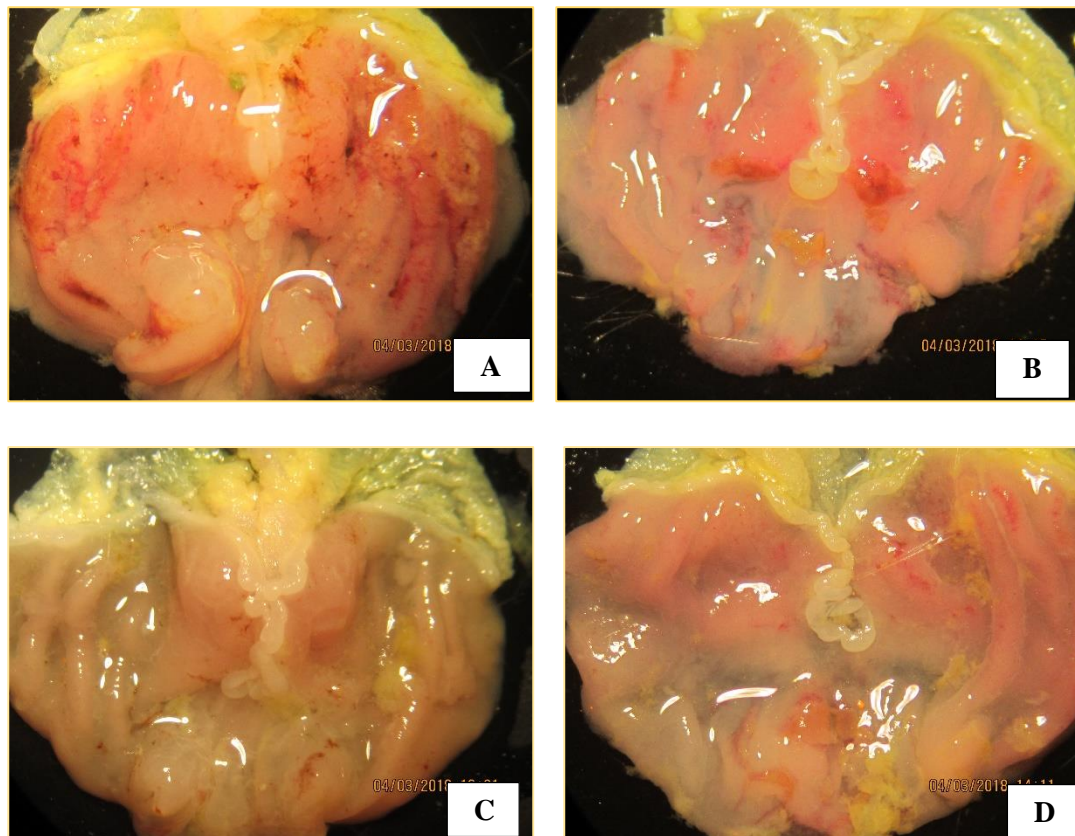


Figure 22. Estomacs de souris traité par la curcumine 25mg/kg, (A), (B). Et curcumine 50 mg/kg, (C) et (D) (Photographie originale).

III.1.1.2 Evaluation du degré d'ulcération et d'inhibition de l'ulcère :

L'approximation des surfaces lésées relativement aux surfaces totales, à l'aide du logiciel Image J, a permis d'évaluer l'effet gastroprotecteur du médicament Misoprostol et de la Curcumine contre les lésions induites par l'agent ulcérogène (Éthanol). Les pourcentages d'ulcération ainsi que les pourcentages d'inhibition sont présentés sous forme d'histogramme (figure 23 et 24).

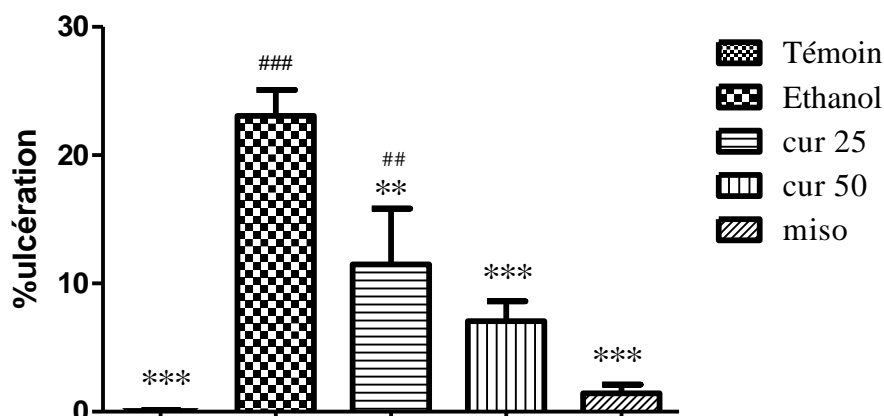


Figure 23. Effet de l'administration intragastrique du misoprostol et de la curcumine (25mg/kg) et la curcumine (50mg/kg) sur l'ulcère induite par l'éthanol chez les souris.

Le pourcentage d'ulcération est exprimé en moyenne \pm SEM pour $n = 6$, suivant le test one-way ANOVA suivi du test de Dunnett. ### $p < 0,001$ (très hautement significativement) différent du groupe témoin ; ## $p < 0,01$ (hautement significativement) différent par rapport au témoin ; *** $p < 0,001$ (très hautement significativement) différent du contrôle (Ethanol) ; ** $p < 0,01$ (hautement significative) différent du contrôle ; Ya pas une différence significatif entre l'action de la curcumine 50 et le misoprostol.

Le pourcentage d'ulcération obtenu au sein du groupe traité par l'éthanol est de $23,05 \pm 2,03$, révélant que l'éthanol a induit une altération très hautement significative ($p < 0,001$) comparant au groupe témoin. Le traitement à la curcumine 25 mg/kg induit un pourcentage d'ulcération de $11,47 \pm 4,3$ qui montré une différence hautement significatif ($p < 0,01$) par rapport au groupe témoin. Par contre aucune différence significative n'a été notée en comparant les muqueuses gastriques du groupe témoin et le groupe traité par la curcumine 50mg/kg chez lequel un pourcentage d'ulcération $7,07 \pm 1,54$ a été enregistré. Aussi, chez le groupe traité par le misoprostol aucune ulcération n'a été notée ce qui est vérifié par le calcul du pourcentage d'ulcération qui est de $1,44 \pm 0,67$ comparable au groupe témoin.

