

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Science Biologique

Option : Pharmacologie moléculaire

Thème

**Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait
éthanolique de *Clematis flammula* sur l'ulcère
gastrique induit chez les souris par le stress**

Présenté par :

HADDAB Kenza et MOUSSAOUI Djamila

Devant les membres de jury :

M ^r Bribi N.	Maître Assistant A, Université de Bejaia	Président
M ^{me} Laib Y	Maître Assistant A, Université de Bejaia	Examineur
M ^{me} Sebaihi S	Maître Assistant A, Université de Bejaia	Promotrice

Année Universitaire : **2015/2016**



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.

A M^{me} Sebaihi, qui a accepté de nous encadrer, on vous remercie pour tous vos conseils et remarques qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier les membres du jury, M^r Bribi. N pour avoir accepté de présider le jury et évaluer notre travail.

On remercie vivement M^{me} Laib. Y pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier M^{me} Atmani, M^{me} Ayouni, M^{me} Rahmani, également à toute l'équipe de laboratoire de génétique

Farah pour sa gentillesse, son aide, sa disponibilité tout le long de notre travail et surtout pour sa patience.

et ces conseils merci pour tout.

On tient à exprimer nos reconnaissances à tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant tout le cursus universitaire.

Tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à nos familles pour la réalisation de notre travail.



Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et
Source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour
ma réussite, que dieu te garde, à toi*

Mon père : HADDAB hocine

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de
mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman Salîha que j'adore.*

A ma sœur : Sonia et mes frères : Massi, Tarik, Dani

*Pour votre soutien et encouragements, vous occupez une place particulière
dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un radieux plein de
bonheurs et de succès.*

A tous ceux qui me sont chers de près et de loin

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance

Pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter

A tous mes professeurs :

Leur générosité et leur soutien m'obligent de leurs témoigner mon profond respect

Et ma loyale considération.

A tous mes amis : Linda, Hamama, Kahina, Katia, Tamazight, tassadit, Nora,

Amirouche ,et ma binome : Djamila.

En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments. En souvenir de tout ce qu'on a

Vécu.

En ensemble j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

Kenza

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et
Source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour
ma réussite, que dieu te garde, à toi*

Mon père : MOUSSAOUI Saleh

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de
mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman Fadhila que j'adore.*

A mes sœurs : Samira, Ouezna, Ouissem, Lina et Rima

*Pour votre soutien et encouragements, vous occupez une place particulière
dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un radieux plein de
bonheurs et de succès.*

A tous ceux qui me sont chers de près et de loin

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance

Pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter

A tous mes professeurs :

Leur générosité et leur soutien m'obligent de leurs témoigner mon profond respect

Et ma loyale considération.

A tous mes amis : Hanane, Sabrina, Samira, Hayet, Katia, Idir, et ma binome : Kenza

En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments. En souvenir de tout ce qu'on a

Vécu.

En ensemble j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

Djamila

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITE SUR L'ESTOMAC

I.1. Définition2

I.2. Anatomie descriptive2

I.3. Physiologie et histologie.....3

I.4. Les facteurs de protection et d'agression de la muqueuse gastrique.....5

I.4.1. Les facteurs protecteurs.....6

I.4.2. Les facteurs agresseurs7

CHAPITRE II : PHYSIOPATHOLOGIE GASTRIQUE

II.1. Ulcère de l'estomac.....9

II.2.1. Définition9

II.2.2. Physiologie de l'ulcère gastrique.....9

II.2. Aspect physiopathologique du stress.....11

II.2.1. Définition.....11

II.2.2. Réponse de l'organisme face au stress11

II.2.2. Le stress et l'ulcère gastrique.....12

II.3. La réaction inflammatoire.....14

II.4. Implication des radicaux libres dans la pathologie d'ulcère gastrique.....15

II.4.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ 16

II.4.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).....16

II.4.3. Radical hydroxyle (OH^{\cdot}).....16

II.4.4. L'oxygène singlet : 1O_2	17
II.5. Systèmes de défense antioxydants.....	17
II.5.1. Antioxydants enzymatiques interne.....	17
II.5.2. Antioxydants non enzymatique exogènes.....	20

CHAPITRE III : THERAPEUTIQUE DE L'ULCERE GASTRIQUE

III. 1. Traitements médicamenteux.....	21
III. 2. Traitement étiologique (Stress)	22
III.3. Traitements non médicamenteux.....	23
III.3.1 <i>Clematis flammula</i>	24
III.3.1.1 Description botanique.....	24
III.3.1.2. Classification de <i>Clematis flammula</i>	25
III.3.1.3. Origine et répartition géographique.....	25
III.3.1.4. Vertus Ethnobotaniques et pharmacologie.....	25

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1. Matériels.....	27
I.1.1. Réactifs et Appareillages.....	27
I.1.2. Matériels végétal.....	27
I.1.2.1. La récolte.....	27
I.1.2.2 Extraction des substances bioactives.....	27
I.1.3. Matériel animal.....	29
I.2. Méthode d'étude de l'activité anti-ulcère.....	29
I.2.1. Modèles d'ulcération.....	29
I.2.2. Induction des ulcérations.....	29
I.2.2.1. préparation des solutions	29
I.2.2.2. Répartition des souris.....	30
I.2.2.3. Protocole d'induction d'ulcère par le stress	30

I.2.3. Evaluation de l'activité anti-ulcère.....	32
I.2.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	33
I.2.5. Évaluation de la teneur des protéines dans l'homogénat d'estomac.....	34
I.3. Analyse statistique.....	35

Chapitre II : Résultat et discussion

II.1. Etude comparative des observations macroscopiques de différents échantillons.....	37
II.2. Evaluation des lésions par le calcul de surface.....	39
II.3. Évaluation de l'activité de la catalase et le pourcentage d'inhibition de H ₂ O ₂	43
Conclusion et perspectives	48

Références bibliographiques

Glossaire

Annexe

Liste des figures

Figure N 01 : Anatomie de l'estomac.....	3
Figure N 02 : Anatomie macroscopique interne de l'estomac.....	4
Figure N 03 : Anatomie microscopique de l'estomac.....	6
Figure N 04 : Régulation de la sécrétions gastrique.....	8
Figure N 05 : Classification anatomo- pathologique des pertes de substances gastrique..	9
Figure N 06 : Cascade hormonale lors d'une réponse au stress.....	12
Figure N 07 : Facteurs de lésions aigus de stress.....	14
Figure N 08 : Structure tétramérique de la catalase.....	18
Figure N 09 : Les deux étapes du mécanisme d'action de la catalase.....	19
Figure N 10 : Les feuilles et fleurs de <i>Clematis flammula</i>	24
Figure N 11 : Protocole d'extraction des substances bioactives à partir des feuilles de <i>Clematis flammula</i>	28
Figure N 12 : photographie originale de l'élevage des souris	29
Figure N13 : photographie originales montrant les différentes étapes de l'étude anti-ulcère.....	32
Figure N 14 : A) Estomac stressé ; B) estomac traité par l'eau physiologique (sain).....	37
Figure N 15 : A) Estomac traité par le bromazépan ; B) Estomac sain.....	38
Figure N 16 : A) Estomac traité à une dose de 25 mg/ kg ; B) Estomac traité à une dose de 50 mg/ kg ; C) Estomac traité à une dose de 100 mg /kg ; D) Estomac traité à une dose de 200 mg/kg.....	39
Figure N 17 : Représentation graphique du pourcentage d'ulcération (exprimé en moyenne \pm SEM pour N = 8 chez les différents groupes).....	40

Figure N 18 : Représentation graphique d'effet des dosages de <i>Clematis flammula</i> de l'activité de catalase (exprimé en moyenne \pm SEM pour N = 8).....	44
Figure N 19 : Représentation graphique du pourcentage d'inhibition de H ₂ O ₂	44

Liste des tableaux

Tableau I : Les différentes classes de médicaments utilisés contre l'ulcère gastrique.....	21
Tableau II : Classification taxonomique de <i>Clematis flammula</i>	25
Tableau III : Répartition des lots selon le traitement effectué.....	31
Tableau IV : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de la CAT.....	34
Tableau V : Résultats d'ulcération et d'inhibition par divers traitements.....	40

Liste des abréviations

- AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.
- ATP** : Adénosine triphosphate.
- AMPc** : Adénosine mono-phosphate cyclique.
- ATPase (H⁺/K⁺)** : Pompe à proton.
- BNZ** : Benzodiazépines.
- CAT**: Catalase.
- CMC** : Carbomethyl Cellulose.
- COX-1** : Cyclo-oxygénase 1.
- COX-2** : Cyclo-oxygénase 2.
- ECL**: Enterochromaffin-like cells.
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.
- GABA** : Acide gamma amino butyrique.
- HHS** : Hypothalamo - hypophyso surrénalien.
- PPSI** : Hyperpolarisation transitoire.
- GPx** : Glutathion peroxydases.
- GSH** : Glutathion réduit.
- GSSG** : Glutathion oxydé.
- H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène.
- HCL**: Acide chlorhydrique.
- HCO₃⁻** : Ions de bicarbonates.

H₂CO₃ : Anhydrase carbonique.

IPP : Inhibiteurs de la pompe à protons.

MDA : Malondialdéhydes.

PGs : Prostaglandins.

SGA: Syndrome general d'adaptation.

SOD: Superoxide dismutases.

UG : Ulcère gastrique.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

Introduction

L'estomac est continuellement exposé à une large gamme de substances qui ont la capacité de provoquer des dommages épithéliaux, tels que l'acide chlorhydrique et des enzymes digestives (**Wallace, 2005**). Dans des conditions normales, l'intégrité de la muqueuse est maintenue par des mécanismes de défense. Lorsque les facteurs nocifs submergent une défense intacte de la muqueuse ou lorsque la défense de la muqueuse est altérée en quelque sorte, une blessure des muqueuses peut se produire d'où l'apparition d'un ulcère gastrique (**Laine et al., 2008**).

L'ulcère gastrique (UG) est une perte de substances tissulaire d'un revêtement épithélial cutané ou muqueux s'accompagnant d'une lésion des plans tissulaires sous-jacents (**Levar et Lambert, 1959**). Ces lésions s'accompagnent souvent d'une inflammation de la muqueuse (**Samsong, 1980**). C'est une maladie qui affecte autant les hommes que les femmes (**Lapinus et Bajer, 2008**). C'est également une affection largement répandue dans le monde, environ une personne sur dix en souffre durant sa vie (**Aziz et al., 2012**).

Le traitement actuel d'ulcère gastrique repose sur l'utilisation de plusieurs médicaments, ces derniers montrent une efficacité limitée, et sont souvent associés à des effets secondaires graves (**Boligon et al., 2014**). C'est pourquoi dans les pays en voie de développement, 80 % de la population se penchent vers la phytothérapie (**OMS, 2010**), en utilisant différentes plantes, ces dernières ont constitué une source importante de molécules bioactives dotées d'effets thérapeutiques puissants.

Notre choix s'est porté sur une plante utilisée dans certaines régions d'Algérie : la clématite de son nom latin (*Clematis flammula*). Il est rapporté pour être capable d'une variété d'activités biologiques, y compris l'activité antioxydante, anti inflammatoire, antirhumatismale...ect.

A cet effet, nous nous sommes fixé l'objectif d'évaluer l'activité gastroprotectrice de l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante, sur un modèle de souris soumises au stress, en mesurant différents paramètres, tels que l'activité de la catalase (CAT).

Chapitre I :
Généralités sur
l'estomac

I.1. Définition

L'estomac est un élargissement du tube digestif en forme de sac, qui est en continuité avec l'œsophage (Menche, 2006). Il est situé dans la partie gauche de l'épigastre. L'estomac est en rapport avec le foie à droite, le pancréas en arrière, le diaphragme en haut et les intestins en bas (Pocock et Richards, 2004).

I.2. Anatomie descriptive

➤ **Forme**

L'estomac est la portion la plus dilatée du tube digestif, il ressemble à une poche en forme de « J » majuscule quand il est rempli (Marieb, 2008). D'un point de vue anatomique, il est doté de plusieurs parties (Figure 01)

- **Le cardia:** c'est un orifice d'abouchement de l'œsophage dans l'estomac, il s'ouvre au passage des aliments et se referme juste après (Martin, 2004).
- **Le fundus gastrique ou grosse tubérosité:** est la région située en dessus de l'orifice du cardia, il contient habituellement l'air avalé (en moyenne 50 ml) (Ernest *et al.*, 1993).
- **Le corps:** est la partie moyenne qui va en rétrécissant vers le bas et se prolonge par l'antra pylorique, lui-même débouchant sur le pylore en forme d'entonnoir (Manuelle, 2008).
- **Le pylore:** est la partie terminale de l'estomac, il comprend l'antra et le canal pylorique qui communique avec le duodénum par l'orifice pylorique, ce dernier est fermé par le sphincter pylorique qui règle l'évacuation du contenu gastrique (Ramé et Théron, 2006).

La face latérale convexe de l'estomac est nommée grande courbure et sa face médiane concave, petite courbure (Marieb et Hoehn, 2014).

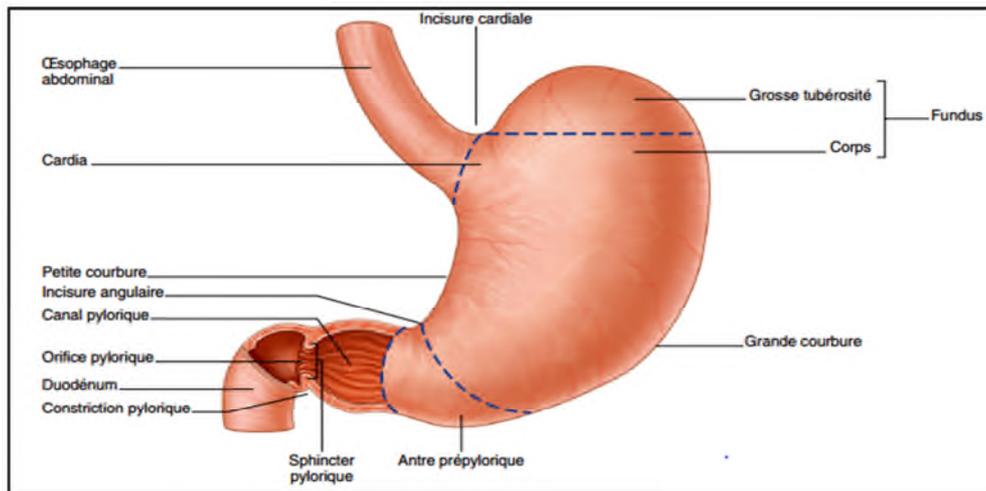


Figure N° 01: Anatomie de l'estomac (Drake *et al.*, 2011).

Selon **Ramé et Thérond. (2006)**, les dimensions moyennes de l'estomac sont pour:

- Sa longueur, 25 cm ;
- Son épaisseur, 12 cm ;
- Sa capacité gastrique maximale est d'environ 2 litres.

➤ Configuration interne

Lorsque l'estomac est vide, il s'affaisse sur lui-même et présente intérieurement de très nombreux replis longitudinaux que nommés «plis gastriques», la distension de ces derniers permet d'accroître la capacité de réservoir de cet organe (**Manuelle, 2008**).

I.3. Physiologie et histologie

a) La paroi gastrique

La paroi de l'estomac est très épaisse, elle est formée de quatre tuniques qui caractérisent la majeure partie du tube digestif, elle comprend de la superficie à la profondeur (**Marieb, 2014**) (Figure 02) :

▪ La séreuse

La séreuse gastrique est représentée par les deux feuillets du péritoine viscéral et pariétal qui tapissent sa face antérieure et postérieure, et qui forment des replis au niveau des courbures, qui servent de moyen de fixité à l'estomac (**Hammoudi, 2010**).

▪ La musculuse

La musculuse gastrique est très développée en raison de son activité motrice importante dans la digestion des aliments, elle comprend trois couches musculaires superposées (Waugh et Grant, 2011) :

- couche musculaire superficielle constituée de fibres longitudinales ;
- Une couche musculaire moyenne constituée de fibres circulaires, bien développée au niveau du canal pylorique ;
- Une couche musculuse profonde constituée de fibres obliques.

▪ La sous-muqueuse

La sous-muqueuse est un plan de glissement lâche situé entre la muqueuse et la couche musculaire profonde, elle comprend les éléments vasculaires et nerveux de l'estomac (Hammoudi, 2010).

▪ La muqueuse

La muqueuse est la couche cellulaire la plus interne entre la lumière et la musculuse muqueuse, tapisse la totalité de la cavité de l'estomac, elle contient de nombreuses glandes (Marieb, 1999).

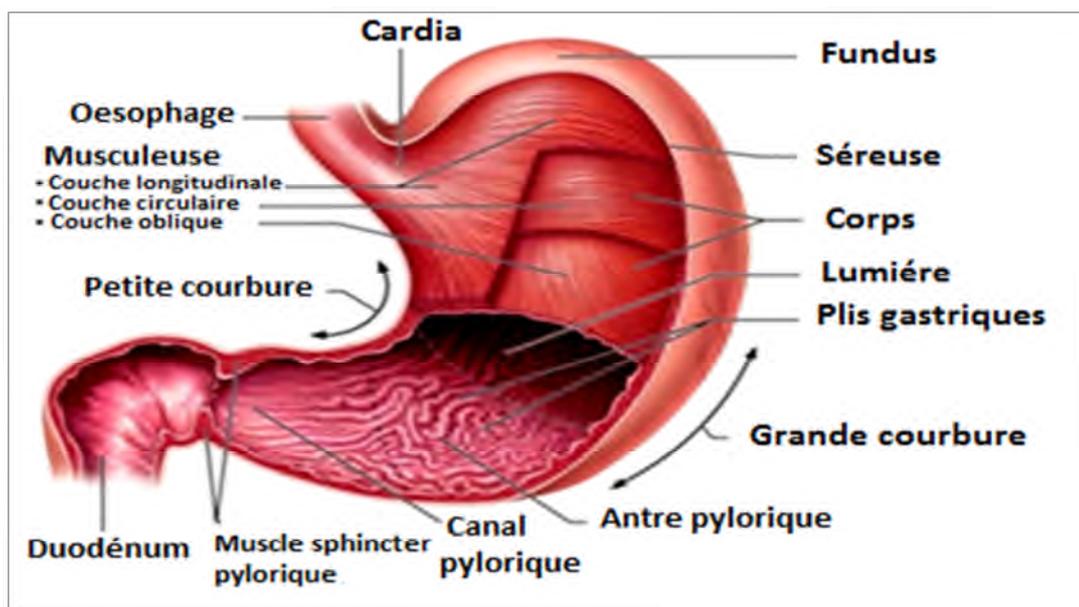


Figure N°02 : Anatomie macroscopique interne d'estomac (Marieb, 2014)

b) Les structures sécrétoires

La muqueuse gastrique est constituée par un épithélium de recouvrement, dont la surface est parsemée de nombreuses cryptes, qui se plongent jusqu'aux glandes gastriques, ces glandes se diffèrent selon leur localisation au sein de l'estomac (Marieb, 1999) (Figure 03).

