



HAL
open science

**ACTIVITE ANTI DREPANOCYTAIRE,
INVESTIGATIONS PHYTOCHIMIQUE ET
TOXICOLOGIQUE DE LA COMBINAISON DE
QUELQUES PLANTES MEDICINALES UTILISEES
EN CÔTE D'IVOIRE POUR LA PRISE EN CHARGE
DE LA DREPANOCYTOSE**

Tatiana Kangah Mireille KPLE Epse COULIBALY

► **To cite this version:**

Tatiana Kangah Mireille KPLE Epse COULIBALY. ACTIVITE ANTI DREPANOCYTAIRE, INVESTIGATIONS PHYTOCHIMIQUE ET TOXICOLOGIQUE DE LA COMBINAISON DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES UTILISEES EN CÔTE D'IVOIRE POUR LA PRISE EN CHARGE DE LA DREPANOCYTOSE. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Félix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire, 2022. Français. NNT: . tel-04180932

HAL Id: tel-04180932

<https://hal.science/tel-04180932>

Submitted on 19 Aug 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de Biologie et Santé

Année Universitaire
2021 - 2022

THÈSE

Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de l'Université
Félix HOUPHOUËT- BOIGNY

Spécialité : Pharmacologie des Substances Naturelles

**Mme KPLE TATIANA KANGAH MIREILLE
Epse COULIBALY**

Numéro d'ordre
2541 / 2022

**ACTIVITE ANTI DREPANOCYTAIRE, INVESTIGATIONS
PHYTOCHIMIQUE ET TOXICOLOGIQUE DE LA
COMBINAISON DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES
UTILISEES EN CÔTE D'IVOIRE POUR LA PRISE EN
CHARGE DE LA DREPANOCYTOSE**

Commission du jury

M. DJAMAN Allico Joseph	Professeur Titulaire	UFHB	Président
M. KRA Adou Koffi Mathieu	Maître de Conférences	UFHB	Directeur
Mme YAPO-Crezoit Antoinette	Maître de Recherches	IPCI	Co-Directrice
M. SANOGO Ibrahima	Professeur Titulaire	UFHB	Rapporteur
M. BLEYERE Nahounou Mathieu	Maître de Conférences	UNA	Rapporteur
M. KONE Mamidou Witabouna	Professeur Titulaire	UNA	Examineur

Soutenue publiquement
Le 31 / Mai / 2022



DÉDICACE

Je dédie ce présent travail :

A feu mon père Monsieur **AKA Kplé Albert**, merci pour ton amour, ton éducation, ta rigueur au travail qui m'ont permis d'être à ce niveau et surtout de m'avoir donné la chance d'être scolarisé. J'aurais souhaité que tu voies l'aboutissement de ce travail, mais l'Eternel en a décidé autrement. Que DIEU fasse que ton âme repose en paix.

A feu mon oncle Monsieur **GUIRE Paul Moctar**, merci pour ton amour, ta rigueur et surtout tes derniers conseils avant ton rappelle à Dieu. J'aurais souhaité que tu voies l'achèvement de ce travail. Que DIEU fasse que ton âme repose en paix.

A ma mère **BROU Aya Beatrice**, je te remercie infiniment pour ton dévouement à mon éducation et à celle de mes frères et sœurs. Merci pour ses nombreux sacrifices et ta protection ; sache Maman que je te rendrai toujours hommage.

A mon beau père **MOUNKAILA Issaka**, je te remercie pour m'avoir encouragé dans mes études et pour tant de sacrifices que tu as faits pour moi. Que Dieu te bénisse infiniment.

A mon époux **COULIBALY Beh**, ces écrits ne sont pas suffisants pour exprimer mon infinie gratitude. Merci pour ta patience et ton soutien sans faille. Tu as cru, tu y as mis du tien : assistance matérielle, financière, et morale. Reçois ce travail, fruit de tes efforts et de tout mon amour. Que Dieu te bénisse.



AVANT-PROPOS

La drépanocytose, encore appelée anémie falciforme, est une maladie génétique héréditaire qui, en raison de sa fréquence et de sa gravité, est un problème de santé publique dans de nombreuses régions. Cette maladie génétique est caractérisée par une grande variabilité d'expression, une physiopathologie complexe et des moyens thérapeutiques coûteux, suscitant ainsi de nombreuses interrogations au coeur d'une recherche. En dépit des progrès réalisés, la drépanocytose reste toujours associée à une morbidité et une mortalité significatives.

En Afrique, tout comme dans d'autres régions d'endémie drépanocytaire la difficulté d'accéder aux soins de santé primaire; l'insuffisance et la mauvaise répartition de personnel médical de même que les comportements socioculturels font que plus de 80% de la population recourent à la médecine traditionnelle pour se prendre en charge. C'est dans ce cadre que l'approche ethnopharmacologique est une voie prometteuse en ce sens que plusieurs molécules ont été extraites des plantes médicinales.

Les travaux de cette thèse ont pour objectif de contribuer à la prise en charge thérapeutiques des patients drépanocytaires. Il a été motivé par plusieurs raisons dont :

- la mortalité infantile due à la drépanocytose ;
- le coût élevé de la prise en charge de la drépanocytose, reposant sur des traitements lourds avec leurs risques propres (toxicité, infections et incompatibilité du donneur). D'où la nécessité d'une thérapeutique alternative à base de plantes de la Côte d'Ivoire ;
- la volonté d'apporter une preuve scientifique permettant de confirmer ou d'infirmer l'usage d'une recette à base de plantes médicinales en milieu traditionnel ;
- et la recherche de Médicament Traditionnel Amélioré destiné à soulager les drépanocytaires.