L'effet protecteur de la curcumine 50mg/kg et du misoprostol a été révélé par une différence très hautement significatif ($p < 0,001$) notée entre les groupes précédents et le groupe contrôle (Ethanol). Par contre la curcumine 25mg/kg a montré une différence hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe contrôle (Ethanol).

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour apprécier l'activité gastroprotectrice de chaque molécule (Figure 24).

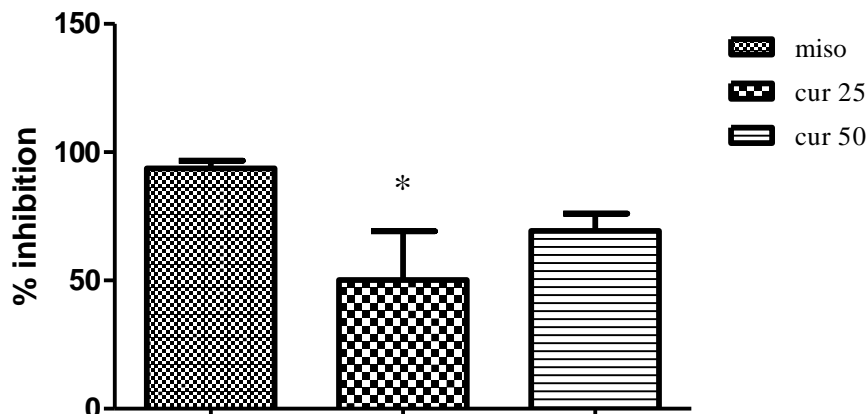


Figure 24. L'effet de l'administration orale du Misoprostol et de la curcumine 25mg/kg et à 50mg/kg sur l'ulcère induit par l'éthanol chez les souris. Le pourcentage d'inhibition est exprimé en moyenne \pm SEM pour $n = 6$, suivant le test one-way ANOVA suivi du test de Dunnett. * $p < 0,05$ significativement différent par rapport au groupe traité par le misoprostol ; y a pas une différence significative entre l'action de misoprostol et de la curcumine 50mg/kg.

Le pourcentage d'inhibition de l'ulcère après action de la curcumine 25mg/kg est de $50,21 \pm 18,91$ qui enregistre une différence significative ($p < 0,05$) par rapport au groupe traité par le misoprostol ayant exhibé un pourcentage d'inhibition de $93,71 \pm 2,91$. Par contre, il est à noter que l'action du misoprostol et de la curcumine 50mg/kg sont comparables ($P > 0,05$).

III.1.3 Evaluation de la microvascularisation

Pour avoir une idée sur le mécanisme gastroprotecteur de la molécule, l'évaluation de la microvascularisation est déterminée à l'aide du bleu d'Evan. La figure ci-dessous montre l'extravasation du bleu d'Evan dans les tissus après son injection dans la veine de la queue.

Des observations macroscopiques des estomacs, traités par l'éthanol (Figure 25 A) et à la curcumine 25 mg/kg (Figure 25 B), montre l'extravasation de bleu d'Evan dans le tissu gastrique de souris dont la concentration de ses derniers dépend du niveau des lésions gastriques.



Figure 25. Extravasation de bleu d'Evan dans les tissus, (A) (C) souris témoin ; (B) (D) souris a reçu le bleu d'Evan (photographie originale).

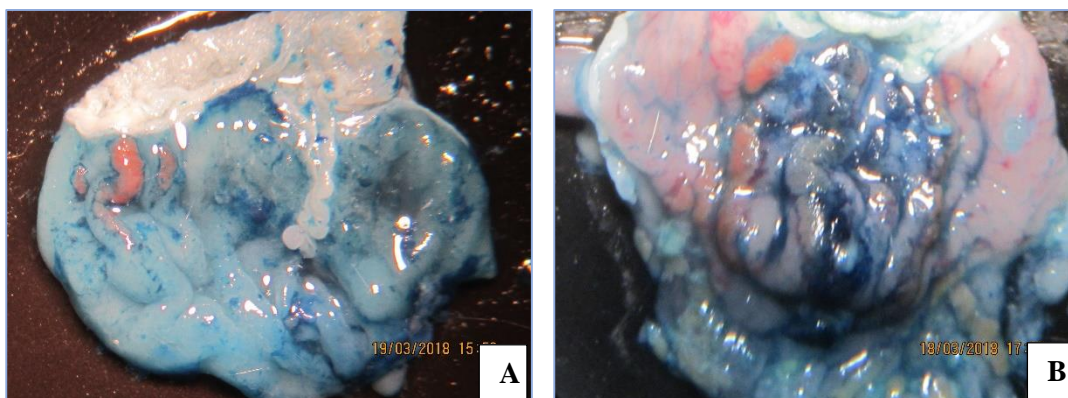


Figure 26. Estomacs ulcéré (A) et traité par la curcumine 25 mg/kg (B), après injection du bleu d'Evan (Photographie originale).

L'évaluation de la microvascularisation a été réalisée par la quantification de la concentration du bleu d'Evan extravasé et piégé dans la muqueuse des estomacs des différents groupes. Ainsi nous avons utilisé l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (l'absorbances du bleu d'Evan à partir des dilutions à moitié en fonction de sa concentration) (annexe N° 1) pour déterminer la quantité du bleu d'Evan retenu dans la muqueuse gastrique.