➤ Les glandes fundiques

Elles sont composées de quatre types de cellules différentes (Marieb, 2014):

- **Les cellules principales:** elles sont petites, polyédriques et prédominent au milieu et au fond des glandes, elles produisent le pepsinogène ;
- **Les cellules pariétales:** appelées aussi cellules bordantes ou oxyntiques, sont situées dans la région apicale des glandes, responsables de la sécrétion de l'acide chlorhydrique (HCL) et le facteur intrinsèque (petite glycoprotéine indispensable à l'absorption de la vitamine B12) ;
- **Les cellules à mucus:** situées essentiellement au niveau du collet des glandes et dans leurs régions plus basales, elles produisent le mucus et le bicarbonate ;
- **Les cellules endocrines:** elles sont cellules peu nombreuses, elles secrètent la somatostatine.

➤ Les glandes pyloriques

Elles ont une forme tubulaire contournée, elles sont essentiellement constituées par des cellules à mucus qui forment un revêtement continu de mucus et par des cellules endocrines, les cellules G qui secrètent la gastrine et les cellules D qui secrètent la somatostatine (Lacour et Belon, 2015).

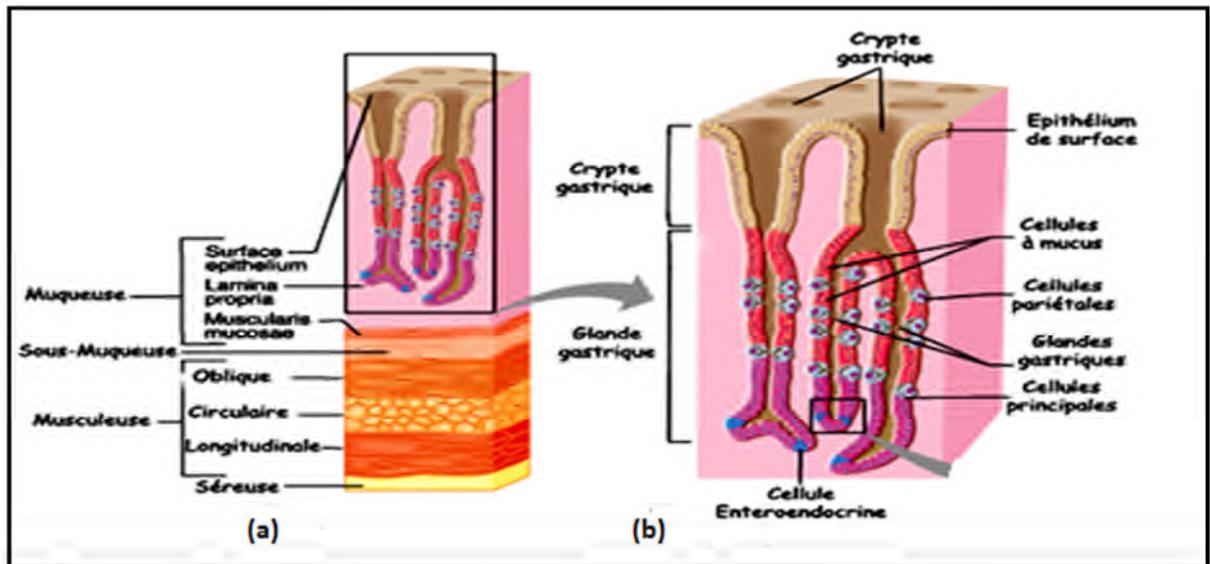


Figure N° 03 : Anatomie microscopique de l'estomac (Marieb et Hoehn, 2010).

(a) Tuniques de la paroi de l'estomac (coupe longitudinale).

(b) Agrandissement des cryptes de l'estomac et les cellules qui les composent.

Le produit ainsi formé par cette multitude de glandes sécrétrices est le suc gastrique, qui est un liquide acide (pH compris entre 1,5 et 2,5), incolore et visqueux, Le volume quotidien sécrété varie entre 2 et 2,5 litres, et le débit de sécrétion est rythmé par les repas (Beaugerie *et al.*, 2014).

Il contient 7 g/l de substances dissoutes, pour moitié organique (mucus, les facteurs intrinsèque, les pepsinogènes et la lipase gastrique) et pour moitié minérales (acide chlorhydrique, bicarbonates) (Lacour et Belon, 2015).

I.4. Les facteurs d'agression et de protection de la muqueuse gastrique

La muqueuse gastrique est continuellement exposée à des facteurs d'agression. Pour pouvoir résister à ses facteurs, l'estomac fait appel à plusieurs mécanismes de défense (Rozza *et al.*, 2013).

I.4.1. Les facteurs protecteurs

Les mécanismes qui participent à la protection de l'estomac sont (Silbernagl et Lang, 2012) :

a) **Le film muqueux**: gélifié d'une épaisseur de 0,1 à 0,5 mm, il protège la surface de l'épithélium ;

- b) Les ions de bicarbonate (HCO_3^-):** sécrétés par l'épithélium, ils diffusent dans le film de mucus ou ils vont tamponner les ions H^+ provenant de la lumière de l'estomac ;
- c) Les cellules épithéliales:** elles peuvent empêcher efficacement la pénétration des ions H^+ ou refouler vers l'extérieur ceux qui sont rentrés;
- d) 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.
- e) Les prostaglandines:** conservent l'intégrité de la barrière muqueuse gastrique en stimulant la sécrétion du mucus gastrique et de bicarbonates, freinant la sécrétion de HCl , elles permettent la dilatation des vaisseaux de la muqueuse et favorisent un meilleur apport en oxygène pour les cellules (**Dine et al., 2008**).

I.4.2. Les facteurs d'agression

- a) Le Pepsinogène :** est un précurseur enzymatique inactif transformé par l'acidité gastrique en une enzyme protéolytique active, la pepsine, cette dernière ne permet cependant pas une décomposition complète des protéines alimentaires mais laisse simplement subsister des morceaux grossiers (**Stevens et Lowe, 2006**).

b) L'acide chlorhydrique (HCl)

▪ Mécanisme de sécrétion

Il est sécrété par les cellules oxyntiques du fundus grâce à une pompe H^+/K^+ située dans le pôle apical (**Samsong, 1980 ; Marieb, 1999**). L'ion H^+ provient du métabolisme énergétique, produit l'ATP par l'activité cellulaire. Au cours de ce métabolisme, les protons produits sont utilisés par des accepteurs de protons mais peuvent également être utilisés pour la sécrétion de l'estomac, le CO_2 provenant du métabolisme énergétique s'associe avec de l'eau pour former l'anhydrase carbonique (H_2CO_3), cette anhydrase fournit l'ion H^+ qui est récupéré par la pompe H^+/K^+ ATP ase et libéré dans la lumière gastrique, les ions H^+ s'assoient à l'ion Cl^- pour former le HCl , l'ion Cl^- provient directement de l'espace interstitiel et est libéré à partir de deux pompes: $\text{HCO}_3^-/\text{H}^+$ et H^+/Cl^- (**Marieb, 1999**).

- **Régulation et contrôle de la sécrétion de HCl**

La sécrétion gastrique est continue, elle est contrôlée par un mécanisme conjoint neuro- hormonal comportant à la fois des agents de stimulation (gastrine, histamine, acétylcholine) et d'autres d'inhibition (Les somatostatines, La sécrétine) (**Beaugerie et al., 2014**) (Figure 04).

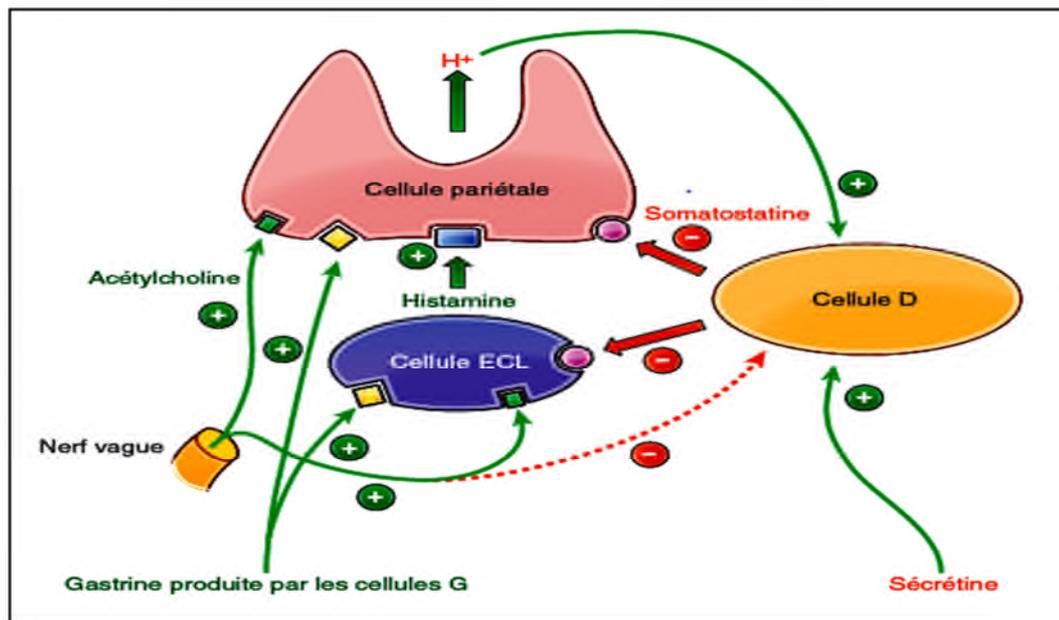


Figure N°04: Régulation de la sécrétion gastrique (**Beaugerie et al., 2014**).

La mise en jeu de la sécrétion gastrique se déroule normalement en trois phases dont les déroulements respectifs se chevauchent largement. Ce sont les phases céphalique, gastrique et intestinale (**Pocock et Richards, 2004**).

Chapitre II
Physiopathologie
gastrique

II.1. Ulcère de l'estomac

II.1.1. Définition

Ulcère de l'estomac (également appelé ulcère gastrique UG), est une plaie ouverte, caractérisée par une perte macroscopique de substance d'un épithélium cutané ou d'une muqueuse, atteignant en profondeur la musculature d'une part, et d'autre part par une réaction inflammatoire profonde et qui a pour particularité de ne pas avoir tendance à cicatriser spontanément, il est à différencier des érosions et abrasions (muqueuse) et ulcérations (sous – muqueuse) qui sont plus superficielles et n'atteignent donc pas la musculature et ne laissent pas de cicatrice en guérissant Il s'agit d'une affection chronique qui évolue par poussées, symptomatiques ou non, elle est aussi récidivante (Zeitoun *et al.*, (2014) (Figure 05).

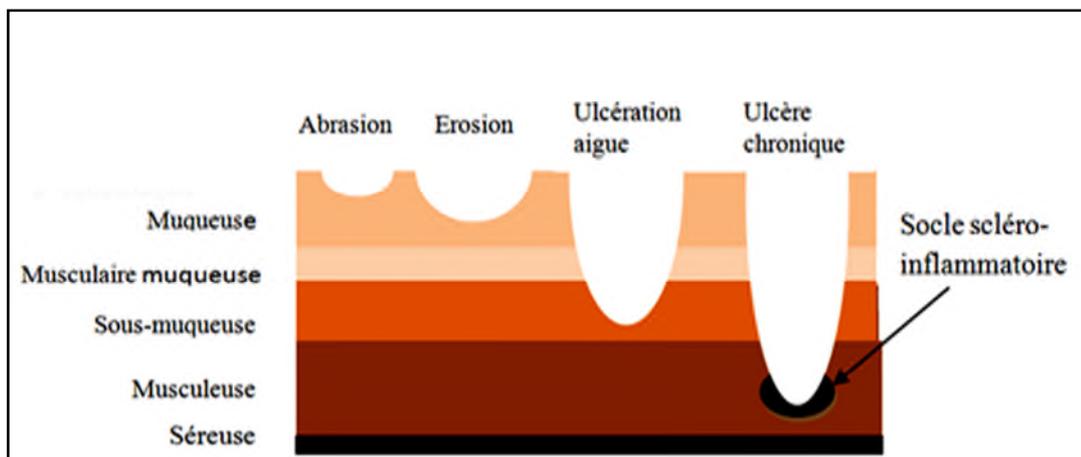


Figure N°05: Classification anatomo-pathologique des pertes de substance gastrique (Aziz *et al.*, 2012).

II.1.2. Physiologie de l'ulcère gastrique

La maladie d'ulcère gastrique se conçoit comme une rupture de l'équilibre entre les moyens de défense de la muqueuse gastrique et les facteurs d'agression, le facteur principal d'agression est la sécrétion acide de l'estomac d'où l'adage de Schartz : « pas d'acide, pas d'ulcère », l'ion acide (H⁺) provoque au contact de la muqueuse une réaction chimique entraînant une perte de substance, cette réaction prolongée et/ou répétée va aboutir à l'ulcère gastrique (CEDIM, 2005). Il existe des facteurs favorisant ce déséquilibre tel que :

➤ **L'infection à *Helicobacter pylori***

H. pylori est une bactérie spirillée Gram négatif dotée de flagelles, mobile sécrétant une uréase qui lui permet de survivre dans le milieu acide gastrique. en effet, l'uréase transforme l'urée gastrique en ammoniac NH_3 , qui tamponne les ions H^+ , créant un micro-environnement peu acide favorable à la bactérie (**Aziz et al., 2012**). Malheureusement, l'ammoniac est toxique pour les cellules épithéliales, et va, de concert avec d'autres produits sécrétés par *H. pylori* (protéase, catalase, phospholipase etc.) endommager la surface des cellules épithéliales, enclenchant de ce fait le processus de formation d'ulcère (**Bouarioua et al., 2007**).

➤ **Les Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les AINS inhibent la synthèse des prostaglandines en inhibant les cyclooxygénases (COX 1 et COX 2). L'inhibition de cette synthèse altère les mécanismes de défense de la muqueuse et favorise ainsi la survenue d'ulcères gastriques, en entraînant tout d'abord une diminution du flux sanguin muqueux, il survient ensuite une adhésion des polynucléaires à la paroi qui entraînent des lésions endothéliales et accentuent la baisse du débit sanguin muqueux, favorisant ainsi le processus inflammatoire dans la muqueuse digestive (**Lamarque, 2008**).

➤ **Tabac et l'alcool :**

Le tabagisme et la consommation d'alcool sont les deux pensées à être des facteurs étiologiques pour le développement d'UG, tandis que l'évidence sur le mécanisme et les effets seule de la consommation d'alcool sur la formation d'ulcère demeurent peu clairs, les études ont à plusieurs reprises prouvé que l'utilisation de cigarette est associée au plus grand risque d'ulcère. Spécifiquement, des données ont suggéré que le tabagisme ait un impact direct sur la formation, la sévérité, et la rechute d'ulcère puisque les cigarettes contiennent la nicotine, qui peut augmenter le risque de développer un ulcère par entraînant l'estomac à augmenter sa production d'acide gastrique et réduisant sa production du mucus, qui diminue la protection de la doublure d'estomac contre l'acide (**Goodwin et al., 2009**).

➤ Stress

Le stress a longtemps été incriminé comme étant le facteur principal du déclenchement voire même la cause d'un ulcère, Les personnes qui souffrent d'ulcère gastrique voient souvent les douleurs augmenter lorsqu'elles vivent une période particulièrement stressante (Lou, 2006).

II.2. Aspect physiopathologique de stress

II.2.1. Définition

Selon Hans Selye, le stress est un état qui se manifeste par un ensemble de réactions de l'organisme à l'action non spécifique des agents stressants physiques, chimiques ou biologiques. L'ensemble de ces réactions non spécifiques est appelé syndrome général d'adaptation (SGA) qui représente toutes les modifications non spécifiques, qui se développent dans l'organisme et dans le temps au cours de l'exposition continue à un agent stressant (Abdoulay, 2006).

II.2.2. Réponse de l'organisme face au stress

Le système nerveux sympathique stimule la libération de l'adrénaline et de la noradrénaline par les glandes surrénales, ces deux hormones agissent sur de nombreux organes : cœur, vaisseaux sanguins, cerveau... et ont pour but de préparer l'organisme à affronter un événement stressant et soudain (Hermans *et al.*, 2012).

Lorsque ce facteur stressant persiste l'axe hypothalamus – hypophyse - corticosurrénale est mis en action, le schéma ci-dessous (Figure 06) explique la cascade hormonale qui résulte (Hermans *et al.*, 2012).

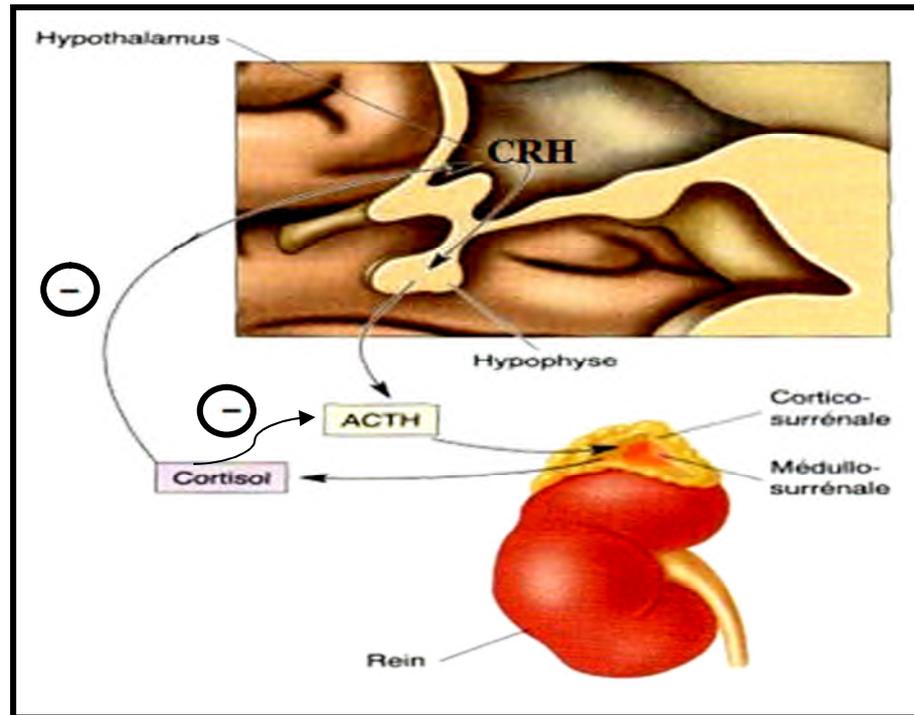


Figure N°06 : Cascade hormonale lors d'une réponse au stress (Ignacio *et al.*, 2012).