La réalisation de ces travaux a bénéficié de la collaboration de plusieurs Laboratoires de l'Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY et ceux de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.



REMERCIEMENTS

Au terme de cet travail, j'exprime mes sincères remerciements à ceux et celles qui de près ou de loin, m'ont accompagné et soutenue pour mener à bien ce travail. En effet, cette thèse n'aurait pas pu se réaliser sans l'apport scientifique et moral des personnes qui m'ont entourée. Je voudrais donc remercier: **M. Ballo Zie**, Professeur Titulaire en Science Economique et Président de l'Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY pour sa rigueur dans la gestion de l'Université et sa stratégie pour la formation de qualité des étudiants.

Mme Dosso Mireille, Professeur Titulaire de Microbiologie, Directrice de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour m'avoir accueillie au sein de cet institut de recherche et de m'avoir permis d'y faire nos travaux de recherche.

M. Kouamelan Essetchi Paul, Professeur Titulaire d'Hydrobiologie et Doyen de l'UFR Biosciences de l'Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY pour la réalisation de nos projets de recherche.

M. Yapi Ahoua, Professeur Titulaire d'Anthomologie-Parasitologie et Directeur du Laboratoire de Biologie et Santé de l'UFR Biosciences de l'Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY pour son aide académique quant à la réussite de nos formations.

M. Djaman Allico Joseph, Professeur Titulaire de Biochimie-Parasitologie, Responsable de l'UPR de Pharmacodynamie-Biochimique (UFR Biosciences), Chef du Département de Biochimie Médicale et Fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour la confiance qu'il m'a accordée en m'acceptant dans son unité. Je tiens à lui exprimer mon profond respect et mon immense gratitude. Sans être le Directeur de cette thèse, vous avez contribué substantiellement à la réalisation de ce travail. Cher Maître, je ne saurai oublier votre grandeur d'esprit critique, votre dynamisme, votre humilité et votre bonté sans faille. Merci pour toutes ces qualités humaines. Puisse Dieu vous le rendre au centuple. Merci également d'avoir accepté de présider le jury de la soutenance de cette thèse.

Je remercie **M. N'Guessan Jean David**, Professeur Titulaire de Biochimie, vice Doyen chargé de la pédagogie à l'UFR Biosciences, Directeur-adjoint de l'UPR de Pharmacodynamie-Biochimique. Je vous remercie, pour m'avoir permis de travailler sur un sujet que je trouve passionnant. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

M. Kra Adou Koffi Mathieu, Maître de Conférences en Biochimie-Microbiologie du Laboratoire de Biologie et Santé de l'UFR Biosciences à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, mon Directeur de thèse, pour sa confiance en acceptant de diriger mes travaux de recherche et en me faisant bénéficier de son expérience, ses soutiens administratifs et académiques. Cher Maître, votre rigueur dans le travail, votre disponibilité dans l'encadrement ainsi que votre abnégation dans l'investigation scientifique m'ont servi à produire cette thèse. Soyez assuré, Cher Maître, de mon estime et de ma profonde gratitude.

Je remercie également Mme **Yapo-Crezoit Claire Chiaye Antoinette**, Maître de Recherche en Immunologie-Allergologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et chef de l'Unité du Pôle de Biologie de l'Immunité (PBI) ma Co-Directrice de m'avoir acceptée dans son laboratoire pour effectuer des tests. Son soutien et ses encouragements tout au long de mon stage ont été d'un grand apport. Vous m'avez permis de travailler dans un cadre adéquat et d'avoir eu l'opportunité de me former à la recherche.

Je remercie **M. Sanogo Ibrahima**, Professeur Titulaire en Hématologie Clinique à l'UFR des Sciences Médicales d'Abidjan de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY et Chef du Service d'hématologie Clinique du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Yopougon. Je vous remercie de m'avoir acceptée dans votre laboratoire, pour recenser des patients dans le cadre du travail. Merci pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury en tant qu'instructeur de cette thèse.

M. Koné Mamidou Witabouna, Professeur Titulaire en Biologie Végétale et Phytochimie de l'Université NANGUI ABROGOUA (Abidjan). Cher Maître, vos critiques et suggestions se rattachant à l'amélioration des travaux scientifiques, ont toujours été des plus pertinentes. Merci infiniment d'accepter de siéger dans ce jury en tant qu'examineur de cette thèse.

M Bléyééré Nahounou Mathieu, Maître de Conférences en Physiologie Animale / Physiologie et Physiopathologie de la nutrition humaine et animale de l'Université NANGUI ABROGOUA (Abidjan). Votre rigueur dans le travail et vos remarques pertinentes m'ont permis d'améliorer ce manuscrit, merci également pour tous vos conseils.

Je remercie également Mme **Fofié Yvette**, Maître de Conférences Agrégé en pharmacognosie au Département de Pharmacognosie, Botanique, Cryptogamie, Biologie et Physiologie Végétale de l'UFR des Sciences Pharmaceutique et Biologique à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY. Je vous remercie de m'avoir acceptée dans votre Laboratoire, pour effectuer des tests depuis le Master. Sachez que votre soutien, vos encouragements et vos conseils ont été très précieux pour moi.