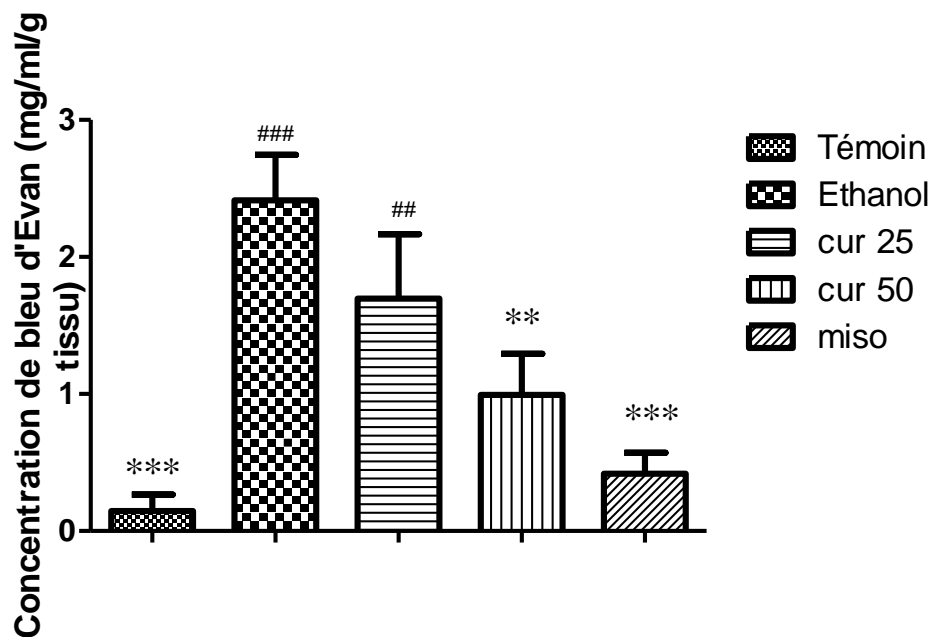


Figure 27 : La concentration du bleu d'Evan extraite à partir de la muqueuse gastrique des différents groupes. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM pour $n = 6$. Le test one-way ANOVA suivi du test de Dunnett. ### $p < 0,001$ (très hautement significative) par rapport au groupe témoin ; ## $p < 0,01$ (hautement significative) par rapport au groupe témoin ; ** $p < 0,01$ (hautement significative) par rapport au contrôle ; *** $p < 0,001$ (très hautement significative) par rapport au contrôle (Ethanol) ; Ya pas une déférence significatif entre l'action de curcumine 25mg/kg et le contrôle (éthanol).

La concentration du bleu d'Evan du groupe traité par l'éthanol est de $2,41 \pm 0,33$ mg/ml/g tissu, cette concentration révèle une différence très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin ou sa concentration est de $0,14 \pm 0,11$ mg/ml/g tissu. La concentration du bleu d'Evan enregistrée au sein de la muqueuse du groupe traité par la curcumine 25mg/kg a montré une différence très significative ($p < 0,01$) par rapport au témoin ce qui est confirmé par les observations macroscopiques et les pourcentages d'ulcérations calculé.

Il a été enregistré chez les groupes traités par le misoprostol et par la curcumine (50mg/kg), des concentrations de bleu d'Evan de $0,41 \pm 0,15$ et $0,99 \pm 0,29$ mg/ml/g tissu respectivement, révélant une différence très hautement significative par rapport au groupe contrôle. Aucune différence significative n'a été notée entre la concentration de bleu d'Evan enregistrée chez le groupe traité par la curcumine 25mg/kg et celle du groupe ulcéré, montrant la non efficacité de cette dose.

III.2 Discussion

L'ulcère gastrique est un trouble fréquent du système gastro-intestinal. La pathogenèse des ulcères gastriques est attribuée à un déséquilibre entre les facteurs protecteurs (mucus, bicarbonate, prostaglandine, flux sanguin, le système antioxydant, composés sulfhydryliques, oxyde nitrique et la prolifération cellulaire) et les facteurs agressifs (l'acide chlorhydrique, *Helicobacter pylori*, la pepsine, le stress, l'alcool, et l'utilisation continue des anti-inflammatoires non-stéroïdiens AINS) (Mezdour *et al.*, 2017).

Les risques qu'entraîne la prise de certains médicaments anti ulcéreux incitent les recherches à se tourner vers la phytothérapie. Dans ce cadre s'inscrit notre travail, ayant pour objectif l'évaluation de l'effet gastroprotecteur de la curcumine en utilisant un modèle d'ulcération chez l'animal induit par l'éthanol. L'activité de la curcumine sera comparée à un standard qui est le misoprostol.

L'administration de l'éthanol à 96% a provoqué une ulcération des estomacs des souris. Des lésions de la muqueuse gastrique ont été visibles, on cite des lignes et des bandes rouges, des œdèmes et des perforations ; ceci prouve que l'éthanol est un agent ulcérogène, et valide le choix de notre modèle. Les mêmes observations ont été rapportées dans plusieurs autres études (Robert *et al.*, 1979 ; Pan *et al.*, 2005; Zakaria *et al.*, 2011; Yeo *et al.*, 2018).

Les effets de l'éthanol sur la muqueuse gastrique sont complexes et multiples, ces derniers sont associés à une perturbation de l'équilibre entre facteurs de protections de la muqueuse gastrique et facteurs d'agressions (Mezdour *et al.*, 2017). L'approximation des surfaces lésées relativement aux surfaces totales, à l'aide du logiciel Image J, a permis de déterminer le pourcentage d'ulcération induit par l'éthanol qui est de $23,05 \pm 2,03$. Des études menées par Pan *et al.* (2005) ont obtenu des pourcentages similaires de l'ordre de $23,8 \pm 1,4\%$. L'éthanol pénètre facilement dans la muqueuse gastrique, il provoque une hyperémie diffuse des muqueuses. Il perturbe fortement les cellules de la muqueuse superficielle, notamment les mastocytes et libérant ainsi les médiateurs vasoactifs, et il provoque très rapidement une nécrose superficielle des cellules muqueuses en précipitant des constituants cytoplasmiques (Li *et al.*, 2008).

L'éthanol produit des lésions muqueuses nécrosantes par son effet toxique direct, en réduisant la sécrétion de bicarbonates et la production de mucus. De plus, il endommage les cellules endothéliales vasculaires de la muqueuse gastrique et induit une perturbation microcirculatoire et une hypoxie (**Massignani et al., 2009**).