CRH : Corticotropin- releasing hormone; ACTH : Adénocorticotrope hormone.

La persistance du facteur stressant épuise les réserves énergétique de l'organisme, la fatigue s'installe et il se produit une dérégulation de plusieurs systèmes neuronaux et endocriniennes provoquent une élévation constante des glucocorticoïdes ceci est un état favorisant l'ulcération gastrique (Ignacio *et al.*, 2012).

II.2.3. Le stress et l'ulcère gastrique

Les facteurs déterminants des lésions sont la réduction du flux sanguin gastrique au niveau de la muqueuse et l'altération des cellules endothéliales (Lamarque., 2001) (Figure 07).

- **la réduction du flux sanguin**

L'activation du système nerveux sympathique par le stress, conduit à l'augmentation de la libération de catécholamines, vasoconstriction et la sécrétion de cytokines pro- inflammatoire ;

quand ces effets persistent, ils causent des dommages en brisant les défenses de la muqueuse gastrique, conduisant ainsi à des blessures et à l'ulcération (**Martindale, 2005**).

La Diminution de la circulation sanguine et la pauvre livraison d'oxygène par vasoconstriction induisent une hypoxie, celle-ci provoque une acidification du milieu intracellulaire et des lésions des cellules épithéliales de surface les plus sensibles à l'hypoxie qui séparent le contenu de la lumière gastrique avec le milieu intérieur de l'organisme, entraînant une augmentation de la perméabilité et de la rétrodiffusion de protons et de la pepsine, qui provoquent d'autres endommagements de la muqueuse, l'hypoperfusion déclenche également la production de radicaux d'oxygène et diminue la synthèse de Prostaglandines gastro-protecteurs (**Fennerty, 2002**).

▪ **l'altération des cellules endothéliales.**

Les lésions muqueuses sont accentuées par l'adhérence des polynucléaires circulants sur l'endothélium altéré suite à l'hypoxie. Les polynucléaires activés migrent dans la muqueuse où ils libèrent des radicaux libres et des enzymes protéolytiques, ces phénomènes provoquent l'agrégation plaquettaire, la formation d'un thrombus et l'apparition de lésions nécrotiques et ulcérées.

Selon le degré d'ischémie, on distingue des lésions de sévérité croissante :

- la destruction des cellules épithéliales et la mise à nu de la membrane basale ;
- la réaction vasomotrice (spasmes veinulaires et congestion capillaire) induite par l'issue des ions H⁺, de la pepsine et de la lipase gastrique dans la sous-muqueuse ;
- l'apparition d'une réaction inflammatoire avec accroissement de la perméabilité capillaire, issue de plasma et de macromolécules dans l'interstitium, thrombos microvasculaire et Diapédèse) des polynucléaires (**Lamarque., 2001**).

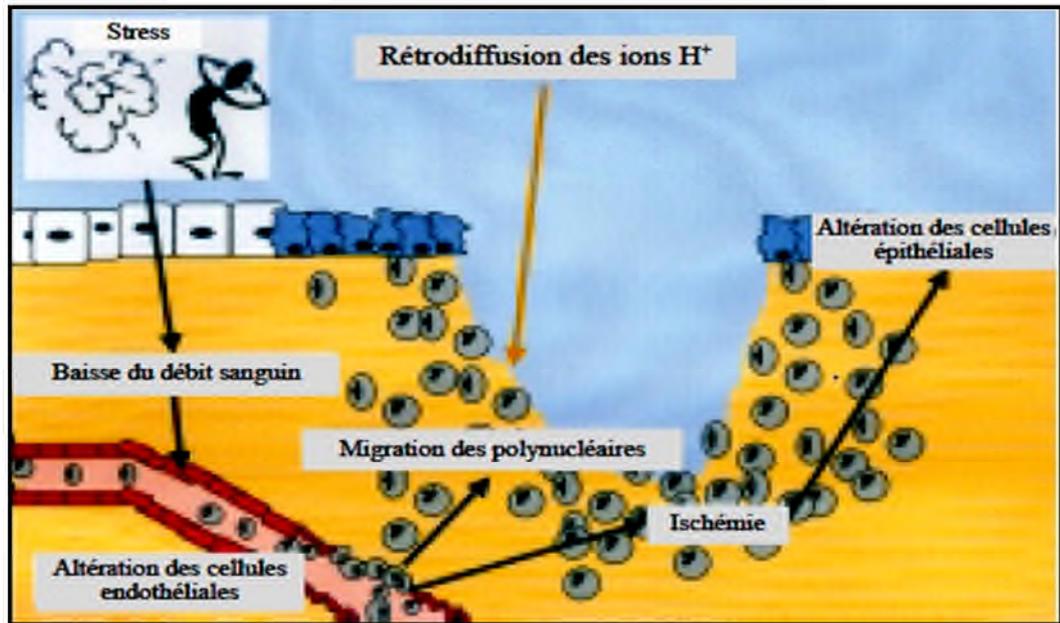


Figure N° 7 : Facteurs de lésions aiguës de stress (Lamarque., 2001)

II.3. La réaction inflammatoire

➤ Définition

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité ; d'une manière générale, l'inflammation commandée est une réponse salutaire qui peut défendre et protéger le corps contre des facteurs nocifs, mais si le règlement du corps de l'inflammation est dysfonctionnel, alors l'inflammation aura un effet nuisible sur le corps.

Un grand nombre de médiateurs inflammatoires mènent aux effets nocifs sur le corps (Nathan, 2006 ; Medzhitov, 2008), y compris la dégénération excessive, l'exsudation, la nécrose...qui ont comme conséquence différents degrés de dommages au corps (Serhan et John, 2005 ; Karin *et al.*, 2006).

➤ **Les symptômes d'inflammation**

la réaction inflammatoire déclenchée par les cellules résidentes locales du système immunitaire inné, qui sécrètent des médiateurs de l'inflammation et d'autres substances effectrices. Ces derniers induisent une vasodilatation (dilatation des vaisseaux sanguins), qui permet l'écoulement accru de sang à la zone touchée et provoque également la rougeur et la chaleur liée à ça une augmentation de la perméabilité des parois des vaisseaux sanguins qui permet le transfert de plasma sanguin dans le tissu affecté, ce qui explique le gonflement, la douleur est le résultat de ces mêmes cellules inflammatoires qui libèrent la bradykinine (une substance qui abaisse les seuils de douleur) tandis que la perte de fonction est une conséquence non spécifique de l'inflammation (**Boolamou et al., 2014**).

➤ **Les caractéristiques de l'inflammation**

En effet, l'inflammation est caractérisée par une phase vasculaire qui est sous la dépendance de nombreux médiateurs (histamine, sérotonine, quinines, thromboxanes ...) et une phase cellulaire au cours de laquelle de nombreuses cellules notamment les polynucléaires neutrophiles et les monocytes envahissent le foyer inflammatoire (**Funk, 2001**). Survient une phase de réparation dont la finalité est de réparer ou de remplacer le tissu lésé (**Miossec, 2003**).

II.4. Implication des radicaux libres dans la pathologie d'ulcère gastrique

Il a été suggéré que les espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont des espèces nuisibles connus pour provoquer le développement de l'ulcère gastrique (**Nishikawa et al., 2009 ; Boligon et al., 2014**).

Les radicaux libres sont nuisibles à l'intégrité des tissus biologiques et négocient leurs dommages, le mécanisme de ce dommage implique la peroxydation lipidique, avec laquelle détruit des membranes cellulaires ainsi que le dégageant des composants intracellulaires,

comme les enzymes lysosomales qui aboutissent à des autres dommages tissulaires, ils favorisent également des dommages de la muqueuse gastrique entraînant la dégradation des composants de l'épithélium membranaire ainsi que la membrane basale (**Demir et al., 2003**).

On trouve plusieurs types d'espèces réactives d'oxygène tel que :

II.4.1. L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

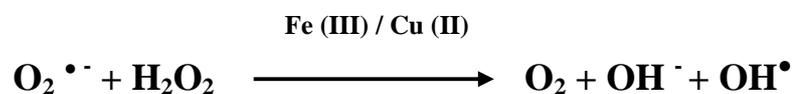
Espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d' O_2 . Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires (Wolin, 1996). L' $O_2^{\bullet-}$ peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes, via la conversion de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase (Wolin, 1996), et les mitochondries où 2% à 5% d'oxygène consommé est transformé en radicaux superoxydes (Favier, 2003).

II.4.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est un dérivé réactif de l'oxygène potentiellement toxique, l'absence de charge a sa surface rend cette ERO peu réactif. Sa toxicité se traduit par le fait qu'il participe à la formation du radical hydroxyle (OH^{\bullet}) (Cash *et al*, 2007). L' H_2O_2 se forme par la dismutation du radical superoxyde elle est soit spontanée ou enzymatique catalysée par la superoxyde dismutase (SOD), ou les oxydases présentes particulièrement dans les peroxysomes (kohen et nyska, 2002).



L' H_2O_2 peut également réagir avec le radical superoxyde, aboutissant la encore à la production du OH^{\bullet} , ce mécanisme réactionnel est appelé réaction d'Haber et Weiss (Sorg, 2004).



II.4.3. Radical hydroxyle (OH^{\bullet})

Le radical hydroxyle (OH^{\bullet}) apparaît comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (Guetteridge, 1993). Parmi les voies conduisant à la formation de ce radical, on peut citer celle qui implique les métaux de transition, le cuivre et le fer sous leurs forme réduite par une réaction appelée réaction de Fenton (Favier, 2003).



II.4.4. L'oxygène singulet $1O_2$

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Delattre *et al.*, 2005).

Les radicaux libres deviennent alors une menace particulière pour les tissus qui sont momentanément non irrigués par le flux sanguin. Durant la période où le flux est interrompu le mécanisme intracellulaire qui contrôle les radicaux libres est inactivé, quand le flux sanguin est restauré, la cellule est subitement confrontée à un excès de radicaux libres qu'elle ne peut plus contrôler, les radicaux libres intermédiaires causent la peroxydation lipidique, la modification oxydative des protéines et de l'ADN (Konturek *et al.*, 2007).

II.5. Systèmes de défense antioxydants :

Le contrôle de la formation de ces derniers est essentiel pour le traitement des pathologies, c'est pour quoi la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants distribués dans tous les compartiments de l'organisme, très efficaces contre la surproduction des ERO (Tang et Halliwell., 2010).

II.5.1. Antioxydants enzymatiques interne

Cette ligne de défense est constituée principalement de trois enzymes. Il s'agit de la superoxyde dismutase (SOD), de glutathion peroxydase (GPX) et de la catalase (CAT) (Boligon *et al.*, 2014).

- **Glutathion peroxydase (GPx)**

Est un peptide contenant de la cystéine trouvé dans la plupart des formes de la vie aérobie. Le glutathion a les propriétés antioxydantes depuis le groupe de thiol dans sa partie de cystéine. Les organismes utilisent (GPx) pour éliminer le radical libre (H_2O_2) conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène en convertissant le glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) (Hamid *et al.*, 2010).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Est retrouvé dans le cytosol comme enzyme de contenance zinc/ cuivre et dans les mitochondries comme enzyme de contenance manganèse.

Ils assurent l'élimination de l'anion de super-oxyde par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Szymonik-Lesiuk *et al.*, 2003).

- **Catalase (CAT)**

La Catalase sert de la première ligne de défense contre le peroxyde d'hydrogène (Whittaker, 2012). Elle agit en tant que matériel de survie pour les cellules vivantes, catalysant la dismutation d'un métabolite toxique de l'oxygène, du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , ce type de fonction antioxydante est essentiel pour tous les organismes qui sont exposés au dioxygène, qui forme facilement H_2O_2 à la fois par voie enzymatique (Lü *et al.*, 2010).

- **Structure**

La catalase est une enzyme tétramérique avec une masse moléculaire globale comprise entre 200 et 400 KD (Antonyuk, 2010). composée de quatre sous unités protéique identiques, chaque sous-unité de 60 kDa contient un groupement héminique avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} lié au site actif (Scibior et Czczot, 2006). Chaque molécule a habituellement une molécule de $NADPH^+ H^+$ qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène (Delattre *et al.*, 2005) (Figure 08).

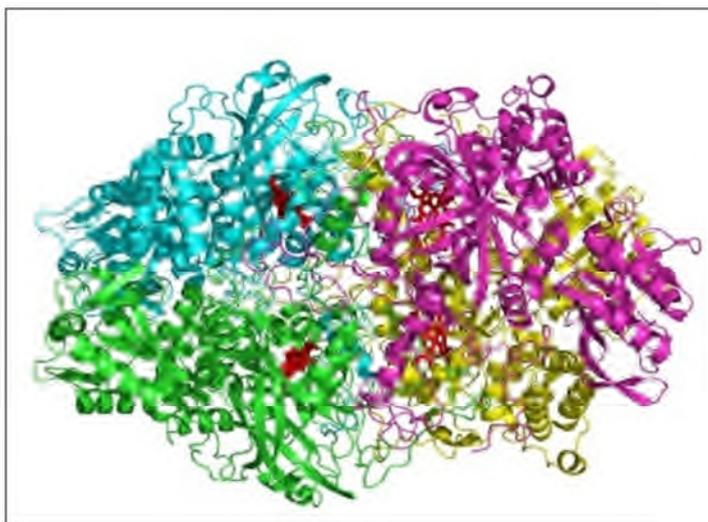


Figure N° 08: Structure tétramérique de la catalase (Bravo, 1999).

➤ **Localisation**

Cette enzyme est largement distribuée à l'intérieur de notre corps, elle est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons... (Nishikawa *et al.*, 2009). Le gène de la catalase est localisé sur le chromosome 11 (le bras 13) qui est constitué de 13 exons qui sont séparés les uns des autres par 12 introns (Scibior et Czczot, 2006).

➤ **Mode d'action**

La catalase est l'enzyme la plus efficace et peut décomposer des milliers de peroxyde d'hydrogène (~ 107 molécules / sec) (Goyal et Bassak., 2010).

La conversion du peroxyde d'hydrogène à l'eau et de l'oxygène par la catalase est un procédé en deux étapes. La première étape implique l'oxydation du Fe (III) d'un groupe de l'hème qui réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène pour former le composé I (une molécule d'eau et un groupement Fe (IV) = O très oxydant). La deuxième étape implique la réduction du Fe (IV) = O qui est un groupement très oxydant en Fe (III), par une oxydation d'une seconde molécule de peroxyde d'hydrogène formant l'oxygène moléculaire et une autre molécule d'eau (Bonfont *et al.*, 2003 ; Heck *et al.*, 2010) (Figure 09).

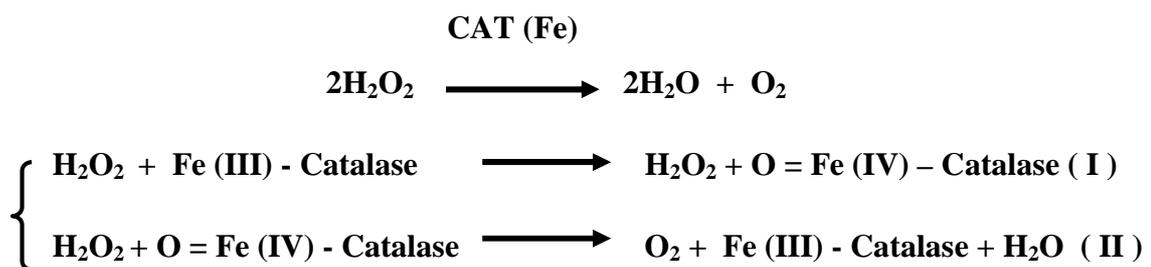


Figure 09: Les deux étapes du mécanisme d'action de la catalase (Goyal et Basak., 2010)

II.5.2. Antioxydants non enzymatique exogènes

La vitamine E est le majeur antioxydant liposoluble présent dans toutes les membranes cellulaires. La vitamine C est un importante antioxydant hydrosoluble cytosolique, il agit directement avec les radicaux super oxyde et singulet (**Pasquier, 1995**).

La beta carotène est un pigment retrouvés dans la plupart des plantes, il réagit avec l'oxygène singulet (**Mattson et Gaspard, 2003**).

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autre les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins (**Delattre et al, 2005**). ils sont connus pour exercer des effets bénéfiques sur la santé (**Rozza et al., 2012**). Ils présentent une large gamme d'effets biologiques en raison de leurs propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoire et anti-ulcère (**Al-Hachem, 2010**).

Chapitre III
Thérapeutique de
l'ulcère

Afin de traiter les ulcères, divers thérapeutiques sont mises en évidence.

III.1. Traitement médicamenteux : Les principaux médicaments utilisés sont résumés dans le tableau I.

Tableau I : Les différentes classes de médicaments utilisés contre l'ulcère gastrique.