Je remercie **M. Essy Kouadio Fodjo**, Maître de Conférences en Chimie Analytique-Nanoscience au Laboratoire de Chimie-Physique de l'UFR des Sciences des Structures de la Matière et Technologie à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY pour ses encouragements, ses conseils et sa disponibilité. Je vous remercie de m'avoir acceptée dans votre Laboratoire, pour effectuer mes tests.

M. Gnahou Goueh Laurent, Maître de Conférences en Biochimie de l'Ecole Normale Supérieure d'Abidjan (ENS). Grâce à votre diligence, j'ai effectué la réalisation pratique de mes différents tests au sein de l'animalerie de l'ENS. Recevez l'expression de ma gratitude.

Je remercie également l'ensemble du corps Enseignant de l'Unité Pédagogique et de Recherche (UPR) de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences pour l'encadrement et le soutien pendant ma

formation académique.

1- Professeurs Titulaires	4 Maîtres-Assistants
Monsieur DJAMAN A. Joseph ^{Directeur de UPR}	Monsieur AHUA Maximin
Monsieur BIDIE A. Dit Philippe	Monsieur DJYH Bernard Nazaire
Monsieur N'GUESSAN J. David	Monsieur KOUASSI K. Serge
Monsieur YAPI H. Félix	Monsieur OUATTARA Sitapha
Monsieur YAPO A. Félix	Monsieur KOUASSI Konan
	Monsieur PAKORA Gilles Alex
	Madame AGRE J. Épse KOUADIO
2 Maîtres de Conférences	5- Chargés de Recherche
Monsieur BAGRE Issa	Monsieur AKAPO-AKUE Joël
Monsieur BAHY Calixte	Madame LUTTY A. Constance
Monsieur BLA K. Brice	
Monsieur KRA Adou M.	
Monsieur TREBISSOU Johnson Noël	
Monsieur YEO Dodéhé	
Madame THES P. M. Épse SOUMAHORO	
3 Maîtres de Recherche	6-Assistants
Monsieur KIPRE Rolland	Monsieur BAMBABA Abou
	Monsieur DAGNOGO Oléfongo
	Monsieur YOUAN Gouanda Pascale

J'exprime ma profonde reconnaissance aux **Docteurs Golly Julien, Ahon Marcel, Ako, Bahi Alexis, Dedou Denis, Sea Eudes, N'zi Sylvere, Karamoko Cherif, Kpan Eudes, Koua Donalde, Ouattara Aboulaye, Die Romarique, N'Guessan Jean-Luc, Yomanfo Pacome, Kanga Armand, Koulai Diane et M'boh Reine** pour leurs précieux conseils, leurs soutiens matériels et leur grande disponibilité tout au long de ce travail.

A mes Devanciers et mes amis de promotion, **Gnondjui Albert, Gneo Arioste, Gono Nestor, Hadja Meite, Konan Ange, Irie Williams, Aka Martin, Kouakou Boris, Abizi George, Konan Jhon, Kouassi Begbin, Kouadio Larissa, Money Urbain, Kouadio Romeo et Ekissi Amos.**

Au personnel et stagiaires de l'IPCI pour leur collaboration continue, leurs conseils plus particulièrement, **Mme Kroukan Estelle, Messieurs Bazan Pacome, Somplei Michelle, Konan Jule et Konan Phillippe.**

A ma mère spirituelle **KONE Delphine épse HALA**, merci maman pour le soutien spirituel, moral et physique. A vous mes frères et sœurs **Honoré, Didier, Moustapha, Fatime et Daouda.** Je bénirai toujours le nom du Seigneur qui vous a mis sur mon chemin.

Enfin, j'exprime également ma profonde gratitude à ceux qui m'ont apporté leur soutien d'une manière ou d'une autre et dont les noms ne figurent pas dans le présent document. Que DIEU vous bénisse.



TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	I
AVANT-PROPOS.....	III
REMERCIEMENTS.....	V
TABLE DES MATIÈRES	IX
Liste des abréviations	XVIII
Liste des figures.....	XX
Liste des tableaux	XXIII
INTRODUCTION	1
I-REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
1-1- Généralités sur les cellules sanguines	5
1-1-1- Hématopoïèse.....	5
1-1-2- Le sang	5
1-1-2-1- Composition et fonction du sang.....	5
1-1-2-1-1- Globules rouges.....	5
1-1-2-1-2- Thrombocytes	6
1-2- Généralités sur la drépanocytose	6
1-2-1- Définition	6
1-2-2- Historique.....	7
1-2-3- Epidémiologie	8
1-2-4- Syndromes drépanocytaires	11
1-2-5- Mécanismes physiopathologiques de la drépanocytose.....	11
1-2-5-1- Structure et fonction de l'hémoglobine humaine.....	11
1-2-5-2- Caractéristiques de l'hémoglobine S	12
1-2-5-2-1- Structure du polymère	12
1-2-5-2-2- Effets de l'hémoglobine Fœtale sur la polymérisation de l'Hb S	12
1-2-5-3- Conséquences de la polymérisation.....	14