Le Misoprostol est indiqué dans le traitement de l'ulcère gastrique ou duodéal évolutif, des lésions gastroduodénales induites par les AINS, et dans le traitement préventif des lésions gastriques et duodénales.

Le traitement par le misoprostol nous a montré un haut degré de protection de l'estomac vis-à-vis de l'éthanol, nos résultats sont soutenus par ceux des études antérieures (**Wilson, 1987 ; Graham et al., 1988; Sugiyama, 2015; Ali Khan et al., 2017**).

Le calcul des surfaces lésées a révélé que le misoprostol à 200µg a réduit le pourcentage d'ulcération montrant un pourcentage d'inhibition d'ulcération de 93,71±2,91%, ces résultats corroborent avec les résultats de **Graham et al. (1988)**, ayant obtenu un pourcentage d'inhibition équivalent. Selon **Wilson (1987)**, le misoprostol 200 µg a totalement inhibé les dommages de la muqueuse provoqués par l'éthanol et a enregistré un pourcentage de protection de plus de 90%, et pour **Drini (2017)** le misoprostol était efficace pour prévenir les ulcères gastriques à 74%.

Le misoprostol est un analogue de la prostaglandine E1 (**Drini, 2017**), c'est un médicament protecteur de la muqueuse gastrique, il présente un effet préventif contre l'ulcère gastrique (**Sugiyama, 2015**). Son effet gastroprotecteur est obtenu par l'inhibition de la libération d'acide gastrique et de la pepsine et améliore la résistance de la muqueuse gastrique, en stimulant la sécrétion du mucus (**Drini, 2017**). L'utilisation prolongée du misoprostol présente des effets indésirables comme des troubles digestifs (nausées, diarrhées...) (**Blanc et al., 2004**). Pour cela les recherches actuelles ont exploité le monde végétal pour chercher des molécules naturelles causant moins d'effet sur la santé de l'homme et qui retiennent l'efficacité de leurs homologues de synthèse. Notre étude s'est intéressée à l'évaluation de l'effet anti ulcéreux de la curcumine qui est un pigment naturel issu de *Curcuma longa*.

La curcumine a plusieurs effets bien documentés dont les effets antioxydant, anti-inflammatoire par la suppression de nombreuses voies de signalisation cellulaire, y

compris NF-kB et l'inhibition de la cyclooxygénase COX-2. De nombreuses études ont montré que la curcumine est un puissant agent antimicrobien (**Kunnumakkara et al., 2017**). De plus la curcumine n'est pas toxique pour l'homme (**Akram et al., 2010**). Toute la recherche menée sur les activités biologiques de la curcumine nous a motivé à la sélectionner pour cette étude. L'administration de la curcumine à dose différentes 25 mg/kg et 50 mg/kg à des souris chez lesquelles un ulcère gastrique a été induit par l'éthanol, a révélé un effet dose dépendant. Les observations macroscopiques des estomacs traités par la curcumine ont indiqué qu'à la dose de 50mg/kg la curcumine a protégé l'estomac avec une efficacité comparable ($69,32\pm 6,69\%$) à celle du médicament. Alors qu'une moindre efficacité a été obtenue avec la curcumine à 25mg/Kg.

Plusieurs études ont montré l'effet gastroprotecteur de la curcumine, **Czekaj et al. (2017)** ont rapporté que la curcumine a réduit en fonction de la dose, les lésions gastriques induites par l'éthanol. L'étude de **Chattopadhyay et al. (2006)** ont obtenu un pourcentage d'inhibition de l'ulcère de 82%, après administration de la curcumine 25 mg/kg en utilisant le même modèle expérimental. Cette différence pourrait être due à une variation de la qualité de la molécule.

Le prétraitement des souris avec la curcumine a réduit de manière significative l'incidence et la sévérité des érosions gastriques induites par l'éthanol. La curcumine a provoqué des changements favorables du volume et de l'activité de la peptique et du suc gastrique chez les animaux (**Czekaj et al., 2017**). L'activité gastroprotectrice de la curcumine pourrait aussi être liée à son effet antioxydant en piégeant les espèces réactives de l'oxygène, en régulant l'activité des métalloprotéinases matricielles (MMP), en prévenant la déplétion en glutathion, en inhibant la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines. Aussi, il a été montré que la dénudation des cellules épithéliales pendant l'endommagement de la lumière gastrique est inversée par la curcumine par ré-épithélialisation (**Swarnakar et al., 2004**). La curcumine pourrait augmenter la gastrine, la sécrétine du bicarbonate et des enzymes pancréatiques. Le curcuma a aussi été montré pour inhiber la formation d'ulcères causés par le stress, l'alcool, ligature pylorique, augmentant de manière significative le mucus de la paroi gastrique chez les rats soumis à ces lésions gastro-intestinales (**Akram et al., 2010**).

Kim et al. (2005) ont prouvé que l'administration orale de l'extrait de *Curcuma longa* a des rats ligaturés par *pylori*, a réduit la sécrétion d'acide gastrique et a protégé contre la formation de lésions de la muqueuse gastrique

Afin d'étudier le mécanisme gastroprotecteur du misoprostol et de la curcumine, la perméabilité microvasculaire du tissu gastrique a été étudiée en utilisant le bleu d'Evan. Le colorant bleu d'Evan a été utilisé pour doser les fuites des protéines vasculaires (**Saria et Lundberg, 1989**), le réactif se lie quantitativement à l'albumine *in vivo* (**Rawson, 1943**). Cette propriété a été largement utilisée pour quantifier les fuites de protéines en tant qu'indicateur d'une perméabilité vasculaire accrue induite par différents médiateurs. Dans des conditions physiologiques, l'endothélium est imperméable à l'albumine, de sorte que l'albumine liée au bleu d'Evan reste restreinte dans les vaisseaux sanguins (**Radu et Chernoff, 2013**). L'ulcère de l'estomac s'accompagne d'une réaction inflammatoire (**Zalecki et al., 2018**), provoquant une vasodilatation des capillaires sanguins, une exsudation des protéines plasmatiques, (**Cavaillon, 1998**), dont l'albumine.