Médicaments antiulcéreux		Mécanisme d'action (CEDIM, 2005)	Exemples (Aziz et al., 2012)
les anti-sécrétoires	Antagonistes des récepteurs H₂ à l'histamine	Ils inhibent la sécrétion acide en bloquant de façon sélective les récepteurs H ₂ de l'histamine des cellules pariétales.	Cimétidine 800 mg/j [Tagamet®] ; Ranitidine 300 mg/j [Azantac®, Raniplex®] ; famotidine 40 mg/j Pepdine® ; nizatidine 300 mg/j Nizaxid®.
	Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP)	Bloquent l'activité de l'enzyme H ⁺ -K ⁺ -ATPase ultime maillon du processus sécrétoire de l'acide chlorhydrique.	Oméprazole 20 mg/j : [Mopral®, Zoltum®]. Lanzoprazole 30 mg/j [Ogast®, Lanzor®] ; Pantoprazole 40 mg/j [Inipomp®, Eupantol®].
Les protecteurs de la muqueuse	Prostaglandines	Il inhibe la sécrétion acide par un effet direct sur la cellule pariétale, il a à la fois des effets antisécrétoires et cyto-protecteurs contre les lésions provoquées par divers facteurs.	Aux doses utilisées en thérapeutique elles ont également un effet anti sécrétoire : misoprostol 800 mg/j Cytotec®.
	Sucralfate	Il inhibe la diffusion de l'acide dans la muqueuse et prévient les lésions déclenchées par les agents ulcérogènes.	4 g/j Ulcar®, Kéal®.
	Anti-acide	ne sont utilisés que comme traitement d'appoint car s'ils soulagent la douleur, ils n'accélèrent pas la cicatrisation	Sels d'aluminium (Phosphalugel®) et de magnésium (Maalox®).

Eradication d' <i>Helicobacter Pylori</i>	Les antibiotiques	les antibiotiques sont recommandés pour l'éradication de <i>Helicobacter pylori</i> .	Repose sur une trithérapie : 2 antibiotiques + un anti-H2 ou un IPP à double dose standard. - Le métronidazole : 1g/j en 2 prises - L'amoxicilline : 2g /j en 2 prises - La clarithromycine : 1g/ jour en 2 prises. Ils sont utilisés en association avec un anti-sécrétoire à double dose.
---	-------------------	---	---

III.2. Traitement étiologique (Stress)

▪ Benzodiazépines

Les Benzodiazépines (BZD) appartenant à la classe des psychotropes, bénéficient aujourd'hui d'une image favorable auprès du public, ils sont utilisés pour de nombreuses indications, y compris l'anxiété, l'insomnie, la relaxation musculaire, l'épilepsie, la dépression.... (Saias et Gallarda., 2008).

▪ Mode d'action des benzodiazépines

Les benzodiazépines (BZDs) agissent en facilitant les actions d'acide gamma amino butyrique (GABA) qui est un neurotransmetteur le plus fréquent dans le système nerveux central. Le message transmis par le GABA est un message inhibiteur. Ces trois grands types de récepteurs membranaires sont : A, B et C. Les récepteurs GABA-A est la cible principale pour les actions centrales des BZDs (Griffin, 2013). La fixation de ces derniers à leurs sites produit une modification allostérique de la conformation, d'activation des récepteurs GABAA de la membrane post synaptique et l'augmentation d'action naturelle du GABA. Ces deniers provoque un influx d'ions Cl^- , qui aboutit à une hyperpolarisation transitoire (PPSI) et donc à une inhibition neuronale (Hamon, 2008).

Les limitations de l'utilisation de ces molécules (BZD) sont liées à leurs nombreux effets indésirables (sédation, dépendance, effets amnésiants et anticonvulsivants...) (Gourion, (2003).

Un certain nombre de médicaments sont disponibles pour le traitement des ulcères gastrique, mais l'évaluation clinique de ces médicaments indique une forte incidence de rechute, des effets secondaires et des interactions médicamenteuses,

ces effets négatifs sont les raisons de la mise au point de nouveaux médicaments anti-ulcéreux et la recherche de nouvelles molécules dans les plantes (Sethi et Zhang, 2012).

III.3. Traitement non médicamenteux

Les populations dans les pays en développement ont recours aux plantes médicinales que leur offrent les tradipraticiens pour leurs soins de base, par préférence ou par nécessité, dû à leur accessibilité et leur faible coût (Kamguia *et al.*, 2011).

L'une des originalités majeures des plantes réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées, dites « métabolites secondaires » qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines différents tel que la pharmacologie (Macheix *et al.*, 2005).

De nombreux produits naturels ont été évalués comme agents thérapeutiques car ils jouent un rôle vital contre diverses maladies tel que cancer, diabète, ...L'ulcère gastrique ne fait pas exception, un grand nombre de plantes ont été évalués, par divers chercheurs pour leurs effets anti-ulcéreux pour parvenir à un issu favorable (Gadekar, 2010).

Parmi ces plantes anti-ulcère couramment utilisés pour le traitement ou la prévention des ulcères nous avons *Pneumusboldus* (Monimiacea), *Chelidoniummajus*, *Carum carvi*, *Melissa officinalis*, *Tetraceraalnifolia* (Ekpendu, 2003).

Clematis est une source botanique pour divers composants. Les constituants chimiques enregistrés dans la littérature de genre *Clematis* sont des flavonoïdes, des coumarines, des lignanes, alcaloïdes, saponines triterpéniques, Tanin... (Sun and Yang, 2009 ; Chawla *et al.*, 2012). Ces molécules biologiquement actives sont douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets significatifs sur la santé humaine (Okuda, (2005).

Selon (Kim *et al.*, 2004; Gallego *et al.*, 2007) les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antihistaminiques et antioxydantes. Les tanins ont une grande capacité antioxydante, sont des inhibiteurs de l'inflammation et induisent la cicatrisation et favorisent la contraction des blessures (Moorhouse *et al.*, 1987 ; Lopes *et al.*, 2005) .

Donc on peut conclure que *Clematis flammula* qui est considérablement riche en ces composés bioactifs possède une activité anti inflammatoire, antioxydante et anti ulcéreuse.

III.3.1. *Clematis flammula*

Clematis flammula est une plante locale, employée par la population pour traiter certaines pathologies.

III.3.1.1. Description botanique

Clematis flammula est une liane circum, s'enroulant dans les friches, les hais, pouvant atteindre 2-5 m (Lemoine, 2005). A aussi une tige grimpante, ses branches demi herbacées, anguleuses, légèrement pubescentes, forment de grosses masses vertes, ses feuilles bipennatiséquées, terminées par une foliole, composée de 1- 4 paires de folioles ovales , lancéolées ou linéaires, entières, quelque fois très lobées à saveur brulante, ses fleurs sont petites, blanches, très odorantes, hermaphrodite ; fleuraison : juin à aout (Rameau *et al.*, 2008) (Figure 10).



Figure N° 10 : Les feuilles et les fleurs de *Clematis flammula* (Targa ouzmmoure).

III.3.1.2. Classification de *Clematis flammula*

La classification taxonomique de *clematis flammula* selon (Bernard, 1997) est représentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau II : Classification taxonomique de *Clematis flammula*.

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Dicotyledones
Ordre	Magnoliopsida
Famille	Ranunculaceae
Genre	Clematis
Espèce	<i>Clematis flammula</i>
Nom vernaculaire berbère	Azenou, zenzou
Nom vernaculaire arabe	Nard barda, Yasmine bari, Sebenq

III.3.1.3. Origine et répartition géographique

C'est une espèce méridionale qui, dans notre circonscription. Elle existe dans tout le midi de la France et tout autour du bassin de la Méditerranée, on la trouve en Grèce, en Espagne, dans la majeure partie de l'Italie, elle occupe aussi le Caucase et l'Asie-Mineure, et Desfontaines la cite dans les haies de l'Algérie (Lecoq, 1855).

III.3.1.4. Vertus Ethnobotaniques et pharmacologie

Vingt-six espèces du genre *Clematis* ont été traditionnellement utilisées dans divers systèmes de médecine pour le traitement de maladies telles que les troubles nerveux, la syphilis, la goutte, le paludisme, la dysenterie, les rhumatismes, l'asthme, et comme analgésique, anti-inflammatoire, diurétique, antitumoral, antibactérien et anticancéreux (Chawla *et al.*, 2012).

A propos de *Clematis flammula* sa partie aérienne ou les feuilles sont employées pour fournir le soulagement provisoire des douleurs communes, ces parties sont appliquées à l'état frais et moulues sur l'inflammation jointes pendant environ 15-30 minutes (Yesilada et Kupeli, 2007).

Les feuilles et les fleurs en homéopathie, utilisées contre les éruptions cutanées, La médecine traditionnelle marocaine fait encore appel à cette plante pour soigner le buzelum (une sorte de sciatique) par application de cataplasmes, pour traiter des affections du foie et de la rate, elle est aussi utilisée dans le traitement des ulcères phagédéniques (**Bellakhdar, 1997**).

Les feuilles de *Clematis flammula* sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle par les populations rurales en Algérie pour traiter l'arthrite et les brûlures superficielles, ils sont également utilisés comme un insecticide pour prévenir la détérioration du blé et du maïs stocké (**Atmani et al, 2009**). Mais à une dose excessive ou à longue durée elle provoque des brûlures d'où son nom « Clématite brûlante » (**Kostova et Iossifova, 2007**).

Partie II :
Etude
Expérimentale

Chapitre I :
Matériels et
Méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Réactifs et Appareillages

➤ Réactifs

L'eau physiologique (NaCl 0.9 %), L'eau distillée, Chloroforme, Bromozépan (Gélules de 6 mg), tampon phosphate (0.1 M / Ph = 6.8), Solution de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), Solution de Bradford.

➤ Appareillages

Plaque chauffante et agitatrice (VELP), Thermomètre (IHM), Balance de précision (RADWAG), Broyeur électrique (IKA), Vortex (VELP), Centrifugeuse (SIGMA 2-16 PK), loupe binoculaire, appareil photos (SONY X16 Pixels) et sonde de gavage.

I.1.2. Matériels végétal

I.1.2.1. La récolte

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de *Clematis flammua* qui a été récoltée en mai 2015 dans la forêt d'Azru'n Bechar à Amizour de la wilaya de Bejaia, la plante a été identifiée au laboratoire de botanique de l'université de Bejaia.

Les échantillons ont été séchés dans un endroit aéré afin d'éliminer toute trace d'humidité tout en préservant la composition de la plante. Ils ont été ensuite broyés en utilisant un broyeur électrique et tamisée pour récupérer une poudre fine (Diamètre < 63 µm).

I.1.2.2 Extraction des substances bioactives

L'extraction a été réalisée selon la méthode de **Atmani et al., (2009)** avec quelques modifications (Figure 09).

La poudre de la plantes a été macérée dans l'éthanol (96%) avec un rapport de 1/4, (m / V) pendant 24 heures sous agitation.

Après décantation pendant 24 heures, le surnageant a été récupéré dans des cristalloirs et laissé séché à l'air libre jusqu'à obtention d'un résidu sec de poids stable. Les extraits ont été conservés dans des flacons en verre hermétique à -4°C afin de préserver les principes actifs de la plante.

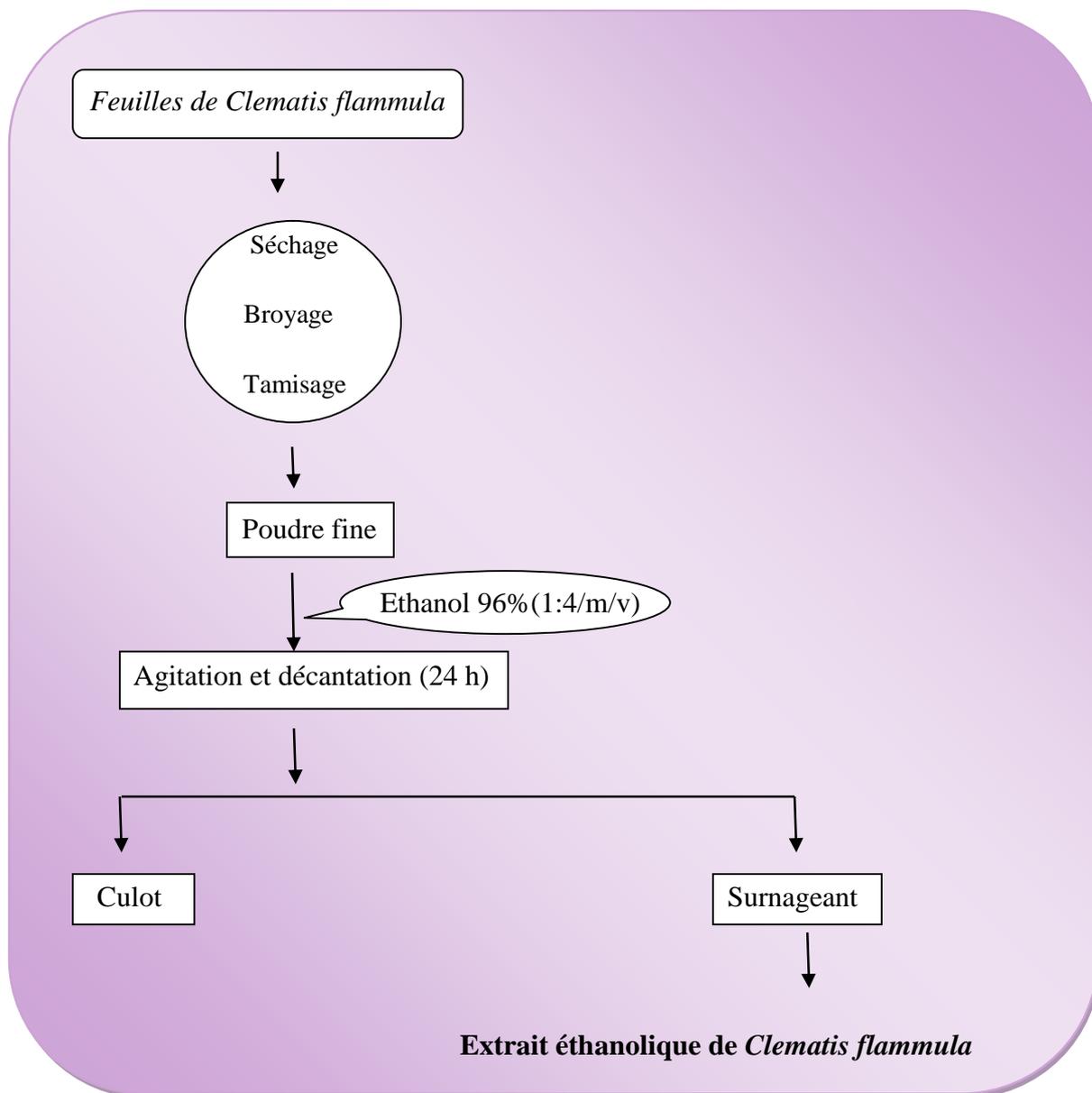


Figure N° 11 : Protocole d'extraction des substances bioactives à partir des feuilles de *Clematis flammula*.

II.1.3. Matériel animal

Pour l'évaluation de l'activité anti-ulcère de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula*, des souris albinos mâles âgées d'environ deux à trois mois ont été utilisées. Ces animaux proviennent des centres d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger et l'expérimentation a été réalisée au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaia.

Les animaux ont été élevés dans des conditions favorables à leur croissance et leur développement : température de (23 – 25) C°, sous un cycle de lumière 12h/12h avec un accès libre à la nourriture (aliment bouchon), à cette alimentation s'ajoutait de l'eau du robinet donnée à volonté (Figure 12).



Figure N° 12 : Photographies originales de l'élevage des souris.

II.2. Méthode d'étude de l'activité anti-ulcère

II.2.1. Modèles d'ulcération

Dans le but d'étudier l'effet gastroprotecteur de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula*, un modèle d'ulcération a été appliqué chez les souris, celui des lésions induites par le stress.

II.2.2. Induction des ulcérations

II.2.2.1. préparation des solutions

Pour les manipulations, plusieurs solutions ont été préparées.

- **Solution de CMC**

Cette solution a été préparée en dissolvant la poudre de CMC à 0.8 % dans 100 ml d'eau distillée.

- **Médicament de référence (Bromozépam)**

Une solution de bromazépam (kietyl 6mg) a été préparée en dissolvant la poudre de Bromazépam dans le CMC afin d'obtenir une de 0.2 mg/ml.

- **Les extraits de la plante**

La solution mère a été préparée en mélangeant 200 mg de l'extrait éthanolique avec 10 ml de CMC. Des différentes concentrations ont été préparées (25, 50, 100 mg/kg) à partir de la solution mère.

II.2.2.2. Répartition des souris

Les souris dont le poids varie entre 25g et 30g ont été réparties en huit lots de sept souris chacun de manière aléatoire, et ont été privées de nourriture 18 heures précédant chaque test, d'eau 1 heure avant l'expérimentation.

II.2.2.3. Protocole d'induction d'ulcère par le stress

L'ulcération a été induite par le stress selon le protocole décrit par **Bensal et Goel, (2012)**, avec quelques modifications. Ce test consiste à soumettre les souris à une nage forcée dans une eau relativement froide (19 C°).

Au temps $t = 0$ les souris ont été gavées par voie intra-gastrique en administrant le traitement à l'aide d'une sonde à gavage comme le résume ce tableau ci-dessous:

Tableau N° III : Répartition des lots selon le traitement effectué.

N° de lots	Lots
1	Stress (eau + CMC)
2	Contrôle (+) : Standard (Bromazépam 0.2 mg/kg de souris)
3	Véhicule (rien reçu)
4	Extrait éthanolique de <i>clematis flammula</i> à une dose de 25 mg/kg de souris
5	Extrait éthanolique de <i>clematis flammula</i> à une dose de 50 mg/kg
6	Extrait éthanolique de <i>clematis flammula</i> à une dose de 100 mg/kg
7	Extrait éthanolique de <i>clematis flammula</i> à une dose de 200 mg/kg

Après 1 heure, le stress a été ensuite induit par l'imposition d'une nage forcée. Pour cela, les souris ont été introduites dans des seaux d'eau individuels, ayant une température de 19C°, et une profondeur d'environ 5 à 7 centimètre. 50 à 60 minutes plus tard, toutes les souris ont été anesthésiées avec le chlorophorme et disséqués.

Les estomacs ont été prélevés, ouverts le long de la grande courbure et délicatement lavés avec de l'eau physiologique et bien étalés sur des lames puis observés sous loupe.

Après l'observation des photos des estomacs ont été prisent à l'aide d'un appareil photos numérique (Figure 13).