1-2-5-3-1- Anomalies structurales du globule rouge drépanocytaire.....	14
1-2-5-3-1-1- Altération des lipides	14
1-2-5-3-1-2- Altération des protéines	14
1-2-5-3-2- Anomalies fonctionnelles	15
1-2-5-3-2-1- Déshydratation des globules rouges.....	15
1-2-5-3-2-2- Anomalies hémorhéologiques.....	16
1-2-6- Physiopathologie complexe	17
1-2-6-1- Adhérence cellulaire	17
1-2-6-1-1- Interactions entre globules rouges et cellules endothéliales.....	17
1-2-6-1-2- Interactions cellulaires entre leucocytes et cellules endothéliales.....	18
1-2-6-1-3- Intervention des plaquettes sanguines	18
1-2-6-1-4- Interaction entre cellules circulantes	18
1-2-6-1-5- Activation cellulaire	18
1-2-6-2- Anomalies du tonus vasculaire	19
1-2-6-3- Hémolyse intravasculaire.....	20
1-2-6-4- Oxydation tissulaire	21
1-2-7- Stress oxydant acteur majeur de la physiopathologie	22
1-2-7-1- Espèces réactives de l’oxygène	22
1-2-7-2- Sources du stress oxydant dans la drépanocytose.....	22
1-2-7-2-1- Auto-oxydation de l’hémoglobine.....	22
1-2-7-2-2- Xanthine oxydase	23
1-2-7-2-3- NADPH oxydase	23
1-2-7-2-4- Autres sources.....	23
1-2-8- Manifestations clinique de la drépanocytose	24
1-2-8-1- Episodes douloureux aigus en raison des crises vaso-occlusives	24
1-2-8-2- Anémie hémolytique.....	24

1-2-8-3- Accident vasculaire cérébral	25
1-2-8-4- Susceptibilité accrue aux infections.....	25
1-2-8-5- Autres complications chroniques de la drépanocytose	26
1-2-9- Prises en charge thérapeutiques de la drépanocytose.....	26
1-2-9-1- Prises en charge modernes	26
1-2-9-1-1- Action des analgésiques.....	26
1-2-9-1-2- Action de l'hydroxy-urée.....	26
1-2-9-1-3- Transfusion sanguine	26
1-2-9-1-4- Greffe de moelle osseuse.....	27
1-2-9-1-5- Antioxydants.....	27
1-2-9-1-5-1- Systèmes antioxydants enzymatiques	28
1-2-9-1-5-1-1- Superoxydes Dismutases (SOD).....	28
1-2-9-1-5-1-2- Catalase.....	28
1-2-9-1-5-1-3- Glutathion peroxydases	28
1-2-9-1-5-2- Systèmes antioxydants non enzymatiques	29
1-2-10- Prévention	29
1-2-11- Phytothérapie.....	30
1-3- Généralités sur les plantes étudiées	31
1-3-1- <i>Jatropha gossypifolia</i> L. (Euphorbiaceae).....	31
1-3-1-1- Utilisation traditionnelle	31
1-3-1-2- Propriétés pharmacologiques.....	31
1-3-2- <i>Justicia secunda</i> (Vahl) (Acanthaceae).....	31
1-3-2-1- Utilisation traditionnelle	31
1-3-2-2- Propriétés pharmacologiques.....	32
1-3-3- <i>Parquetina nigrescens</i> (Alzel) (Periplocaceae).....	32
1-3-3-1- Utilisation traditionnelle	32

1-3-3-2- Propriétés pharmacologiques.....	32
1-3-4- <i>Zanthoxylum leprieurii</i> (Guill) (Rutaceae)	32
1-3-4-1- Utilisation traditionnelle	32
1-3-4-2- Propriétés pharmacologiques.....	32
1-3-5- <i>Harungara madagascariensis</i> (Lam) (Rutaceae)	33
1-3-5-1- Utilisation traditionnelle	33
1-3-5-2- Propriétés pharmacologiques de <i>Harungana madagascariensis</i>	33
1-3-6- <i>Disthemonanthus bentamianus</i> (Bail) (Fabaceae).....	33
1-3-6-1- Utilisation traditionnelle	33
1-3-6-2- Propriétés pharmacologiques.....	33
1-3-7- <i>Afromonum melegueta</i> (K Schum) (Zingiberaceae)	34
1-3-7-1- Utilisation traditionnelle	34
1-3-7-2- Propriétés pharmacologiques.....	34
1-3-8- <i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich (Annonaceae)	34
1-3-8-1- Utilisation traditionnelle	34
1-3-8-2- Propriétés pharmacologiques.....	34
II- MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	35
2-1- Zone d'étude	36
2-2- Matériel d'étude	36
2-2-1- Matériel biologiques	36
2-2-1-1- Matériel végétal	36
2-2-1-2- Population d'étude.....	39
2-2-1-3- Matériel animal	39
2-2-2- Produits et consommables.....	39
2-2-3- Matériel technique.....	40
2-3- Méthode d'études	41