L'éthanol a été rapporté par de nombreux auteurs pour produire des dommages gastriques à la muqueuse. La gravité de l'ulcère gastrique pourrait être principalement due à l'épuisement du mucus de l'estomac, et la perturbation de l'endothélium vasculaire entraînant une augmentation de la perméabilité vasculaire (**Laloo et al., 2014**). Selon **Peskar et al. (1986)**, la dégradation de la muqueuse gastrique induite par l'éthanol est caractérisée par des changements microcirculatoires tels que la fuite du plasma.

A partir de la détermination de la concentration du bleu d'Evan extravasé dans les estomacs de chaque groupe, il a été enregistré une augmentation de cette dernière au niveau des estomacs du groupe ulcéré, ceci est expliqué par une augmentation de la perméabilité microvasculaire et une extravasation des protéines plasmatiques dont le complexe albumine-bleu d'Evan vers tous le tissu gastrique. Lors de l'ulcère gastrique induit par l'éthanol, l'endothélium vasculaire devient perméable aux protéines plasmatiques.

La concentration du bleu d'Evan dans les estomacs du groupe témoin est faible révélant un aspect sain de la muqueuse gastrique. Le pré-traitement des souris au

misoprostol a réduit la concentration du bleu d'Evan au niveau du tissu gastrique. Cette concentration est comparable à celle trouvée au niveau du groupe témoin, ce qui prouve que la molécule de référence utilisée est un fort gastroprotecteur.

La concentration du bleu d'Evan déterminée au niveau des estomacs traités par la curcumine 25mg/kg révèle une perméabilité vasculaire causant les fuites des protéines plasmatique dont l'albumine. L'augmentation de la perméabilité vasculaire explique que la curcumine à la dose de 25mg/kg n'est pas assez efficace pour protéger l'estomac contre l'agent ulcérogène. Alors qu'à une concentration de 50mg/kg, il a été enregistré une diminution de la concentration du bleu d'Evan extrait de la muqueuse gastrique. Ainsi on peut conclure que la curcumine à cette dose a efficacement protégé l'estomac contre les lésions induites par l'éthanol.

L'extravasation du bleu d'Evan injecté par voie intraveineuse dans la muqueuse gastrique a été utilisée comme indicateur de la perméabilité vasculaire (**Naito et al., 1993**). Les résultats obtenus montrent que le degré des lésions enregistrées au niveau de chaque groupe (le calcul des pourcentages d'ulcération) était corrélé avec la perméabilité vasculaire gastrique (déterminée à partir du calcul de la concentration en bleu d'Evans dans le tissu gastrique après son administration par voie intraveineuse). De nombreuses études soutiennent nos résultats ayant rapporté que l'éthanol a provoqué de graves et multiples lésions dans la muqueuse gastrique et que cet agent nécrosant a nettement augmenté la perméabilité microvasculaire gastrique (**Szabo et al., 1985; Takeuchiet et al., 1990; Antonisamy et al., 2015**).

Les lésions vasculaires sont associées à une perméabilité vasculaire accrue avec une extravasation accrue bleu d'Evan de la vascularisation de la muqueuse dans l'estomac, L'augmentation de la perméabilité vasculaire précède le développement d'une hémorragie muqueuse manifestement visible et érosions (**Szabo et al., 1985**).

Selon **Antonisamy et al. (2015)**, le niveau de perméabilité vasculaire a été augmenté chez les animaux traité par l'éthanol 96 %, Les concentrations de bleu d'Evan des groupe ulcéré est environ de 2,25 mg/g de tissus, cette valeur est presque similaire à celle trouvé par notre étude 2,41 mg/ml/g tissu.

Lacy et al. (1990) ont évalué les effets du misoprostol, sur le volume plasmatique gastrique à l'aide du bleu Evans, le prétraitement au misoprostol suivi d'éthanol a significativement protégé contre les lésions hémorragiques, et des volumes plasmatiques tissulaires entraîné une réduction transitoire du volume plasmatique.

D'autres médicaments anti ulcéreux ranitidine et oméprazole, de même valeur que le misoprostol, ont montré une diminution significative de la quantité du bleu d'Evan dans la muqueuse gastrique de 51,73% et 46,00%, respectivement (**Laloo et al., 2014**). **Antonisamy et al. (2015)**, ont obtenu des résultats similaires à ceux obtenus dans notre étude (une concentration du bleu d'Evan de 0,45 mg/g tissu chez les groupes traités par l'oméprazol après induction de l'ulcère par l'éthanol). Aussi, dans une autre étude, menée par **Takeuchi et al. (1990)** il a été avancé que la perméabilité microvasculaire des muqueuses est réduite lorsque l'hypermotilité était inhibée par un prétraitement avec de l'atropine.

Conclusion

La pathologie digestive est une maladie circonscrite, destructive et progressive qui est très répandue dans le monde. L'utilisation des médicaments a connu un essor important ces dernières années grâce aux propriétés thérapeutiques qu'ils procurent. Les traitements chimiques dans le cas de l'ulcère engendrent des effets secondaires délétères et non négligeables. Notre étude avait pour but d'évaluer l'effet gastro-protecteur de la curcumine, pour cela, nous avons adopté le modèle d'ulcération induit par l'éthanol chez l'animal. L'effet de la molécule a été comparé à un traitement de référence qui est le misoprostol.

L'effet gastroprotecteur a été évalué en mesurant le taux d'extravasation du bleu d'Evan dans la muqueuse gastrique. Cette approche a été utilisée comme indicateur de la perméabilité vasculaire. Les niveaux du bleu d'Evan extraits de la muqueuse après son injection intraveineuse au niveau de la queue reflétant les dommages de la muqueuse infligés par l'éthanol ont été évalués par la mesure d'absorbance à 610nm. Le prétraitement des souris par la curcumine à dose de 50 mg/kg a réduit de manière très hautement significative le taux du bleu d'Evan extrait de la muqueuse. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus avec le standard (Misoprostol), cependant la curcumine à 25 mg/kg s'est révélée moins efficace.