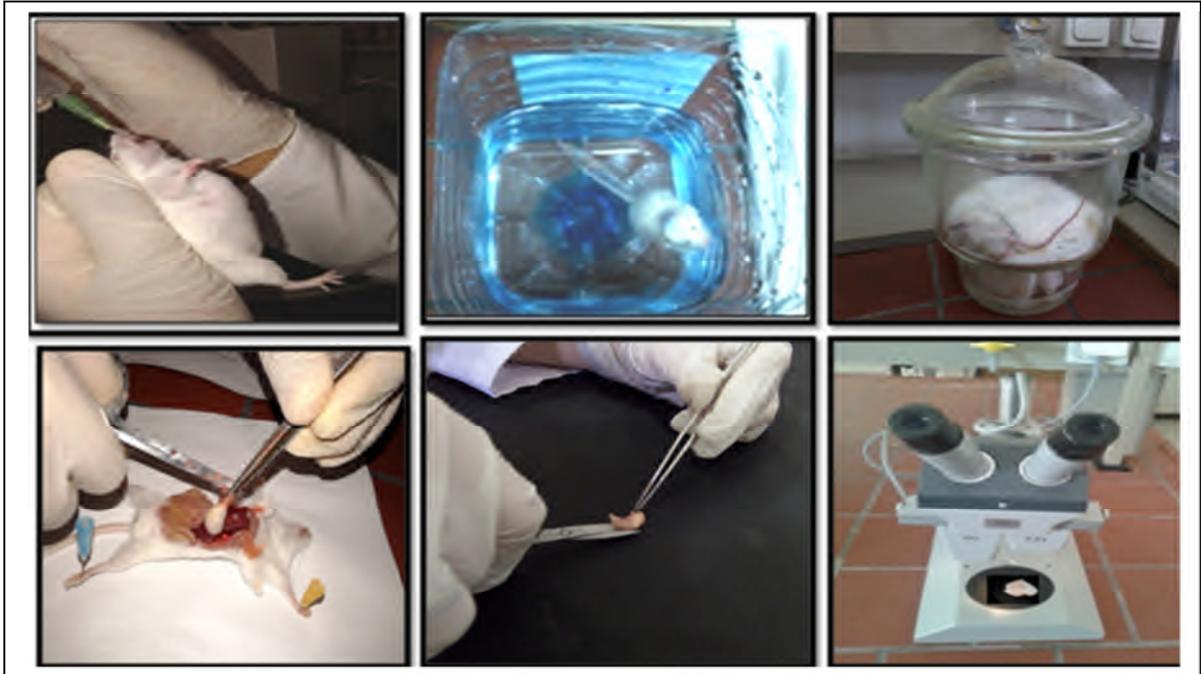


Figure N°13 : Photographie originale montrant les différentes étapes de l'étude anti ulcère.

II.2.3. Evaluation de l'activité anti-ulcère

Après l'étalement des estomacs, L'activité anti-ulcère de l'extrait *clematis flammula* a été évaluée par deux méthodes :

➤ **Méthode de calcul des surfaces**

Le programme Image J est utilisé selon le protocole de **Morsy et al., (2012)**. Pour cela les différentes photos des estomacs -ont été analysées sur ordinateur à l'aide de ce logiciel, qui a permis de calculer la surface totale de chaque estomac, ainsi que celles des lésions.

Les résultats obtenus nous ont permis de calculer deux paramètres différents :

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

$$\% \text{ D'ulcération} = \text{Surface totales des lésions} / \text{Surface totale de l'estomac} \times 100$$

- Le pourcentage de protection ou d'inhibition de l'ulcère pour chaque groupe traité a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{USc} - \text{USt}) / \text{USc} \times 100$$

USc: Surface ulcérée du contrôle ;

USt: Surface ulcérée du test.

II.2.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

❖ Préparation de l'homogénat

Le dosage de l'activité enzymatique de la CAT a été fait au niveau de l'estomac, ces dernières ont été broyées à froid dans un tampon phosphate (0.1 M, pH= 7.4) à l'aide d'un homogénéisateur électrique (Geidolph).

Les homogénats ont été centrifugés à 10000 g/min pendant 10 minutes à 4 °C, les surnagants ont été récupérés puis conservés à -80 °C jusqu'à l'utilisation ultérieure.

❖ Principe

La méthode utilisée dans le dosage de l'activité enzymatique du CAT est celle **d'Aebi (1983) ; in Sabir et Rocha, 2008**). La CAT catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. L'activité du CAT a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du H₂O₂ à une température d'incubation de 25 °C pendant 1 minute.



L'activité de la CAT est calculée en termes d'unité internationale par minute et par milligramme de protéine tissulaire (estomac) selon la formule suivante :

$$U/mg = K/n$$

U/mg de pro : μ mole de H_2O_2 consommé /min/mg de protéine ;

n: mg de protéines en mg présente dans le volume de l'échantillon utilisé ;

K : constante de vitesse de la réaction est calculé selon la formule suivante.

$$K = \frac{2.303}{T} \times \log \frac{A1}{A2}$$

T : intervalle de temps en minute ;

A1: absorbance au temps zero ;

A2: absorbance après une minute.

❖ **Mode opératoire :**

Tableau IV: Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de la CAT.

Réactifs	Blanc μ l	Essai μ l
Tampon phosphate 0.1 M ; pH = 6.8	400	380
H_2O_2	1600	1600
Homogénat	0	20

II.2.5. Évaluation de la teneur des protéines dans l'homogénat d'estomac

❖ **Dosage des protéines :**

▪ **Principe :**

La mesure de la concentration de protéines dans l'homogénat a été réalisée par un dosage spectrophotométrique selon la méthode de **Bradford et al., (1976)**,

qui a utilisé le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu.

(L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

▪ **Mode opératoire :**

- Prélever 10 μ l de l'homogénat.
- Ajouter 90 μ l d'eau distillée.
- Ajouter 1000 μ l du réactif de Bradford.
- Agiter et incuber pendant 10 min.
- Lire les absorbances à une longueur d'onde de 595 nm, contre le blanc.

▪ **Calcul de la concentration des protéines**

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions la concentration des protéines a été calculé selon la formule suivante :

$$Y = 0.242 x + 0.235$$

I.3. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en (moyenne (M) \pm l'écart-type (SEM)) pour chaque groupe. Les données ont été statistiquement évaluées par le logiciel GRAPH PAD prisme version 5, en effectuant le test one way Anova, suivi par le test Dunnett pour une comparaison entre les valeurs des groupes traités aux extraits et celles du groupe contrôle. Avec des significations statistiques de * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, utilisant un effectif de $n = 8$.

Chapitre II :
Résultats et
discussion

La *Clematis flammula*, appartenant à la famille des Ranunculacea ; dont le nom vernaculaire Kabyle est « Azanzou », est une plante connue pour sa spécificité très Répondue dans la médecine traditionnelle, dans le traitement de nombreuses maladies telles que : la goutte ; la syphilis , le paludisme , le rhumatismes , les troubles nerveux , l'arthrite et les brûlures superficielles, elle est aussi utilisée comme analgésique, anti-inflammatoire, antitumorale, antibactérien et anticancéreux (**Atmani et al, 2009 ; Chawla et al., 2012**), plusieurs études ont été effectuées sur cette espèce afin d'appuyer ses effets thérapeutiques sur des différents modèles expérimentaux que se soit *in vitro ou in vivo*, notre travail s'intéresse à l'étude de l'effet de l'extrait éthanolique des feuilles sur l'ulcère gastrique, l'une des pathologies digestives les plus répandues dans le monde (**Souza Almeida et al., 2011**) . Le model de stress (immersion dans l'eau froid) a été appliqué.

Pour cela le test de la nage forcé a été sélectionné, les souris ont été forcées à immerger dans l'eau relativement froide, selon **Faye et al., (2003)**, l'ensemble des réactions des souris face à cet agent stressant se sont déroulées dans la forme classique en trois phases.

- La réaction d'alarme, où l'organisme surpris par une attaque brutale, prépare la réaction de défense.
- La résistance, pendant laquelle l'organisme s'habitue à l'agression et augmente les moyens de défense adaptés.
- Finalement la phase d'épuisement, où l'organisme fatigué, épuise ses moyens de défense .

Ce test nous a permis d'évaluer plusieurs paramètres tels que le pouvoir inhibiteur de l'ulcère en mesurant le pourcentage d'ulcération, mais aussi de mettre en évidence l'effet de l'extrait sur l'activité de la catalase, une puissante enzyme antioxydant.

L'analyse macroscopique de différents échantillons a montré des zones de lésions et d'hémorragie caractéristiques (Figure 14, 15, 16).

II.1. Etude comparative des observations macroscopiques de différents échantillons

Une muqueuse abîmée, des lésions hémorragiques importantes et profondes de couleur noir-rouge foncée avec une longueur importante tout au long de l'estomac ont été observées chez les souris du groupe (stress) qui sont soumises à l'agent stressant et sans aucun traitement préliminaire (**Figure 14 (A)**). Contrairement aux estomacs du groupe véhicule traités par l'eau physiologique qui ne présente aucune de ces caractéristiques (estomac sain) (**Figure 14 (B)**).

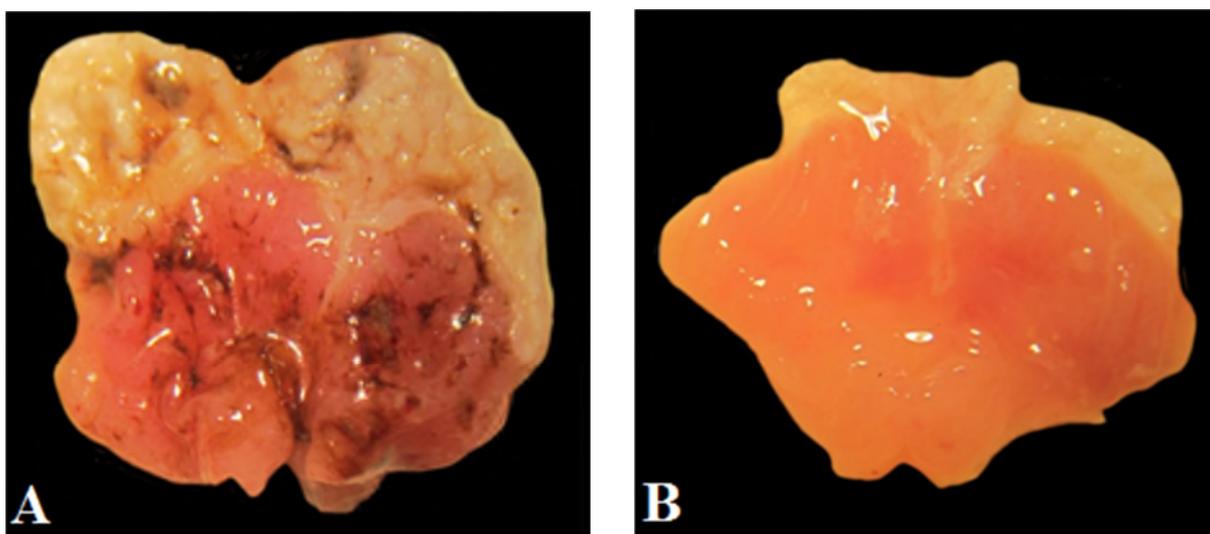


Figure 14 : Observations macroscopiques des estomacs de différents échantillons

A) Estomac stressé ; B) estomac traité par l'eau physiologique (sain).

De plus, les estomacs des souris traité avec le médicament Bromozépam (0.2 mg/kg) par gavage (intra gastrique) utilisé une heure avant la période de stress, n'ont présenté aucune des caractéristiques précédentes, leurs aspects été normal, similaire à celui d'un estomac sain et la muqueuse ne présente presque aucune lésion, (**Figure 15(A), (B)**).

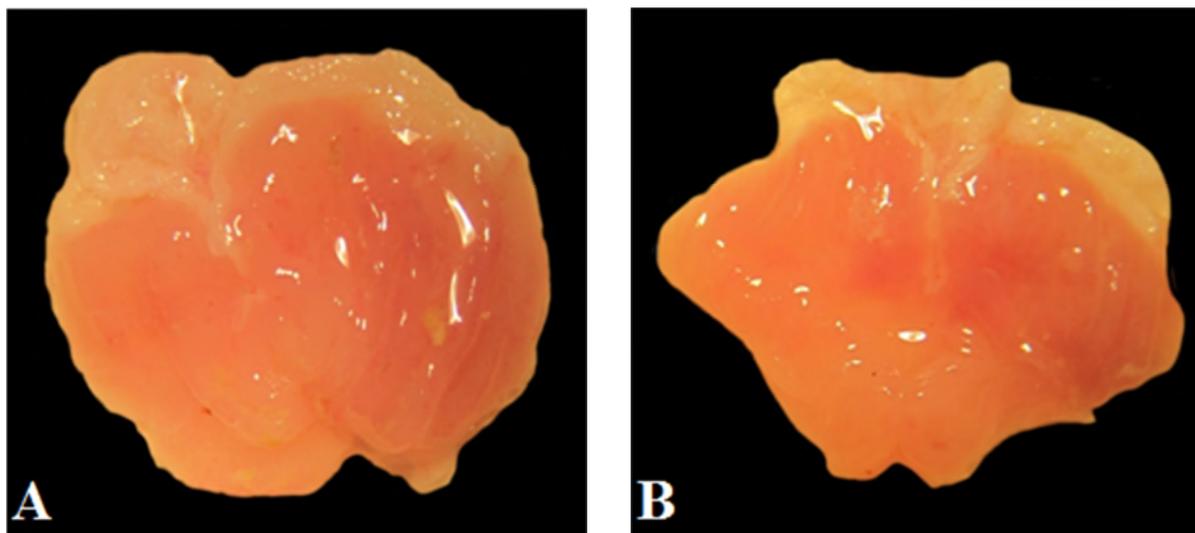


Figure 15 : Observations macroscopiques des estomacs de différents échantillons :

A) estomac traité par le bromazépam ; **B)** estomac sain.

Des lésions modérées ont été observées aux seins des estomacs traités par différents concentrations (25, 50, 100 et 200 mg/kg) de l'extrait éthanolique de la plante, des muqueuses abimées moins accentuées avec de petites lésions, superficielles de couleur noir-rouge et la longueur de celles-ci sont significativement réduites (**Figure 16 (A, B ; C ; D)**) comparablement à celles obtenues chez les souris non traités (stress) (**Figure 14 (A)**) ce qui explique que notre extrait a montré un effet important contre le stress, en maintenant la physiologie des estomacs des souris.

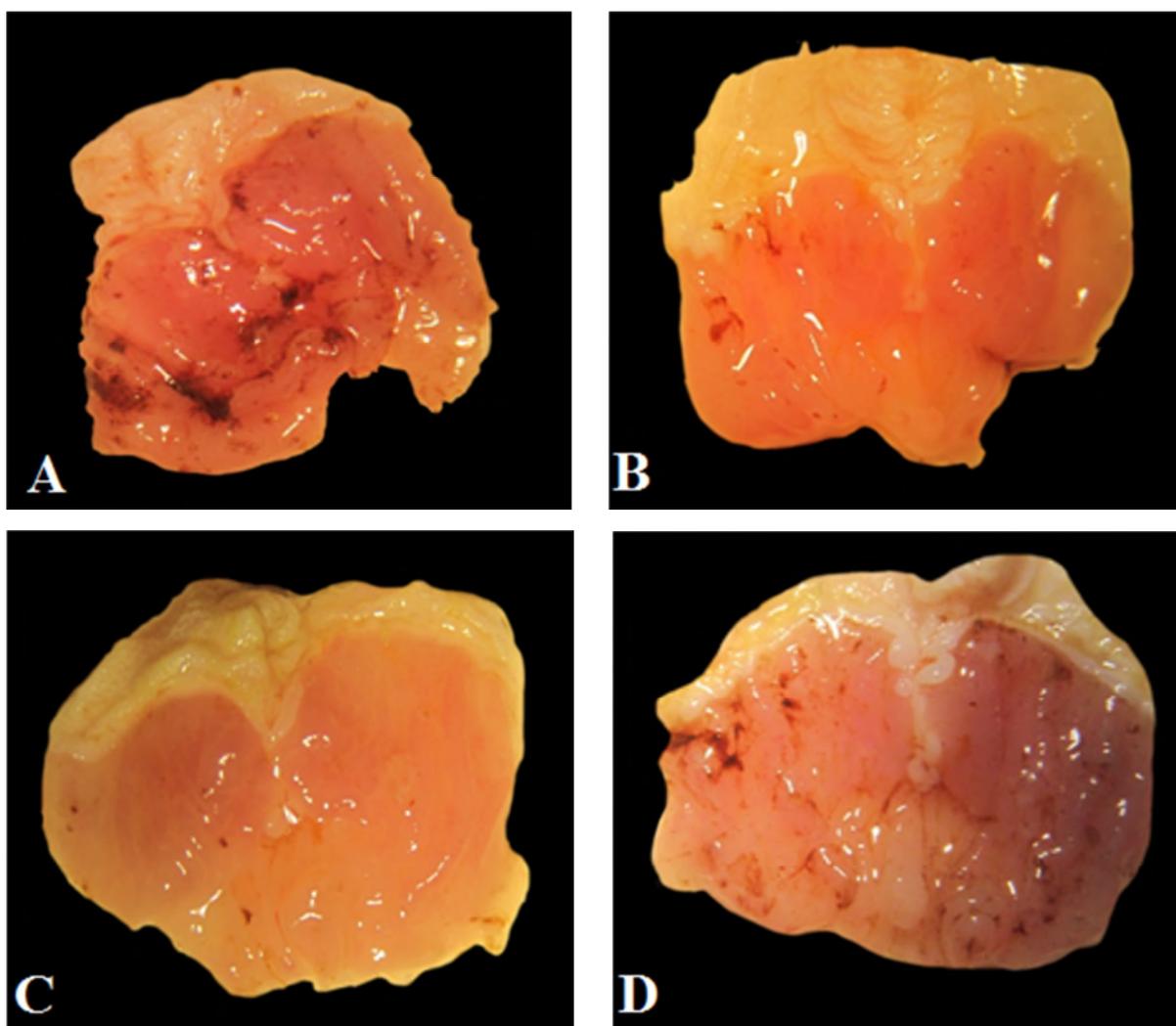


Figure 16 : Observations macroscopiques des estomacs de différents échantillons

A) estomac traité à une dose de 25 mg/ kg ; B) à une dose de 50 mg/ kg ; C) estomac traité à une dose de 100 mg /kg ; D) estomac traité à une dose de 200 mg/kg.