2-3-1- Enquête ethnobotanique	41
2-3-2- Récolte et conditionnement du matériel végétal	42
2-3-3- Préparation des extraits végétaux.....	42
2-3-3-1- Préparation de l'extrait hydroéthanolique	42
2-3-3-2- Préparation de l'extrait aqueux par décoction	43
2-3-4- Tri phytochimique des extraits.....	43
2-3-4-1- Stéroïls et polyterpènes	43
2-3-4-2- Polyphénols.....	44
2-3-4-2-1- Flavonoïdes	44
2-3-4-2-2- Tanins	45
2-3-4-3- Substances quinoniques	45
2-3-4-4- Alcaloïdes	45
2-3-5- Dosage des composés phénoliques	46
2-3-5-1- Dosage des phénols totaux.....	46
2-3-5-2- Dosage des flavonoïdes	46
2-3-6- Evaluation de l'activité anti-oxydante <i>in vitro</i>	47
2-3-6-1- Mesure de l'activité antiradicalaire	47
2-3-6-2- Mesure du pouvoir réducteur.....	48
2-3-7- Etude de la toxicité.....	48
2-3-7-1- Evaluation de la toxicité aiguë des trois recettes	48
2-3-7-2- Etude de la toxicité subaiguë	49
2-3-7-2-1- Prélèvement de sang et des organes des animaux	50
2-3-7-2-2- Méthodes de dosage des marqueurs hématologiques et biochimiques	51
2-3-7-2-2-1- Dosage des paramètres hématologiques	51
2-3-7-2-2-2- Dosage des paramètres biochimiques	51
2-3-7-2-2-2-1- Dosage des marqueurs sériques du foie.....	52
2-3-7-2-2-2-2- Dosage des marqueurs sériques des reins.....	53

2-2-7-2-2-3- Bilan lipidique et glycémie	55
2-2-7-2-3- Étude histopathologique	58
2-2-7-2-3-1- Fixation des organes.....	58
2-2-7-2-3-2- Déshydratation et imprégnation	58
2-2-7-2-3-3- Imprégnation	58
2-2-7-2-3-4- Inclusion à la paraffine.....	58
2-2-7-2-3-5- Coupe des blocs	59
2-2-7-2-3-6- Montage et déparaffinage des coupes	59
2-2-7-2-3-7- Coloration des coupes	59
2-2-7-2-3-8- Montage	59
2-2-8- Tests biologiques <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	60
2-2-8-1- Test antifalcémiant.....	60
2-2-8-1-1- Lavage de l'échantillon de sang	60
2-2-8-1-2- Evaluation de la falciformation	60
2-2-8-1-3- Observation au microscope à immersion	60
2-2-8-2- Test de fragilité de la membrane érythrocytaire et de stabilité membranaire	61
2-2-8-2-1- Préparation de solution de NaCl.....	61
2-2-8-2-2- Préparation des contrôles.....	61
2-2-8-2-3- Effet des extraits de plantes sur la membrane	61
2-2-8-3- Détermination de l'activité antianémique	62
2-2-8-4- Détermination de l'activité analgésique	62
2-2-8-5- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	63
2-2-8-5-1- Test d'inhibition de l'œdème de la patte du rat à la Carragénine	63
2-2-8-5-2- Test d'inhibition de l'œdème de la patte du rat avec l'Adjuvant Complet de Freund	64
2-3- Analyses statistiques.....	66
III- RÉSULTATS ET DISCUSSION	67

3-1- Résultats	68
3-1- Etude ethnobotanique	68
3-1-1- Profil démographique des praticiens de la médecine traditionnelle	68
3-1-4- Organes, modes de préparation et d'administration des médicaments	77
3-2- Composition phytochimique des plantes et leurs combinaisons selon l'enquête.....	79
3-3- Teneurs en composés phénoliques.....	79
3-3-1- Teneurs en phénols totaux.....	79
3-3-2- Teneur en flavonoïdes totaux	82
3-4- Potentiel antioxydante des extraits des trois recettes de plantes	84
3-4-1- Pouvoir inhibiteur du radical DPPH	84
3-4-2- Pouvoir réducteur de l'ion ferrique en ion ferreux	87
3-5- Toxicité des extraits.....	89
3-5-1- Toxicité aiguë des extraits issus de trois recettes	89
3-5-1-1- Effets des extraits aqueux des trois recettes sur la mortalité des rattes.	89
3-5-1-2- Effets des extraits hydroéthanoliques des trois recettes sur la mortalité des rattes.	89
3-5-1-3- Effets des deux recettes sur le poids corporel des rats femelles.	89
3-5-2- Toxicité subaiguë	92
3-5-2-1- Comportement des animaux	92
3-5-2-2- Effet des extraits de plantes sur la masse corporelle	92
3-5-2-3- Effet de l'extrait sur le poids des organes.....	92
3-5-2-4- Effet des extraits de plantes sur les paramètres hématologiques	97
3-5-2-4-1- Effet de l'extrait aqueux (DZHm)	97
3-5-2-4-2- Effet de l'extrait hydroéthanolique (EZHm)	97
3-5-2-5- Effet des extraits des plantes sur les paramètres biochimiques	98
3-5-2-5-1- Effet de l'extrait aqueux (DZHm)	98
3-5-2-5-2- Effet de l'extrait hydroéthanolique (EZHm)	98