Les résultats obtenus nous ont permis de suggérer que la curcumine a la capacité d'inhiber et de prévenir l'inflammation de la muqueuse gastrique, en réduisant la perméabilité microvasculaire de la muqueuse.

Des études complémentaires pourraient être réalisées dans le but :

- ✓ Tester d'autres méthodes en utilisant d'autres facteurs ulcérogènes.
- ✓ Utiliser d'autres doses de la curcumine pour une meilleure efficacité.
- ✓ S'approfondir sur le mode d'action de la curcumine en ciblant d'autres voies, à savoir inhibition de la pompe et effet sur le potentiel antioxydant.
- ✓ Elucider les mécanismes d'action de la curcumine contre l'ulcère gastrique.

Références Bibliographiques

Ajaikumar, B.K., Devivasha, B., Ganesan, P., Javadi M., Nand, K.R., Sahdeo, P., Bharat, B.A. (2017). Curcumin The golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. *British Journal of Pharmacology*, 174:1325 –1348.

Akram, M., shahab – uddin., Afzal, A., Usmanghani, K., Abdul, H., Mohiuddin, E., Asif,M. (2010). Curcuma longa and curcumin. *Romanian.journal of .biology-plant biology*, 55 (2): 6572.

Alarcon, D.L.L.C., Martin, M.J., Marhuenda, E. (1992).gastric anti-ulcer activity of silymarin, a lipoxygenase inhibitor in rats. *Journal pharmacy and pharmacology*, 44: 929-931.

Alcaraz, M.J., Tordera, M. (1988). Studies on the gastric antiulcer activity of hypolaetin-8-glucoside. *Phytotherapie*, 2: 85-88.

Ali Khan, M.S., Nazan, S., Mat Jais, A.M. (2017). Flavonoids and anti-oxidant activity mediated gastroprotective action of leathery murdah, terminalia coriacea (Roxb.) wight & arn. Leaf methanolic extract in rats. *Arquivos De Gastroenterologia*, 54(3):183-191.

Antonisamy, P.A., Uduraipandiyam, V .C., Valanarasu, M.C., Aravinthan A.A, Abdullahal-dhabi, N.C., Ignacimuthu, S.,Choon C. K.D, Kim, j-h.(2015). Protective effects of friedelin isolated from azima tetracantha lam against ethanol-induced gastric ulcer in rats and possible underlying mechanisms. *European journal of pharmacology*, 750: 167-175.

Bernier, J. J. (1984). Physiologie de la digestion : chez l'homme normal et l'opéré du tube digestif. 2^{ème} édition .paris. P 3-4.

Blanc, B., Jamin, C., Sultan, C. (2004). Traité de gynécologie médicale. Édition springers- verlag France, paris. p 233.

Carpenito, L.J. (1997). Plans de soins et dossier infirmier : diagnostics infirmiers et problèmes. Edition de Boek et Larcier s.a. p 199.

Cavaillon, N. H. (1998). La réponse inflammatoire. Première partie. *La revue de médecine interne*, 19: 585-8.

Chambon, J-P., Zerbib, P., Khoury-helou, A. (2012). Pathologies Vasculaire de tube digestif. Édition Springer- Verlag, France. P 160-161.

Chattopadhyay, I., Bandyopadhyay, U., Biwas, K., Maity,P., Banerjee, R.K. (2006).Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen .*Free radical biology medicine*, 40:1397–408.

Czekaj, R., Majka, J., Magierowska K., Sliwowski Z., magierowska, M.P.R., Ptak-belowska, A., Surmiak, M., Kwiecien S., Brzozowski, T. (2017). Mechanisms of curcumin-induced gastro protection against ethanol-induced gastric mucosal lesions. *Journal of gastroenterology*, 53(5):618-630.

Deive, A.C., Alma F. D .L., Saulo R. L. R., Edilberto, R. S., Otilia, D .L. P., Vietla, S. R et Flavia, A. S. (2008). Gastro protective effect of a flavone from lonchocarpus araripensis benth. (Leguminosae) and the possible mechanism. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 60: 391–397.

Drini, M. (2017). Peptic ulcer disease and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Aust Prescr*, 40(3) :91-93.

Edeas, M. (2006). La curcumine. Phytothérapie, édition springer. 5:230-233.

Gosling, J.A., Harris, P.F., Whitmore, I., Willan, P. L.T. (2003). Anatomie humaine : Atlas en couleurs. 2^{ème} édition De Boeck Supérieur. p 144.

Graham, D.Y., Agrawal, N.M., Roth, S.H. (1988). Prevention of NSAID-induced gastric ulcer with misoprostol: multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *The lancet*, 332(8623) :1277-1280.

Hammoudi, S. (2010). Anatomie de l'appareil digestif. By Hammoudi, S.p 146-182.

Kierszenbaum, A.L. (2006). Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. 1^{er} édition de Boeck et Larcier, Bruxelles. p 412-414.

Kim, D.C.1, Kim, S.H, Choi, B.H, Baek, N.I, Kim, D., Kim, M.J, Kim, K.T. (2005). Curcuma longa extract protects against gastric ulcers by blocking h2 histamine receptors. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(12):2220-4.

Kirkiacharian, S. (2010). Guide de chimie médicinale et médicament .édition TEC et DOC, paris. p 83.

Lacy, E.R., Hund, p., Tietge, J. (1990). Effects of misoprostol, cimetidine, and ethanol on rat gastric plasma volume and morphology. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 12: 158-69.

Laloo, D., Prasad, S.k., Sairam, K., and Hemalatha. S. (2014). Gastro protective activity of polyphenolic-rich extract of *potentilla mooniana*. *Pharmaceutical biology*, 52(12) : 1532–1542.

Li, C-Y., De Xu, H., Bing, T.Z., Chang, H-I ., Rhee, H-I. (2008). Gastroprotectiv effect of cyanidin 3-glucosideonethanol-induced gastric lesions in rats. *Alcohol*, 142:683–687.