II.2. Evaluation des lésions par le calcul de surface

L'effet anti-ulcère de l'extrait brut des feuilles de *C. flammula* contre les lésions induites par le stress a été évalué après estimation de la surface des lésions présentes au niveau de la muqueuse gastrique en utilisant le logiciel Image J, dont les résultats sont représentés dans la figure suivante :

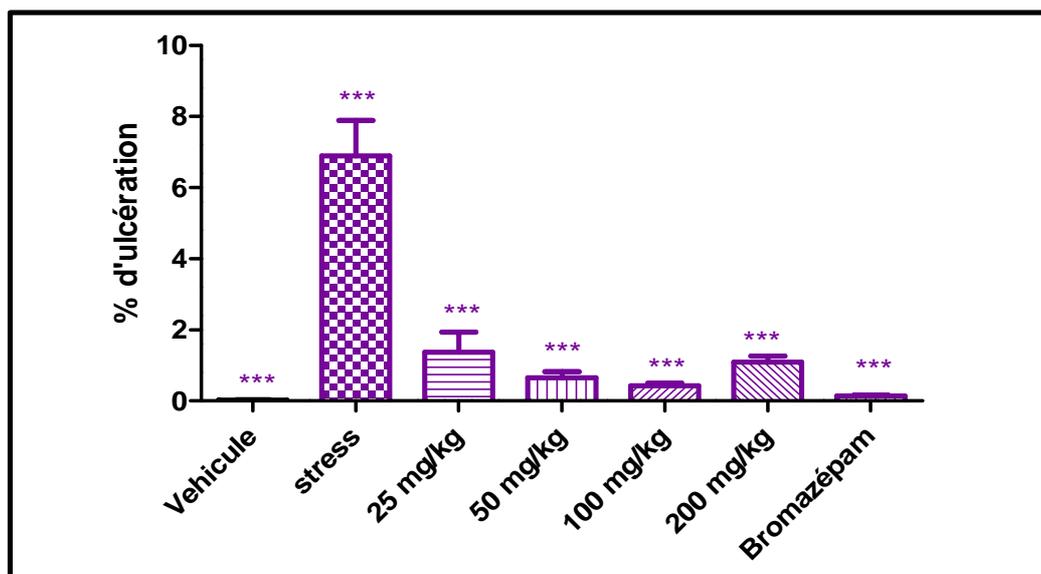


Figure N° 17: Représentation graphique du pourcentage d’ulcération exprimé en moyenne \pm SEM pour N = 8 chez les différents groupes.
 (***) p < 0.001 significativement différent du groupe contrôle)

Les pourcentages d’ulcération ainsi que les pourcentages d’inhibition sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau V : Résultats d’ulcération et d’inhibition par divers traitement

Traitement	Dose mg/kg	% d’ulcère	%Inhibition d’ulcère
stress		6.89 %	-
Bromozépam	0.2	0.14 % ***	97.96 %
Extrait éthanolique	25	1.37 % ***	80.12 %
	50	0.65 % ***	90.55 %
	100	0.42 % ***	93.78 %
	200	1.08 % ***	84.08 %

D'après nos résultats, on remarque une diminution modéré des pourcentages d'ulcérations au niveau des estomacs des souris traités par différents concentrations (25, 50, 100 et 200 mg/kg) d'extrait éthanolique avec des valeurs de 1.37 % , 0.65 % , 0.42 % et 1.09 % respectivement ce qui est très significatif ($p < 0.001$) de la surface moyenne ulcérée du groupe stress (6,89%) (Figure 17).

Alors qu'une défférence significative ($p < 0.001$) a été observée chez les souris traités par le Bromazépam (0.2 mg/kg), utilisé comme médicament de référence (une heure avant l'induction d'ulcère). Ce dernier exhibe un effet puissant avec un pourcentage d'ulcération de 0.14 % (Figure 17). La dose de Bromazépam a aussi réussi de prévenir l'ulcération gastrique et offre un bon potentiel gastroprotecteur. **Saad et ses collaborateurs en (2001)**, ont rapporté la confirmation que l'administration de Bromazépam comme médicament de référence, induit la disparition des lésions gastriques provoquées par le stress.

Le Bromazépam implique une augmentation du GABA inhibiteur et une suppression de la dopamine (D) dans les régions centrales, en particulier le cortex cérébral et / ou hypothalamus, donc une inhibition neuronale, et en plus il agit en amont de la sécrétion accrue d'acides gastriques au cours du stress (**Saad et al., 2001 ; Hamon, 2008**).

Ces résultats se concordent avec celles des pourcentages d'inhibitions dont lesquelles l'extrait éthanolique a montré un effet puissant à des concentrations comprises entre 25 à 200 mg/kg, en effet la concentration 100 mg/kg a montré une activité inhibitrice plus élevé de 93.7%. Cette dernière est considéré comme meilleure par rapport a celle obtenu par **Hiruma- Lima et ses collaborateurs (2009)**, d'où le pourcentage d'inhibition des lésions gastrique induite par le stress est 45 % chez des souris traité avec l'extrait éthanolique de *Virola surinamensis* (Myristicaceae) à la dose de 500 mg/ kg qui est considéré comme meilleure dose.

Cependant l'activité inhibitrice à la dose 100 mg/ kg se rapproche a celle obtenu avec le Bromazépam qui a montré un pourcentage d'inhibition de 97.96 %. Cet effet peut être dû au potentiel cytoprotecteur de cet extrait, en effet, selon **Robert et ses collaborateurs, (1983)** ont considéré, que toute substance qui peut offrir une protection de la muqueuse gastrique contre les agents irritants a un potentiel cytoprotecteur.

Nos résultats ont montré également l'effet dose- dépendant, cela peut être expliqué par l'effet synergique entre les différentes molécules existantes au sein de notre extrait, tandis qu'à 200 mg/kg on a observé une légère diminution du pourcentage d'inhibition avec 84.08%, Ceci peut être expliqué par l'encombrement stérique, ou par une saturation de l'extrait, qui pourrait par la suite contrecarrer ou diminuer l'effet des principes actifs directement ou indirectement engendrer une mauvaise absorption au niveau de la muqueuse gastrique (**Dabburu et al. 2012**).

Par ailleurs, le potentiel cytoprotecteur de notre extrait peut être due à la richesse de notre plante aux différents métabolites secondaires ; en effet, l'analyse phytochimique de l'extrait brut de *clematis flammula* selon **Atmani et al., (2009)** ; **Chawla et al.,(2012)** ont montré une composition riche en flavonoïdes, tanin, saponines, triterpenoïdes, alcaloïdes...ect.

Les tanins qui sont dépeints par leur nature polyphénolique ont indiqué une propriété cytoprotectrice et ont été liés à l'action anti-ulcérogène dans différentes plantes, d'un autre côté, ils peuvent neutraliser l'ulcère de l'avancement du fait de leur précipitation protéique et des effets vasoconstricteurs (**Arawwawala et al., 2014**), Leur action astringente peut aider à la précipitation des microprotéines sur le site de l'ulcère, formant ainsi une couche imperméable au-dessus de la garniture, ce qui empêche les sécrétions intestinales et protège la muqueuse sous-jacente des toxines et d'autres irritants (**Melo et al., 2012**). Ils induisent aussi la cicatrisation et favorisent la contraction des blessures (**Moorhouse et al., 1987** ; **Lopes et al., 2005**). De plus les protéines précipités peuvent aussi avoir un effet inhibiteur sur la H^+/K^+ ATPase et de ce fait réduire la sécrétion gastrique acide (**Melo et al., 2012**).

L'efficacité anti-ulcère des flavonoïdes a également été confirmé, leurs protection de la muqueuse gastro-intestinale contre des lésions produites par divers models expérimentaux d'ulcère et contre différents agents nécrotiques (**Doronicheva et al., 2007**). D'autre flavonoïdes agissent soit par l'effet anti-inflammatoire, ou par l'effet inhibiteur sur l'histamine (**Kim et al., 2004**; **Gallego et al., 2007**). Le stress quand il dure provoque une hyperactivité vagale, par conséquence une hypersécrétion de l'histamine (**Gaton et al., 1993**) qui est un puissant stimulant de la sécrétion du suc gastrique ;

elles agissent sur leurs récepteurs situés à la surface des cellules bourdantes entraînant la sécrétion d'un volume élevé du suc gastrique très acide (Samsong, 1980).

Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercitrine, ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) (Tapas *et al*, 2008), sachant que les COXs sont des enzymes qui interviennent dans la biosynthèse des Prostaglandines. Ces dernières stimulent la sécrétion du mucus, des ions bicarbonates et réduit le flux sanguin (Selling *et al* 1987 ; Whittle, 1997).

Des travaux ultérieures de (Al-Taweel., 2007) sur trois espèces de Clematis ((*Clematis pickeringii*, *Clematis glycinoides* et *Clematis microphylla*) ont montré le pouvoir inhibiteur des activités de COX-1, COX-2 d'où son activité inflammatoire.

Les résultats significatifs de notre extrait qui sont comparables à ceux de standard laissent prédire que les polyphénols présents dans l'extrait de *C. flammula* pourraient agir de la même façon que le Bromazépam en atténuant le stress par l'intermédiaire des récepteurs GABA A.

II. 3 Évaluation de l'activité de la catalase et le pouvoir inhibiteur de H₂O₂

Dans ce contexte un dosage préliminaire d'une enzyme antioxydant qui est la catalase a été effectué dont le principe de suivre l'effet de notre extrait sur l'activité de cette enzyme, mais aussi sur l'effet de la dismutation de H₂O₂ en H₂O et O₂ (effet antioxydant).

Les résultats dans les figures suivantes représentent l'effet de divers traitements sur l'activité de la CAT ainsi que les pourcentages d'inhibition de H₂O₂ exprimés par ces traitements.

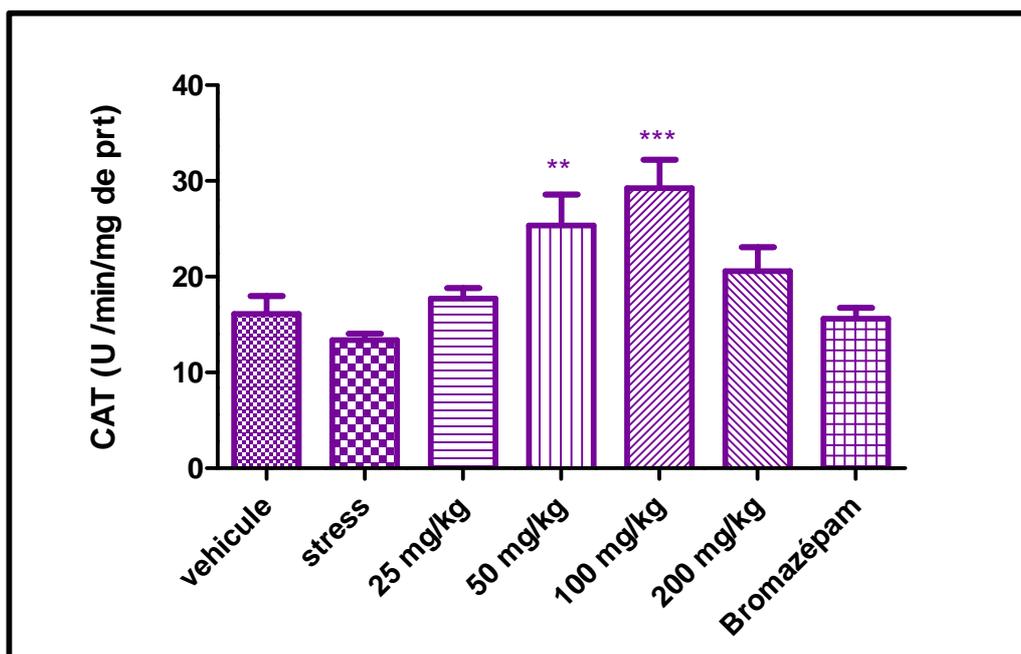


Figure N°18 : Représentation graphique d’effet de différents traitements sur l’activité de la catalase (Exprimé en moyenne \pm SEM pour N = 8

***P< 0.001 ; ** P<0.01.

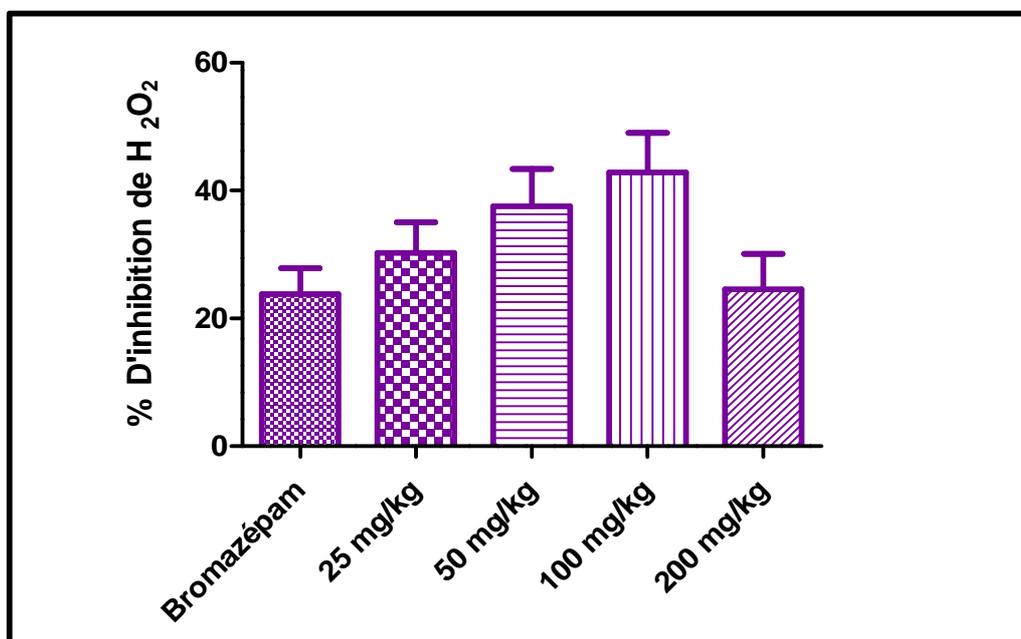


Figure N° 19 : Représentation graphique du pourcentage d’inhibition de H₂O₂

(Exprimé en moyenne \pm SEM pour N= 8).

Les résultats du dosage de la CAT, montre que l'activité de cette enzyme a été réduite dans la muqueuse gastrique des souris de groupe stress suit à l'exposition à l'agent stressant avec une valeur de $(13.39 \pm 0.64 \text{ U/min/mg de protéine})$ par rapport à la valeur correspondante dans l'estomac à muqueuse intact (véhicule) $(16.10 \pm 1.87 \text{ U/mg de protéine})$. Ce qui explique l'implication probable des propriété antioxydant à cet effet gastroprotecteur (**Jaiswal et al., 2014**).

Cette diminution est la conséquence de l'exposition à l'agent stressant. Ce résultat est en accord avec les études réalisé par **Jaiswal et ses collaborateurs (2014)** qui ont montré que l'activité catalytique du groupe stress est diminuée de $20.77 \text{ U / min /mg de protéine}$ par rapport au véhicule $28.88 \text{ U / min /mg de protéine}$ suite au stress. La diminution de l'activité de la CAT dans la muqueuse gastrique des souris exposées au stress conduit à l'accumulation des ROS et par conséquent à une augmentation de la peroxydation lipidique et donc une augmentation des lésions gastrique (**Jaiswal et al., (2014)**, ce qui a été montré dans la (Figure 12(a)).

D'après **Delattre et al., (2005)**, la baisse de l'activité pourrait probablement être due à l'utilisation de ces enzymes dans la neutralisation du H_2O_2 en H_2O , ce qui confirme l'implication des propriétés antioxydants à cet effet gastroprotecteur. Où elle est expliquée par l'inactivation des enzymes antioxydants (**Sabir et Rocha., 2008**).

D'après les résultats rapportés dans la (Figure 18), on a constaté que l'activité catalytique augmente avec l'augmentation de la concentration d'extrait éthanolique (25, 50, 100 mg/kg) de $(17.70 \pm 1.12 ; 25.35 \pm 3.21 ; 29.24 \pm 2.98 \text{ U / min /mg de protéine})$ respectivement comparativement au groupe stress à $13.39 \pm 0.64 \text{ U / min /mg de protéine}$. En outre, la dose de 200 mg/kg a signalé une diminution légère de l'activité de la CAT de $(20.59 \pm 2.49 \text{ U / min /mg de protéine})$, la diminution de ce statut antioxydant chez les souris peut être interprétée par une mal absorption de extrait à cette dose.

Il est a noté, que cette augmentation indique que l'extrait éthanolique à 100 mg/kg avec la valeur de $(29.24 \pm 2.98 \text{ U / min /mg de protéine})$ a été tolérée par les souris,

le résultat obtenu est considéré meilleur par rapport à celui enregistré par **Jaiswal et ses collaborateurs (2014)** (28.88 U/min/mg de protéines) chez les souris traitées avec une dose de 200 mg /kg d'extrait des feuilles de *Barleria prionitis* (Acanthaceae), soumises au stress.

En ce qui concerne le lot traité par le Bromazépam, l'activité de la catalase est de (15.61±1.12 U/min/mg de protéines), elle est presque similaire à celle du véhicule à (16.10±1.87 /min/mg de protéines) ce qui est interprété par l'absence d'effet du Bromazépam sur l'activité de la catalase.

Les résultats de la (Figure 19) montre que l'extrait de la plante (*Clematis flammula*) à différentes concentrations présentent une activité inhibitrice du H₂O₂ comprise entre 23.19 %, à 42.84%, la plus élevée est celle de l'extrait à 100 mg/ kg qui a exhibée une activité plus élevé (42.84 %) supérieure à celle du standard, le Bromazépam (23.79 %). Ces résultats ce concordent avec celles de l'activité de la catalase.

Le criblage photochimique a permit de mettre en évidence la présence de flavonoïdes, et les polyphénols, tannins, saponines, terpénoïde...ect dans l'extrait de *Clematis flammula* (**Atmani et al., 2011 ; Chawla et al., 2012**). La présence de ces composés chimique dans les extraits pourrait êtres responsable de la propriété pharmacologique observé, et cela par un mécanisme antioxydant divers qui peut comprendre: le piégeage direct des ROS (H₂O₂) et également par l'effet activateur des enzymes antioxydants comme la catalase.