3-5-2-6- Effet des extraits des plantes sur la variation sanguine des ions (P, Ca et Mg)	98
3-5-2-7- Etude histopathologique	98
3-6- Effet des extraits de plantes sur l'inhibition de la falciformation	110
3-6-1- Effet de DZHm sur l'inhibition de la falciformation en présence du métabisulfite de sodium .	110
3-6-2- Effet de EZHm sur l'inhibition de la falciformation en présence du métabisulfite de sodium .	112
3-7- Effet des extraits de plantes sur la fragilité corpusculaire moyenne des globules rouges SS	114
3-8- Potentiel antianémique des extraits de la recette ZHm	118
3-8-1- Effet des extraits de ZHm sur les paramètres hématologiques	118
3-8-2- Effet des extraits aqueux et hydro-éthanolique de ZHm sur le poids des rats	122
3-9- Pouvoir analgésique des extraits de la recette ZHm.....	124
3-9-1- Effet analgésique de DZHm sur les cotorsions	124
3-9-2- Effet analgésique d'EZHm sur les cotorsions	124
3-10- Potentiel anti-inflammatoire des extraits de la recette ZHm.....	127
3-10-1- Effet des extraits sur l'inflammation aiguë.....	127
3-10-2-1- Effet des extraits sur la masse corporelle.....	130
3-10-2-2- Effet des extraits sur l'œdème de la patte	130
3-10-2-3- Effet des extraits sur les paramètres hématologiques	134
3-2-DISCUSSION	138
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	157
IV- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	160



LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN	:	Acide désoxyribonucléique
ALAT	:	Transaminase glutamo-pyruvique sérique
ARG	:	Arginine
ASAT	:	Transaminase glutamo-oxaloacétique sérique
ASP	:	Acide aspartique
AVC	:	Accident vasculaire cérébral
BHT	:	Butyle hydroxy toluène
CFA	:	Adjuvent Complet de Freund
CHU	:	Centre hospitalier universitaire
CI50	:	Concentration inhibitrice 50
CVO	:	Crise vaso-occlusive
DbA	:	Mélange d' <i>a. Melegueta</i> et <i>D. Benthamianus</i>
DDbA	:	Décocté du mélange d' <i>a. Melegueta</i> et de <i>D. Benthamianus</i>
DJJP	:	Décocté du mélange d' <i>a. Melegueta</i> , de <i>J. Gossypifolia</i> , de <i>J. Secunda</i> et de <i>P. Nigrescens</i> .
DO	:	Densité optique
DPPH	:	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
DZHm	:	Décocté du mélange de <i>X. Aethiopica</i> , <i>Z. Leprieurii</i> et <i>H. Madagascariensis</i> .
EAG	:	Equivalent d'acide gallique
EDbA	:	Extrait hydroéthanolique du mélange d' <i>a. Melegueta</i> , de <i>D. Benthamianus</i>
EDTA	:	Acide éthylène diamine tétraacétique
EJJP	:	Extrait hydroéthanolique du mélange d' <i>a. Melegueta</i> , de <i>J. Gossypifolia</i> , de <i>J. Secunda</i> et de <i>P. Nigrescens</i> .
EQ	:	Equivalent de la Quercetine
ERA ou RNS	:	Espèces réactives de l'azote
ERO ou ROS	:	Espèces réactives de l'oxygène
EZHm	:	Extrait hydroéthanolique du mélange de <i>X. Aethiopica</i> , <i>Z. Leprieurii</i> et <i>H. Madagascariensis</i>
(FICC)	:	Fédération Internationale de Chimie Clinique
FRAP	:	Ferric reducing antioxidant parameter
GLU	:	Acide glutamique
GMPC	:	Guanosine monophosphate cyclique
GR	:	Globule rouge
GSH	:	Glutathion réduit
GSSG	:	Glutathion oxydé
H2O2	:	Peroxyde d'hydrogène
Hb A	:	Hémoglobine A
Hb F	:	Hémoglobine foetale
Hb S	:	Hémoglobine S
HF	:	Haute fréquence
HPLC	:	High performance liquid chromatography
IL-1	:	Interleukine 1
INF-y	:	Interféron

JJP	:	Mélange d' <i>A. melegueta</i> , de <i>J. gossypifolia</i> , de <i>J. secunda</i> et de <i>P. nigrescens</i> .
NAD	:	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADP	:	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH	:	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
NO	:	Monoxyde d'azote
NOS	:	Nitric oxide synthase
O ₂ ⁻	:	Anion superoxyde
OH ⁻	:	Radical hydroxyle
ONOOH	:	Nitroperoxyde
PC	:	Poids corporel
pH	:	Potentiel hydrogène
PHE	:	Phénylalanine
PHZ	:	Phényldrazine
PS	:	Phosphatidylsérine
ROO	:	Radical peroxy
SOD	:	Superoxyde dismutase
STA :	:	Syndrome thoracique aigu
TCA	:	Acide trichloroacétique
TNF α	:	Facteur de nécrose tumorale α
TGF β	:	Facteur de croissance β
TYH	:	Tyrosine
ZHm	:	Mélange de <i>X. Aethiopica</i> , <i>Z. Leprieurii</i> et <i>H. Madagascariensis</i>



LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Model d'obstruction d'un vaisseau sanguin par les globules rouges falciformes	9
Figure 2 : Distribution historique et contemporaine de la drépanocytose	10
Figure 3 : Schématisation de la molécule d'hémoglobine	13
Figure 4 : Situation géographique de la zone d'étude (Logiciel ArcGIS 10.5)	37
Figure 5 : Nombre d'espèces de plantes recensées par famille botanique	70
Figure 6 : Pourcentages d'utilisation des organes de plantes pour la préparation des recettes traditionnelles	78
Figure 7 : Teneurs en phénols totaux des extraits aqueux et hydroéthanoliques de trois recettes de plantes	81
Figure 8 : Teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux et hydroéthanoliques des trois recettes de plantes	83
Figure 9 : Inhibition du DPPH des différents extraits de plantes.....	85
Figure 10 : Valeurs de Ci_{50} des extraits des trois recettes de plantes et de l'Acide Ascorbique.	86
Figure 11 : Pouvoir réducteur des extraits de trois recettes de plantes et du BHT	88
Figure 12 : Effet des différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm sur de poids corporel des animaux	93
Figure 13 : Effet des différentes doses de l'extrait hydro éthanolique de ZHm sur le gain de poids corporel les animaux	94
Figure 14 : Micrographie du cœur des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm	104
Figure 15 : Micrographie du foie des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm	105
Figure 16 : Micrographie du rein des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm	106
Figure 17 : Micrographie du cœur des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm.....	107
Figure 18 : Micrographie du foie des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm.....	108
Figure 19 : Micrographie du rein des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm.....	109
Figure 20 : Effet de DZHm et de la phénylalanine sur l'évolution du taux de drépanocytes en présence du métabisulfite de sodium en fonction du temps de contact	111

Figure 21 : Effet d'EZHm et de la phénylalanine sur l'évolution du taux de drépanocytes en présence du métabisulfite de sodium en fonction du temps de contact	113
Figure 22 : Evolution du taux de cellules hémolysées en présences des concentrations unique des extraits et la phénylalanine en présence des concentrations croissantes de NaCl.....	117
Figure 23 : Effet des extraits de ZHm sur le taux d'hémoglobine avant et après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez le rat.....	119
Figure 24 : Effet des extraits de ZHm sur le nombre de globules rouges avant et après l'induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez le rat	120
Figure 25 : Effet des extraits de ZHm sur le taux d'hématocrites avant et après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez le rat.....	121
Figure 26 : Effet des extraits de ZHm sur le poids corporel des rats avant et après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez les rats.....	123
Figure 27 : Nombre de torsion en présence de l'Ibuprofène et les différentes doses des extraits de la recette ZHm.....	125
Figure 28 : Effet inhibiteur de la douleur des rats traités avec de l'Ibuprofène et les extraits de ZHm après injection de l'acide acétique	126
Figure 29 : Variation du pourcentage d'augmentation de l'œdème des rats traités avec les extraits de la recette ZHm et du Diclofenac	128
Figure 30 : Variation du pourcentage d'inhibition de l'œdème des rats traités avec les extraits de la recette ZHm et le Diclofenac	129
Figure 31 : Variation du poids des rats avec les extraits de ZHm et du Diclofenac	131
Figure 32 : Variation du diamètre de l'œdème des rats avec les extraits de ZHm.....	132
Figure 33 : Variation du pourcentage d'inhibition de l'œdème des rats avec les extraits de ZHm	133



LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Liste des espèces végétales et les organes utilisés.....	38
Tableau II : Informations générales sur les herboristes enquêtés.....	69
Tableau III : Données sur quelques plantes anti-drépanocytaires recensées dans l’Indenié-Djouablin	71
Tableau IV : Caractéristiques des différentes recettes de plantes et leurs modes d’emploi dans le traitement de la drépanocytose	74
Tableau V : Résultats du tri phytochimique réalisé sur les différents extraits de plantes.....	80
Tableau VI : Mortalité des rates en fonction de la dose des extraits aqueux et hydroéthanoliques des trois recettes	90
Tableau VII : Evolution du poids moyen en gramme (g) des rates traitées avec les extraits aqueux et hydroéthanoliques des recettes	91
Tableau VIII : Effets des différentes doses de l’extrait aqueux de ZHm sur le poids frais des organes des rats mâles et femelles après 28 jours de traitements	95
Tableau IX : Effets des différentes doses de l’extrait hydroéthanolique de ZHm sur le poids frais des organes des rats mâles et femelles après 28 jours de traitements	96
Tableau X : Effet des différentes doses de l’extrait aqueux de ZHm sur les paramètres hématologiques des rats après 28 jours de traitement.....	99
Tableau XI : Effet des différentes doses de l’extrait hydroéthanolique de ZHm sur les paramètres hématologiques des rats après 28 jours de traitement	100
Tableau XII : Effet des différentes doses de l’extrait aqueux de ZHm sur les paramètres biochimiques des rats après 28 jours de traitement.....	101
Tableau XIII : Effets des différentes doses de l’extrait hydroéthanolique 70 % de ZHm sur les paramètres biochimique des rats après 28 jours de traitement	102
Tableau XIV : Effet des extraits des plantes sur la variation des ions sanguin	103
Tableau XV : Effet des différentes doses de DZHm et du Diclofenac sur les paramètres hématologiques des rats arthritiques après 21 jours de traitement	136
Tableau XVI : Effet des différentes doses d’EZHm et du Diclofenac sur les paramètres hématologiques des rats arthritiques après 21 jours de traitement	137



INTRODUCTION

Les hémoglobinopathies sont des affections constitutionnelles conséquentes à des anomalies des hémoglobines. Elles présentent deux types d'anomalies : les anomalies de synthèse des chaînes de globine dite thalassémies et les anomalies de structure de l'hémoglobine appelée hémoglobinose (**Renaudier, 2014**). Les thalassémies sont principalement subdivisées en thalassémies de type α et β (ou γ). Les α et β -thalassémies sont dues d'une part, à un déficit de synthèse des chaînes α -globine et β -globine respectivement et d'autre part aux persistances héréditaires de l'hémoglobine fœtale (**Eaton et Bunn, 2017**).