Li, J., Liangb, X., wangb, Q., Breyer, R.M., Mccullougha, L., Andreassonb, K. (2008). Misoprostol, an anti-ulcer agent and pge2 receptor agonist, protects against cerebral ischemia .*neuroscience letters*, 438:210–215.

Litschgi, F. (2012). En finir avec les problèmes d'acidité gastrique. Édition les alchimistes Mulhouse .p 70-71.

Lorrain, E. (2013). La phytothérapie. Édition la Boétie. p 224.

Marieb, E.N., Hoehn, K. (2015). Anatomie et physiologie humaines. *9ème édition du renouveau pédagogique Inc.* (erp). P 1018-1022.

Massignani, J.J., Lemos, M., Maistro, E.L., Schaphauser, H.P., Jorge, R.F., Sousa,J.P., Bastos, J.K., Deandrade, S.F. (2009). Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharisd racunculifolia* on different experimental models in rats. *Phytotherapy Research*, 23:1355–1360.

Mezdour, H., Hanfer., Mourad., Menad, A., Ameddah ,S. (2017). Oxidative stress and its relationship with the emergence of various stomach damages. *Batna Journal of Medical Sciences*, 4:145-148.

Michael, N. (2017). Pharmacologie médical. 6em édition de Boeck supérieur p 24.

Murakami, S., Muramatsu, M., Otomo, S. (1992). Gastric H⁺, K⁺-ATPase inhibition by catechins. *Journal pharmacy and pharmacology*, 44: 926-928.

Naito, Y., Yoshikawa, T., Kaneko, T., Inuma, S., Nishimura, S., Takahashi, S., Kondo, M. (1993). Role of oxygen radicals in indomethacin induced gastric mucosal micro vascular injury in rats. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 17:99-103.

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

Parmar, N.S. (1983).the gastric anti-ulcer activity of naringenin, a specific histidine decarboxylase inhibitor. *International Journal of Tissue Reactions*, 4: 415-420.

Peskar, B.M., Lange, K., Hoppe, U. (1986).ethanol stimulates formation of leukotriene c4 in rat gastric mucosa. *Prostaglandins*, 31(2):283-293.

Radu, M et Chernoff, J. (2013). An in vivo assay to test blood vessel permeability. *Journal of visualized experiments*. (73) e50062.

Rainova, I., Nakov, N., Bogdanova, S., Minkova, E., Taneva-Stoytcheva, D. (1988) Ulceroprotective activity of the flavonoids of *Genista rumelica* Vel. *Phytotherapy Research*, 2: 137-139.

Ravens, P.H., Johnson, G.B., Mason, K.A., Losos, J.B., Singer, S. (2017). Biologie .4^{ème} édition de Boeck supérieur. p 1032.

Rawson, R.A. (1943). The binding of t-1824 and structurally related diazo dyes by plasma proteins. *American journal of physiology*, 138:708-717.

Reyes, M., Martín, C., Alarcon, D.L.L.C., Trujillo, J., Toro, M.V., Ayuso, M.J. (1996). Antiulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Erica andevalensis* cabezudo-rivera. *Zeitschrift für Naturforschung C* 51(7-8):563-9.

Rhoades, R.A et Bell, D.R. (2009). Medical physiology: principles for clinical medicine .3^{ème} edition Lippincott William et Wilkins .p 275.

Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C., Hanchar, A.J. (1979). Cytoprotection by Prostaglandins in rats, prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCL, NaOH,Hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology*, 77: 433-443.

Sarai, A et Lundeberg, J. m. (1989). Evans blue fluorescence: quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues. *Journal of neuroscience methods*, 41-49.

Sherwood, L., Klandorf, H., Yanecey, P. (2016). Physiologie animale .1ère édition, de Boek supérieure s.a. p 681.

Sherwood., L. (2015). Physiologie humaine. 3ère édition de Boeck supérieur. p 453-454.

Sugiyama T. (2015). Mucosal protective drugs. *Nihon Rinsho*, 73(7):1147-52.

Swanker, S., Ganguly, K., Kudu, P., Banerjee, A., Sharma, P.M. et Anamika, V. (2004). Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases-9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. *The journal of biological chemistry*, 280(33):9409-9415

Szabo, S., Trier, J.S., Brown, A., Schnoor, J. (1985). Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology*, 88:228-36

Takeuchi, K., Okada, M., Ebara, S., Osano, H. (1990).Increase micro vascular permeability and leion formation during gastric hypermortality caused by indomethacin and 2-deoxy-D-glucose in the rat *Journal of Clinical Gastroenterology*, 12:76-84.

Wilson, D. E. (1987). Antisecretory and mucosal protective actions of misoprostol. *The American journal of médecine*, 83(1): 2–8.

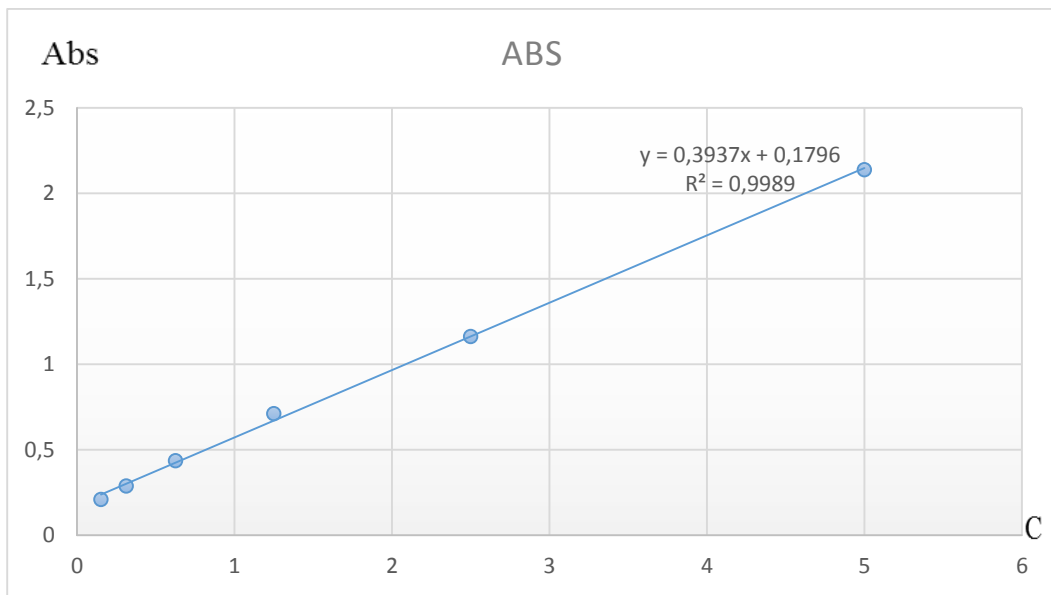
Yeo, D., Hwang, S.J., Kim ,W.J., Youn, H.J., Lee, H.J.(2018). The aqueous extract from *Artemisia capillaris* inhibits acute gastric mucosal injury by inhibition of ROS and NF-kB. *Biomed Pharmacother*, 99:681-687.