Selon (**Souza Almeida et al., 2011**) la participation des mécanismes antioxydants dont les effets gastroprotecteurs, est d'empêcher les dommages oxydants de la muqueuse gastrique en bloquant la peroxydation de lipide et par conséquence une augmentation de l'activité de la catalase.

Les composés phénoliques et les flavonoïdes ont été signalés à être des puissants anti – radicalaire (bon piègeurs des radicaux libres dont le H₂O₂), la capacité antioxydante de ces composés phénoliques est principalement attribuée à leurs propriétés d'oxydo - réduction, qui leur permettent de réagir en tant qu'agent réducteur, un donneur d'électrons ...ect (**Sylvie et al., 2014**).

L'activité de la catalase augmente selon la structure des flavonoïdes et leurs dérivés, L'attachement de ces dernières à la partie d'hème ou à une région de protéines de la catalase contribue au perfectionnement de son activité, la quercitrine (flavonol) a également montré une activité antioxydante plus élevée contre H_2O_2 avec une légère activation de la catalase, de même pour le kaempferol (flavonoïdes) qui est considéré comme un activateur plus efficace de la catalase (**Doronicheva et al., (2007)**).

Les terpenoïdes agissent en tant qu'antioxydants, réduisent le niveau de peroxydation lipidique et augmentent l'activité des enzymes antioxydantes telles que la SOD et la CAT dans la muqueuse gastrique (**Kim et al., 2005 ; Rodriguez et al., 2006**).

Donc on peut conclure que le prétraitement des souris par l'extrait éthanolique de notre plante, a fourni un soutien antioxydant à l'estomac contre le stress.

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale ; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

La recherche dans le domaine de l'utilisation des plantes médicinales constitue une plaque tournante dans le traitement des ulcères gastriques, où l'utilisation pharmaceutique de l'extrait de *Clematis flammula* pourrait alléger grandement la tâche pour les malades.

Nous nous sommes alors intéressées à cette problématique et nous avons procédé à des expériences visant à évaluer l'activité gastro-protectrice et anti stress des extraits éthanoliques des feuilles de *Clematis flammula* sur les ulcérations induites par le stress chez les souris soumises à une nage forcée. Tout en prenant en compte l'activité catalytique.

Dans la première partie, nos résultats indiquent que les différentes doses (25, 50, 100 et 200 mg/kg) de *C. flammula* ont exhibé des résultats très significatifs ($P < 0.001$) vis-à-vis des lésions provoquées par le stress avec des pourcentages d'inhibition de l'ulcération respectivement égaux à 80.12 %, 90.55 %, 93.78 % et 84.08%; L'analyse phytochimique de notre extrait, montre sa richesse en polyphénols notamment en flavonoïdes et en tannins (**Atmani et al., 2009 ; Chawla et al., 2012**) cela procure le pouvoir gastroprotecteur contre les lésions induites par le stress. L'étude comparative entre cet extrait et le traitement de référence ; le Bromazépam a démontré une activité similaire, permettant de conclure qu'ils auraient les mêmes mécanismes moléculaire.

L'extrait de feuille de cette plante a été testé pour son activité antioxydante contre le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en évaluant l'activité catalytique. Nos résultats montrent qu'à la dose 100 mg /kg, notre extrait provoque une nette amélioration du statut antioxydant avec une activité catalytique de 29.24 U/mg de protéines et un pourcentage d'inhibition de H_2O_2 égal à 42.84, comparativement à l'activité catalytique de Bromazépam qui est de 15.61 U/min/mg de protéine et un pourcentage d'inhibition de 23.53 %.

Malgré les résultats obtenus dans cette étude, d'autres études restent nécessaires à Savoir :

- ✚ l'étude de l'effet de l'extrait éthanolique de *Clematis flammula* en utilisant d'autres doses pour déduire si l'extrait a un effet dose dépendante, et son effet antimicrobien sur *H.pylori* s'il existe.
- ✚ l'étude de cet extrait sur les ulcères duodénaux, d'autant plus qu'il est 80 fois plus fréquent que les ulcères gastriques.
- ✚ l'isolement et l'identification des différents principes actifs de l'extrait responsable de cette activité et aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.
- ✚ Elargir l'étude sur d'autres organes de cette plante, afin de déterminer les composés intéressants en pharmacopée.

*Références
bibliographiques*

Références Bibliographiques

A

- **Abdoulay, D. (2006).** *Stress, axe corticotrope et caractéristique nutritionnelles et métabolique.* Thèse pour obtenir le grade de doctorat en science de l'institut nationale agronomique paris- grignon, discipline nutrition humaine, p. 16.
- **Aebi, H et Bergmager, H.O. (Eds). (1983).** Catalase, methods enzymolgy New Work: Academic Press. P 2
- **Al-hashem, F.H. (2010).** Gastroprotective effects of aqueous extract of *Chamomolla recutica* against ethanol-induced gastric ulcers. *Saudi Med*, 31(11): 1211-1216.
- **Al-Taweel, A.M. (2007).** *Phytochimacal and biological studies of some clematis species Growing in Saudi Arabia.* Doctor of philosophy, Department of pharmacognosy at the college of pharmacy, p 147.
- **Antonyuk, S. V., Barynin, V. V., Whittaker, M. M., Lamzin, V. S., Harrison, P. M., Artymiuk, P. J., & Whittaker, J. W. (2001).** Crystal structure of manganese catalase from *Lactobacillus plantarum*. *Structure*, 9(8): 725-738.
- **Atmani D., Chaher, N., Barboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H. Boudaoud , H., Debbache, N et Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112 (2) : 303-309.
- **Atmani D., Ruiz-Larrea, M.E., Ruiz-Sanz, J.I., Leandro, J.L., Lizcano, L.J., Bakkali, F et Atmani, D. (2011).** Antioxydant potentiel, cytotoxic activity and phenolic content of clematis flammula leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4): 589-598.
- **Arawwawala, L.D.A.M., Arambewela, L.S.R .et Ratnasooriya, WD. (2014).** Effet gastroprotectrice de *piper betle* linn feuilles cultivées au sri Lanka. *Article de recherche originale: expérimental*, 5(1) : 38-42.
- **Aziz, K et Bonnet, D. Foppa, B. (2012).** *Hépto-gastro-entérologie.* Paris : édition Masson. 2^{ème} édition. P 322-323.

B

- **Bansal, V et Goel, R. (2012).** Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract: Role of polyphenolic constituents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 523-528.
- **Bauman, R et Dutton, S. (1996).** *Human anatomy and physiology*. New York: whittier publications. P 144-146.
- **Beaugerie, L., Sokol, H., Goirand, f., & Roman, S. (2014).** *Les fondamentaux de la pathologie digestive*. Paris: Masson. 288.
- **Bellakhdar, J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle.
- **Bernard, B. (1997).** Dictionnaire : plantes et champignons. Edition ESTEM, P190-345.
- **Boligon, A.A, De Freitas, R.b, D E Brum, Wakzuk, E.P, Klimaczewski, C.V, De Avila, Athayde, M.L et Bauermann, L. F. (2014).** Antiulcérogène activité de *Scutia buxifolia* sur les ulcères gastriques induits par l'éthanol chez les rats. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4 (5): 358-367.
- **Bonnefont-Rousselot, D., Raji, B., Walrand, S., Gardes-Albert, M., Jore, D., Legrand, A et Vasson, M. P. (2003).** An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52(5) : 586-589.
- **Bouarioua, N., Merrouche, M., Pospai, D., & Mignon, M. (2007).** Physiopathologie de la maladie ulcéreuse gastroduodénale à l'ère d' « *Helicobacter pylori* ». *EMC-Gastro-Entérologie. janv*, 2(4) : 1-12.
- **Boulamou, B.N., Lapo, A.R., Camara, K.P., Assane, M., Bassene, E et Sam, A. (2014).** Acticité anti-inflammatoire du décocté aqueux des écorces de racines de *Morinda geminata DC (Rubiaceae)*. *International Journal of biological and chiminal sciences*, 8(4): 1871-1875.
- **Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principale of protein binding, *Analytical Biochemistry*, 7: 248-254.

- **Bravo, J., Mate, M. J., Schneider, T., Switala, J., Wilson, K. S., Loewen, P. C. et Fita, I. (1999).** Structure of catalase HPII from *Escherichia coli* at 1.9 Å resolutions, *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, 34: 155-166.

C

- **Catala, M ; André, J- M., Poirier, J. (2007).** *Histologie : organes, systèmes et appareils*. Faculté de médecine : Pierre et Marie Curie. P 102.
- **Cash, T., Pan, Y et Simon, M.C. (2007).** Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free radical biol. Med*, 43: 1219-1225.
- **CEDIM. (2005).** La lettre de CEDIM.8 (23) : 9-10.
- **Chawla, R. Kumar, S et Sharma, A. (2012).** The genus clematis (ranunculaceae); chemical and pharmacological perspectives. *Journal of ethnopharmacology*, 143: 116-150.

D

- **Dabburu, K., Kondaveeti, S.B., Babu, S. (2012).** Evaluation of gastro-protective effect of the hydro-alcoholic extract of *Juglans regia* leaves in experimental animal. *J App Pharm Sci*, 2, (11) : 79-83.
- **Delattre, J., Beaudeau, J.L et Bonnefont-R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Paris Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales*, 1 - 405.
- **Demir, S.M.Y., Köseoglu, M., Akalin, N. D Aslan, Aydin A. (2003).** Rôle des radicaux libres dans l'ulcère gastro - duodénal et de gastrite. *Turc J Gastroenterol.*; 14 (1): 39-43.
- **Dine, T., Claerbout, J.F. et Rave, M. (2008).** Traitement de l'ulcère gastro-Duodénale. *Pharmacie clinique et thérapeutique*. 3ème édition Paris : Elsevier Masson. P 215.
- **Doronicheva, N., Yasui, H., & Sakurai, H. (2007).** Chemical structure-dependent differential effects of flavonoids on the catalase activity as evaluated by a chemiluminescent method. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(2) : 213-217.

- **Drake, R.L., Vogl, W et Mitchel, M. (2011).** *Gray's Anatomie pour les étudiants.* Elsevier Masson, 2eme édition. P 281-283.

E

- **Ekpendu, T. O. E. (2003).** Nigerian Ethnomedicine and medicinal plant Flora: Anti-ulcer plants of the Benue area of Nigeria. *West African journal of pharmacology and drug Research*, 19(1) : 1-4.
- **Ernest, G., Gray, D. J et O'rahilly, R. (1993).** *Anatomie.* Paris : Doin. P 360-364.

F

- **Favier A. (2003)** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* : 108-115.
- **Fennerty MB. (2002).** Physiopathologie du tractus gastro-intestinal supérieur dans le patient gravement malade: justification des avantages thérapeutiques de suppression de l'acide. *Crit Care Med* : 351-355.
- **Funk, C. D. (2001).** Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science*, 294(5548) : 1871-1875.
- **Faye, O et Thioub, I. (2003).** Les marginaux et l'Etat à Dakar. *Le mouvement social*, (3) : 93-108.

G

- **Gadekar, R., Singour, P. K., Chaurasiya, P. K., Pawar, R. S., & Patil, U. K. (2010).** A potential of some medicinal plants as an antiulcer agents. *Pharmacognosy reviews*, 4(8): 136.
- **Gallego- Pérez,L., L Guerra, C., Schuhmacher, A. J., Cañamero, M., Grippo, P. J., Verdaguer, L et Barbacid, M. (2007).** Chronic pancreatitis is essential for induction of pancreatic ductal adenocarcinoma by K-Ras oncogenes in adult mice. *Cancer cell*, 11(3): 291-302.

- **Gaton, J., de la Gandara, F.F et Valasco, A. (1993).** The role of the neurotransmitters acetylcholine and noradrenaline in the pathogenesis of stress ulcers. *Comparative Biochemestters and physiology Parts C: Pharmacolgy, Toxicology and endocrinology*, 106(1): 125-129.
- **Gimenez, F., Brazier, M., Calop, J., Dine, T., Tchiakpé, L., Claerbout, J. F. (2000).** Traitement de l'ulcère gastro-duodéal dans Pharmacie Clinique et Thérapeutique. Paris :edition Masson, P 1065.
- **Gallego- González, J., Sánchez-Campos S. et Tuñón M. J., (2007).** Anti-inflammatory propertes of dietary flavonoids. *Nutricien hospitalaria*, 22 (3) : 287-293.
- **Goodwin, R.D., Keyes, K.M., Stein, M.B et Talley, N.J. (2009).** Peptic ulcer and mental disorders among adults in the community: the role of nicotine and alcohol use disorders. *US National Library of Medicine*, 71 (4): 463-468.
- **Griffin, D. R. (2013).** *Animal minds: Beyond cognition to consciousness.* University of Chicago Press.
- **Goyal, M. M et Basak, A. (2010).** Human catalase: looking for complete identity. *Protein & cell*, 1(10): 888-897.
- **Gourion, D. (2003).** Dossier : Les troubles anxieux en médecine générale. Les traitements médicamenteux des troubles anxieux. *Annales Médico Psychologiques*. 161: 255-259.
- **Guetteridge JM. (1993).** Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res*, 19: 141-158.

H

- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J O., Charlier, C et Chapelle, J P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62 : 10 : 628-638.
- **Halliwel B. (1997).** Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition Reviews*, 55: 44- 49.
- **Hammoudi, S.S. (2010).** Chapitre 7 : l'estomac. In : Anatomie et appareil digestif. P 168.

- **Hamid A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman., I.A; Ameen, O et Lawal, A. (2010).** Antioxidants: its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of pure and Applied chemistry*, 4 -8). P 142-151
- **Hamou, A. (2008).** Etifoxine et récepteurs GABA_A. *L'encéphale Journal homepage*, 1: 29-34.
- **Herman, J.M. (2012).** The neuronal pathway in the integration of the stress. *Alcohol Reserarch Current Reviews*, 34(4): 441-447.
- **Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96: 67-202.
- **Hiruma-Lima, C.A., Batista, L.M., Almeida, A.B.A., Magri, L.P., dos Santos, L.C., Vilega, W., Brito, A.R.M.S., (2009).** Antiulcerogenic action of ethanolic extract of the resin from *Virola surinamensis* Warb. (Myristicaceae). *J. Ethnopharmacol*, 122 (2): 406-409.
- **Heck, D. E., Shakarjian, M., Kim, H. D., Laskin, J. D., & Vetrano, A. M. (2010).** Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203(1): 120-125.

I

- **Ignacio, A., Nieves, F., Gema, S., Candido, G., Jose, G., & Juan, C. (2012).** Cortisol, adrenocorticotropic hormone, serotonin, adrenaline and noradrenaline serum concentrations in relation to disease and stress in the horse. *Research in Veterinary Science* , 93: 103–107.

J

- **Jaiswal, S.K., Dubey, M.K., Das, S et Rao, Ch. V. (2014).** Gastroprotective effect of the iridoid fraction from *Barleria prionitis* eaves on experimentally- induced gastric ulceration. *Chinese journal of Natural Medicines*, 12(10): 738-744.

K

- **Kamguia, J., Kenfack, J. V., Tadjou, J. M., Tabod, T. C., et Bekoa, A. (2011).** Gravity Interpretation of the Cameroon Mountain (West Central Africa) Based on the New and Existing Data. *International Journal of Geosciences*, 2(04), 513.
- **Karin, M., Lawrence, T et Nizet, V. (2006).** Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer. *Cell*, 124(4): 823-835.
- **Kim, J.-H., Kim, Y.-S., Song, G.-G., Park, J.-J., Chang, H.-I., (2005).** Protective effect of astaxanthin on naproxen-induced gastric antral ulceration in rats. *Eur.J. Pharmacol*, 514: 53–59.
- **Kim, H. P., Son, K. H., Chang , H. W. et Kang, S. S., (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 96 (3): 229-245.
- **Kohen R, Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicol. Pathol*, 30 : 620-650.
- **Konturek, S. J., Konturek, P. C., Brzozowska, I., Pawlik, M., Sliwowski, Z., Nikiewicz-Guzik, M. C. Z. E et Pawlik, W. (2007).** Localization and biological activities of melatonin. *Journal of physiology and pharmacology*,58(3), 381-405.
- **Kostova, I., et Iossifova, T. (2007).** Chemical components of Fraxinus species. *Fitoterapia*, 78(2): 85-106.

L

- **Lacour, B et Belon, J.P. (2015).** *Physiologie*. Chapitre 8: physiologie de tube digestive. Elsevier Masson. P 229-234.
- **Laine, L., Takeuchi, K et Tarnawski, A. (2008)** .Avis en gastro-entérologie fondamentale et clinique. la défense de la muqueuse gastrique et cytoprotection: banc à côté *Gastroenterology*, 135 : 135-141
- **Lamarque, D. (2001).** Les lésions aiguës gastroduodénales de stress. *La lettre de l'hépto-gastroentérologue*, 4(1) : 36-38.
- **Lamarque, P. (2008).** *Phylosophy of literature*.
- **Lapinus N., Bajer B., (2008).** Appareil digestif: gastro entérologie, hépatologie, chirurgie,viscérale. Paris, edition Masson, p: 48.

- **Lecoq, H. (1855).** *Études sur la géographie botanique de l'Europe: et en particulier sur la végétation du plateau central de la France* (Vol. 4). JB Baillière.
- **Lemoine C. (2005)** Les fleurs méditerranéennes. France : Edition Jean-paul Grsserot.
- **Lopes, L. E., et Marini, M. Â. (2005).** Low reproductive success of Campo Suiriri (*Suiriri affinis*) and Chapada Flycatcher (*S. islerorum*) in the central Brazilian Cerrado. *Bird Conservation International*, 15(04), 337-346.
- **Lou, L., Fang, Y., Jing, Z., Chun Shui, P., Li, C., Yong Fen, Q.,-Ya, K., Xian, W., et al. (2006).** Endoplasmic reticulum stress response is involved in the pathogenesis of stress induced gastric lesions in rats. *Life Sciences* , 79: 1856–1864.
- **Lu, J.M, Lin, P.H et Yao, Q. (2010).** Chimique et mécanisme moléclaires d'antioxydants : approche expérimentales et des systèmes modeles. *Journal of cellular and Molecular Medicine*, 14 (4) : 840-860.

M

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A et Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR Presses polytechniques*.
- **Manuelle, C. (2008).** *Les fonctions vitales du corps humain : Anatomie – physiopathologie*. France : édition lamarre. P 260-261.
- **Marieb, E., Hoehn, K. (2014).** Anatomie et physiologie humaines. France, Pearson Education. 9^{ème} édition. P, 1504.
- **Morsy, M., Heeba, G., Abdelwahab, S., & Rofaeil, R. (2012).** Protective effects of nebivolol against cold restraint stress-induced gastric ulcer in rats: Role of NO, HO-1, and COX-1,2. *Nitric Oxide* , 27: 117–122.
- **Marieb, E.N et Hoehn, K. (2010).** *Anatomie et physiologie humaines*. Québec : Pearson, 8ème édition. P 985.
- **Marieb, E.N. (2008).** *Biologie humaine : principes d'anatomie et de physiologie*. Paris : éditions du Renouveau pédagogique. P : 500-506

- **Marieb N. E. (1999).** *Anatomie et physiologie humaines*. Paris : édition de Boeck. P 862-886.
- **Marieb, E. (2014).** *Anatomie et physiologie humaines*: France, Pearson Education. 9^{ème} édition. P 1504.
- **Martindale, S., McNeill, G., Devereux, G., Campbell, D., Russell, G., & Seaton, A. (2005).** Antioxidant intake in pregnancy in relation to wheeze and eczema in the first two years of life. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(2) : 121-128.
- **Mattson, P.C et Gaspard, K.J., (2003).** *Essentials of pathophysiology: Concepts of Altered Health States*. Lippincott Williams & Wilkins. P: 9, 150-169.
- **Miossec, P. (2003).** Interleukin-17 in rheumatoid arthritis: If T cells were to contribute to inflammation and destruction through synergy. *Arthritis & Rheumatism*, 48(3): 594-601
- **Melo, F.H., Cenacchi, R.M., Barbosa, J.P., Silva, G.D.F., Vieira, S.A., Filho, T.M.D.P.,Guimarães,V.P.C.P., Toledo, A.M.D., Barros, G.L. et Araujo, C.A.T. (2012).** Gastroprotective, toxicological and immunotoxicological evaluation of *australopithecus africanus*. *Int J Pharm Bio Sci*, 3(3) : 396 – 411
- **Menche, N. (2006).** Anatomie physiologie biologique. 3^{ème} édition. Paris : Maloine. P 335.
- **Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*,454 (7203): 428-435.
- **Moorhouse, P. C., Grootveld, M., Halliwell, B., Quinlan, J. G et Gutteridge, J. M. (1987).** Allopurinol and oxypurinol are hydroxyl radical scavengers. *FEBS letters*, 213(1): 23-28.

N

- **Nathan, C. (2006).** Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology*, 6(3): 173-182.
- **Nischikawa, M., Hashida, M et Takakura, Y. (2009).** Catalase delivery for inhibiting ROS-mediated tissue injury and tumor metastasis. *Journal homepage*, 61: 319-326.

O

- **OMS. (2010).** L'infection à *Helicobacter pylori* chez 755 patients présentant des symptômes digestifs: Institut Pasteur du Maroc. *Eastern mediterranean health journal* (16), 1998-2007.
- **Okuda, T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66(17): 2012-2031.

P

- **Pocock. G et Richards. CD. (2004).** *Physiologie humaine : les fondements de la médecine*. Paris : édition Masson. P 409-411.
- **Pasquier, D. (1995).** «Chère Hélène». Les usages sociaux des séries collège. *Réseaux*, 13(70) : 9-39.

R

- **Rameau, J-C et Mansion, D. (2008).** *Flore forestière française : Région méditerranéenne*. Forêt privée française. P 2426.
- **Ramé, A et Théron, S. (2006).** *Anatomie et physiologie*. France : Elsevier masson. P 208-209.
- **Richard, L et Drake. (2011).** *Anatomie pour les étudiants*.
- **Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C., Davis, J.B., Field, S.O., Hanchar, A.J. (1983).** Mild irritant prevent gastric necrosis through adaptative cytoprotection mediated by prostaglandins. *Am J Physiol*, 245: 113-121.
- **Rodriguez, J.A., Theoduloz, C., Yanez, T., Becerra, J., Schmeda-Hirschmann, G., (2006).** Gastroprotective and ulcer healing effect of ferruginol in mice and rats: Assessment of its mechanism of action using in vitro models. *Life Sci.* 78, 2503–2509. Elsevier Masson. 2 eme edition.
- **Rozza, A.L., Hiruma-Lima, C.A., Takahira, R.K., Padovani, C.R., Pellizzon, C.H. (2013).** Effect of menthol in experimentally induced ulcers: Pathways of gastroprotection. *Chemico-biological inter*, 206 (2), 272–278.

S

- **Saad, S.F., Agha, A.M et Amrin, A-N. (2001).** Effect of the bromazepam on the gastric ulcer induced by the stress at the rat and its relation with the neurotransmetteurs of the brain. *Pharmacol Res*, 44 (6): 495- 501.
- **Sabir, S.M et Rocha. (2008).** Water-extractable phytochemicals from *Phyllanthus niruri* exhibit distinct in vitro antioxidant and in vivo hepatoprotective activity against paracetamol-induced liver damage in mice. *Food Chemistry*, 111: 845–851.
- **Samsong W., (1980).** Physiologie appliqué à la médecine. Médecine-science. Edition Flammarion, Paris: 475 : 479-480.
- **Selling J.A., Hogan H., Aly D.L., Koss M. A., Isengerg, J.I., (1987).** Indometacin inhibits duodenal bicarbonate secretion and endogenous prostaglandin E2 output in human subjects. *Annals of internal medecin*(106): 368-371.
- **Sethi, S. P et Zhang, Q. (2012).** *Hierarchical decision making in stochastic manufacturing systems*. Springer Science & Business Media.
- **Silbernagl, S et Lang, F. (2012).** *Atlas de poche de physiopathologie*. Paris : 2eme édition. P 156.
- **Saias, T et Gallarda, T. (2008).** Réactions d’agressivité sous benzodiazépines: une revue de la littérature Paradoxical aggressive reactions to benzodiazepine use: A review. *L’Encéphale*, 34 : 330-336.
- **Scibior, D et Czczot, H. (2006).** Catalase : structure, properties, functions. *Postepy Hig Med Dosw*, 60: 170-180.
- **Souza Almeida, E.S., Filhob, V.C., Nierob, R., Clasenb, B.K., Baloguna, S.O., Oliveira Martines, D.T. (2011).** Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. StHil. in animal models. *J Ethnopharm*, 134: 630-636.
- **Sorg, O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes rendus biologies*, 327(7): 649-662.
- **Sun, F et Yang, D. (2009).** Advance in chemical constituents of genus *Clematis*. *Zhongguo Zhong yao za zhi, Zhongguo zhongyao zazhi. China journal of Chinese materia medica*, 34(20): 2660-2668.

- **Stevens, A et Lowe, J. (2006).** *Histologie humaine*. Paris : Elsevier. 3^{ème} édition. P 222.
- **Sylvie, D.D., Anatole, P.C., Cabral, B.P., Veronique, P.B(2014).** Comparison of in vitro of the oxidizing anti properties of the extracts of three utilized plants has medical ends with the Cameron: *Acadypha raecemosa, Garcinia lucida and hymelocardia lyrata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2) : 625-532.
- **Szymonik-Lesiuk, S., Czechowska, G., Stryjecka-Zimmer, M., SŁomka, M., Mądro, A., Celiński, K et Wielosz, M. (2003).** Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, 10(4): 309-315.

T

- **Tang, S. Y et Halliwell, B. (2010).** Medicinal plants and antioxidants: what do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies?. *Biochemical and biophysical research communications*, 394(1) :1-5
- **Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B. (2008).** Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.*, 7 (3) : 1089-1099.
- **Togola, A., Karabinta, K., Dénou, A., Haidara, M., Sanogo, R et Diallo, D. (2014).** Effect protecteur des feuilles de *Opilia celtidifolia* contre l'ulcère induit par l'éthanol chez le rat. *International journal of biological and chemical sciences*, 8(6) : 2416- 2423.

V

- **Vallot, T., Mignon, M., Lewin, M.J.M et Bonfils, S. (1996).** Endocrinologie digestive pratique : bases cliniques et théoriques. John libbey eurotext. Pp: 30, 95, 126.

W

- **Wallace, J.L. (2005).** Recent advances in gastric ulcers therapeutics. *Current Opinion in Pharmacology*, 5: 573–577.

- **Waugh, A et Grant, A. (2011).** Chapitre 12 : système digestif. In : *Ross et Wilson ANATOMIE et PHYSIOLOGIE normales et pathologiques*. Paris : Elsevier Masson. 11^{eme} édition. P 308- 310.
- **Whittaker, J.W. (2012).** Non hémique manganèse catalase « l'autre » catalase.*HHS Public Access*, 525 (2) : 111-120.
- **Whittle B., J.R., (1997).** Mechanism underlying gastric mucosal damage induced by indomatacin and bile salts, and the action of prostaglandins.*British Journal of Pharmacology*, (60): 455-460.
- **Wolin, M. S. (1996).** Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. *Microcirculation*, 3(1) : 1-17.

Υ

- **Yesilada, E., & Küpeli, E. (2007).** *Clematis vitalba* L. aerial part exhibits potent anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(3) : 504-515.

Ζ

- **Zeitoun, J.C., Chryssostalis, A et Lefevre, A. (2014).** Chapitre 7 Anatomie de l'estomac. In : *Hépatologie Gastro-entérologie Chirurgie digestive*. Paris : édition Vernazobres- Grego. P 21.

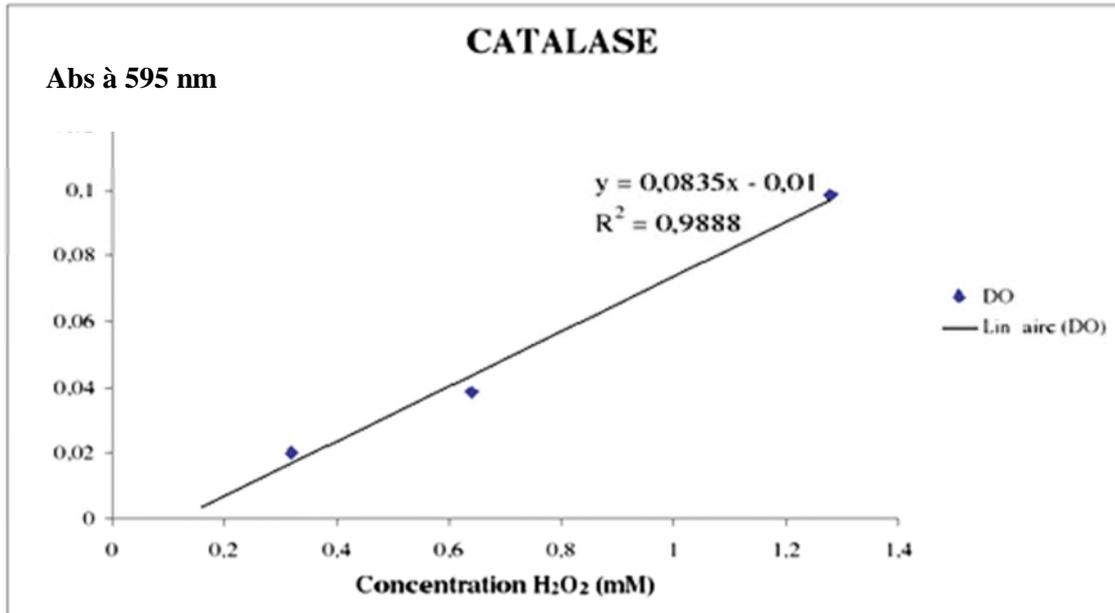
Glossaire

Glossaire

- **Abrasion** : lésion de cause traumatique (chute, accident).
- **Bol alimentaire** : masse d'aliments mâchés - amollis et agglutinés par l'action de la salive, des dents et de la langue - prête à être déglutie.
- **Cellule ECL** : c'est la 1ère cellule endocrine identifié dans le système endocrinien.
- **Chyme** : c'est un liquide qui se trouve dans l'estomac avant le passage de la valve du pylore et l'entrée au duodénum.
- **Cortex** : Partie périphérique des hémisphères cérébraux, siège des fonctions nerveuses les plus élaborées telles que le mouvement volontaire et la conscience
- **Diaphragme** : Muscle très large et mince qui sépare le thorax de l'abdomen
- **Erosion** : lésion élémentaire, correspond à une perte de substance de la couche superficielle de la muqueuse.
- **Gastrite** : inflammation de la muqueuse de l'estomac sans qu'il ait de véritable ulcération.
- **Hypoxie** : Diminution de la concentration d'oxygène dans le sang.
- **Infiltration** : Accumulation anormale de liquide ou de cellules dans un organe ou un tissu.
- **Ischémie** : Est la diminution de l'apport sanguin artériel à un organe. Cette diminution entraîne essentiellement une baisse de l'oxygénation des tissus de l'organe en dessous de ses besoins et la perturbation, voire l'arrêt, de sa fonction.
- **Lésion** : Modification de la structure d'un tissu vivant sous l'influence d'une cause morbide.
- **Nécrose** : mort anormale et non programmé d'une cellule ou tissu.
- **Nerf vague** : Nerf vague, ou vague nom masculin, synonyme de nerf pneumogastrique.
- **Œsophage** : partie du tube digestif qui s'étend jusqu'au cardia.
- **Pepsine** : enzyme naturellement présent dans l'organisme, plus particulièrement dans le suc.
- **Perforation** : formation d'un trou dans un organe creux.

- **Synergisme** : Mise en commun de plusieurs actions concourant à un effet unique et aboutissant à une économie de moyens.
- **Système limbique** : Ensemble de structures cérébrales situées dans la région médiane et profonde du cerveau, jouant un rôle majeur dans la mémoire et les émotions, de même que dans l'élaboration des comportements.
- **Système nerveux sympathique** : Ou système nerveux orthosympathique, met l'organisme en état d'alerte et le prépare à l'activité. Il agit par l'intermédiaire de deux neurotransmetteurs, l'adrénaline et la noradrénaline. Il augmente l'activité cardiaque et respiratoire, dilate les bronches et les pupilles, contracte les artères, fait sécréter la sueur. En revanche, il freine la fonction digestive.
- **Système nerveux parasympathique** : Est en règle générale responsable de la mise au repos de l'organisme. Il agit par l'intermédiaire d'un neurotransmetteur, l'acétylcholine, et ralentit le rythme cardiaque, stimule le système digestif et limite les contractions des sphincters.
- **Uréase** : enzyme qui catalyse la réaction de transformation de l'urée en dioxyde de carbone plus l'ammoniac.
- **Vasodilatation** : Augmentation du calibre des vaisseaux sanguins par relâchement de leurs cellules musculaires.

Annexes



Courbe d'étalonnage de la catalase

Résumé :

Clematis flammula est une plante médicinale utilisée pour le traitement de diverses pathologies en médecine traditionnelle. Cette étude a pour objectif l'évaluation *in vivo* de l'extrait ethanologique. L'administration de cet extrait à des concentrations différentes ont réduit significativement l'ulcère chez des souris induit par le stress, inhibition de peroxyde d'hydrogène, notre extrait a stimulé également l'activité de la catalase, notamment à la dose de 100 mg/kg, qui a montré un effet de 42.84 % comparable à celui obtenu avec le Bromazépan utilisé comme standard 23.79 %. Ces résultats se concordent avec celle de l'activité de la catalase, 29.24 ± 2.98 U / min /mg de protéine pour la dose 100 mg/k et 15.61 ± 1.12 U/min/mg de protéines pour le standard. Les résultats de cette étude contribuent à valider les vertus médicinales de cette plante. Les constituants photochimiques de *C. flammula* sont probablement responsables de leurs propriétés pharmacologiques et pourraient remplacer certains médicaments qui peuvent provoquer des effets secondaires indésirables.

Mots clés :

Clematis flammula, , Extrait de plante, Bromazépan ,ulcère, catalase , H₂O₂

Abstract

Clematis flammula is a medicinal plant used for the treatment of diverse pathologies in traditional medicine. This study aimed at evaluating *in vivo* the ethanolic extract of this plant on stomach ulcer induced by stress. The administration of this extract at different concentrations reduced significantly stress-induced ulcer in mice by inhibition of hydrogen peroxyde. Our extract has equally stimulated the activity of catalase, mainly at 100 mg/kg that demonstrated an effect of 42.84% comparable to that of the reference molecule, Bromazepam (23.79%). These results are in agreement with catalase activity 29.24 ± 2.98 U/min/mg prot for the dose of 100 mg/kg and 15.61 ± 1.12 U/min/mg prot for the reference molecule. The results of this study contribute to the validation of the medicinal virtues of this plant. The phytochemical constituents of *C. flammula* are probably responsible for the pharmacological properties and could replace certain drugs could provoke the undesirable secondary effects.

Key words : *Clematis flammula*, Extract, Bromazepam, ulcer, catalase, H₂O₂

ملخص

ياسمين البر هي نبتة طبية مستخدمة لعلاج الامراض المختلفة في الطب التقليدي ، هذه الدراسة تهدف إلى تقييم تأثير مستخلص الإيثانول على الكائن الحي . يؤدي استعمال جرعات أو تراكيز مختلفة من هذا المستخلص على مجموعة من الفئران من نوع ألبينوس إلى إنخفاض كبير في نسبة القرحة المعدية الناتجة عن التوتر عند هذه الفئران ،وتثبيط عمل بروكسيد الهيدروجين، كما يؤدي الي تحفيز انزيم الكتلاز ، خاصة عند جرعة 100 ملغ/كغ والتي تظهر تأثير تصل عنصر نسبته 42.84 مقارنة مع التأثير المتحصل عليه عند استعمال دواء برومازيپام المستخدم كمعيار بنسبته 23.79 . هذه النتائج تتوافق مع نتائج نشاط الكتلاز 29.24 ± 2.98 مغ /دقيقة من البروتين عند جرعة 100 مغ/كغ 15.61 ± 20.98 مغ /دقيقة من البروتين في المعيار . ان نتائج هذه الدراسة تؤكد الفوائد الطبية لنبتة الياسمين البري وأن مكوناتها الكيموسوية هي على الأرجح المسؤولة عن خصائصها الدوائية والتي تمكنها من تعويض بعض الادوية التي تؤدي الي إظهار تأثيرات جانبية غير مرغوب فيه.

كلمات البحث : ياسمين البر ، مستخلص النبات ، البرومازيپام ، القرحة المعدية ، الكتلاز ، بروكسيد الهيدروجين .