Zakaria, Z.A., Abdul Hisam, E.E., Rofiee, M.S ., Norhafizah, M. ., Somchit, M.N ., Teh, L.K ., et Salleh, M.Z. (2011). *In vivo* antiulcer activity of the aqueous extract of *Bauhinia purpurea* leaf. *Journal of Ethnopharmacology*, 137:1047– 1054.

Zalecki, M., Pidsudko, Z., Frankeradowiecka, A., Wojtkiewicz, J., Kaleczyc, J. (2018). Galaninergetic intramural nerve and tissue reaction to antral ulcerations. *Neurogastroenterol motil*, e13360.

Annexe

Annexe



Annexe N° 1 : La courbe d'étalonnage du bleu d'Evan.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité gastroprotectrice de la curcumine en utilisant un modèle expérimental d'induction de l'ulcère chez l'animal par l'éthanol. Deux paramètres ont été examinés à savoir une analyse macroscopique et la détermination des pourcentages d'ulcération. L'activité anti ulcérogène de la curcumine 25 mg/kg et 50 mg/kg a été comparée à celle du misoprostol, Les résultats ont montré que la curcumine à 50mg/kg révèle un pourcentage d'inhibition de $69,32 \pm 6.69\%$ comparable à celui exhibé par le misoprostol ($93,71 \pm 2.91$). Pour avoir une idée sur le mécanisme d'action de la molécule, la perméabilité vasculaire a été évaluée au niveau du tissu gastrique de souris. L'extravasation du bleu d'Evan dans la muqueuse gastrique a été utilisée comme indicateur de la perméabilité vasculaire. La concentration du bleu d'Evan a été significativement diminué par le misoprostol et la curcumine 50 mg/Kg atteignant 0.41 mg/ml/g tissus et 0.99 mg/ml/g tissus, respectivement comparativement au groupe ulcéré (2.41 mg/ml/g tissus).

Les résultats obtenus confirment la validité de l'utilisation de ce composé naturelle dans la médecine traditionnelle et offrent un espoir pour le développement d'une thérapie antiulcéreuse efficace sans effets secondaires.

Mots clés : Ulcère gastrique, microvascularisation, gastroprotecteur, curcumine.

Abstract

The objective of this work is the evaluation of the gastroprotective activity of curcumin using an experimental model of ethanol-induced ulcer in animals. Two parameters were examined namely a macroscopic analysis and the determination of the ulceration percentages. The anti-ulcerogenic activity of curcumin 25mg / kg and 50 mg/kg was compared to that of misoprostol. The results showed that curcumin at 50 mg/kg revealed an inhibition percentage of $69.32 \pm 6.69\%$ comparable to the one exhibited by misoprostol (93.71 ± 2.91). To get an idea of the mechanism of action of the molecule, vascular permeability was evaluated in mouse gastric tissue. Evans blue extravasation in the gastric mucosa was used as an indicator of vascular permeability. The concentration of Evan's blue was significantly decreased by misoprostol and curcumin 50 mg / kg reaching 0.41 mg / ml / g tissue and 0.99 mg / ml / g tissue, respectively compared to the ulcer group (2.41 mg / ml / g tissues).

The results confirm the validity of the use of this natural compound in traditional medicine and offer hope for the development of effective antiulcer therapy without side effects

Key words: Gastric ulcer, microvasculature, gastroprotectant, curcumin, misoprostol.

المخلص

الهدف من هذا العمل هو تقييم الجسم الحي للنشاط الهضمي للكرميين باستخدام نموذج تجريبي لتحريض القرحة في الحيوانات مع الإيثانول. تم فحص اثنين من المعلمات وهما التحليل العياني وتحديد نسب التقرح. نشاط الكرميين 25مغ/كغ و 50 مغ/كغ المضادة للقرحة كانت مقارنة بنشاط الميسوبروستول، أظهرت النتائج أن الكرميين 50 مغ/كغ يكشف عن نسبة تثبيط $69.32 \pm 6.69\%$ مقارنة مع الذي أظهره الميسوبروستول (93.71 ± 2.91) للحصول على فكرة عن آلية عمل الجزيء، تم تقييم نفاذية الأوعية الدموية في نسيج المعدة بالفأر. تم استخدام التسرب من إيفان الأزرق في الغشاء المخاطي في المعدة كمؤشر لنفاذية الأوعية الدموية. وقد انخفض تركيز إيفان الأزرق بشكل كبير من قبل الميسوبروستول والكرميين 50 مغ / كغ إلى 0.41 ملغ / مل / غ من الأنسجة و0.99 ملغ / مل / غ من الأنسجة، على التوالي مقارنة مع مجموعة متقرحة (2.41 ملغ / مل غ من الأنسجة)

النتائج تؤكد صحة استخدام هذا المركب الطبيعي في الطب التقليدي وتقديم الأمل لتطوير العلاج المضاد الفعال دون آثار جانبية.

الكلمات المفتاحية: قرحة المعدة، الأوعية الدموية الدقيقة، حامي المعدة، الكرميين، الميزوبروستول.