Quant à la drépanocytose, encore appelée anémie falciforme, elle est due à une anomalie génétique à transmission autosomique récessive (**Lamine et al., 2017**). Elle est conséquente à une mutation ponctuelle du gène β -globine situé sur le chromosome 11. Cette mutation entraîne la synthèse d'une hémoglobine anormale appelée hémoglobine S (HbS). En situation d'hypoxie, les hémoglobines S se polymérisent (**Renaudier, 2014 ; Aubry et Gaüzère, 2019**). Cette polymérisation provoque le changement de la forme biconcave des globules rouges en forme faucille. La forme faucille empêche une bonne circulation des globules rouges dans les capillaires provoquant ainsi une ischémie source de crise vaso occlusives (**Mrarilyn et al., 2019 ; Kugler, 2020**). Les crises vaso occlusives, les anémies hémolytiques et une grande susceptibilité aux infections sont les signes cliniques couramment observés chez les sujets drépanocytaires homozygotes (**Mrarilyn et al., 2019**).

La drépanocytose est essentiellement présente dans les régions tropicales. Sa propagation dans le monde résulte de la combinaison d'un ensemble de facteurs dont les migrations, les mariages consanguins et les mariages à statut hémoglobinique peu connu. La prévalence est plus de 5 % au plan mondial (**OMS, 2012**). En Afrique Subsaharienne et centrale, le taux du trait drépanocytaire est compris entre 15 à 25 % (**Aubry et Gaüzère, 2019**). Chaque année en Afrique, la drépanocytose touche près de 275 000 nouveaux nés, dont 85 % de naissance en Afrique Subsaharienne (**Piel et al., 2013 ; Piel, 2017**). Selon **Piel (2017)**, 85 % des nouveaux nés n'atteignent pas l'âge de 5 ans. Cette situation est accentuée par la pauvreté, le manque de dépistage et de vaccinations. Tout comme certains pays de l'Afrique noire, en Côte d'Ivoire, l'on enregistre une prévalence de 14 % de la population totale dont plus de 4 % sont homozygotes ce qui en fait un problème de santé publique (**Sangaré et al., 1998**).

Au niveau curatif, seule la greffe de la moelle osseuse apporte présentement un début de solution satisfaisante tandis que la thérapie génique est en plein développement avec la nouvelle technologie Crisper Cas9. Cependant, ces thérapeutiques très spécialisées nécessitent des infrastructures appropriées, un personnel qualifié avec des moyens financiers élevés. Ces approches thérapeutiques ne sont pratiquées que dans les pays riches (**Kunh et al., 2017 ; Hus et al., 2018**). En Afrique, la prise en charge des malades se fait par une thérapie symptomatique telle que la transfusion sanguine et la prise d'antalgique et ou d'antiinflammatoire non stéroïdien. Mais, ces solutions

présentent des inconvénients. En effet, la transfusion sanguine répétée expose les malades à des risques d'infections (**Lippi et al., 2010 ; Kambalé et al., 2013**). De plus, la difficulté d'accès aux pharmacies et le coût des médicaments rendent la prise des antalgiques difficile et incertaine par les populations rurales à revenus faibles. Les crises drépanocytaires ont un grand impact psycho-social et financier sur les patients et leur famille, car la prise en charge est à vie et onéreuse. En effet, en Côte d'Ivoire, le coût annuel de la prise en charge des patients est largement supérieur à 500 000 Fcfa, sans compter les éventuelles interventions chirurgicales et hospitalisations. Pour pallier cette situation, les populations utilisent les plantes pour soigner tous les symptômes liés à la drépanocytose (**Fatima et al., 2017**).

L'on assiste actuellement à un regain d'intérêt pour les plantes médicinales dans le traitement de plusieurs maladies telles que la drépanocytose et cela malgré les progrès de la médecine moderne (**Yapi, 2013 ; N'Draman-Donou et al., 2015 ; Béné et al., 2016**). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour se soigner (**OMS, 2010 ; Ngbolua et al., 2019**). Bien que dans la médecine traditionnelle ivoirienne de nombreuses plantes soient utilisées par les tradipraticiens, très peu d'études scientifiques ont été réalisées sur l'identification, l'efficacité, l'innocuité et l'activité anti drépanocytaire des plantes médicinales en Côte d'Ivoire.

Au regard du rôle important que jouent les plantes médicinales dans le cas des soins, les remèdes traditionnels à base de plantes constitueraient une alternative médicale du fait de leur grande richesse en composés chimiques bioactifs et de leur disponibilité (**Ngbolua et al., 2019**). En effet, elles sont dotées de propriétés antioxydante (**Diomande et al., 2018**), antimicrobienne (**Yousseu et al., 2019**), antipyrétique (**Murugalakshmi et al., 2014**) et antiplasmodique (**Evelyne et al., 2020**). Aussi, l'activité inhibitrice de la falciformation des érythrocytes a été démontrée dans les travaux de certains auteurs (**N'Draman-Donou et al., 2015 ; Ramde-Tiendrebeogo et al., 2019 et Wembonyama, 2021**). Les plantes à l'étude pourraient avoir un effet sur l'inflammation, le stress oxydatif, l'hémolyse, l'anémie et la falciformation des globules rouges qui sont des symptômes biologiques liés à la physiopathologie de la drépanocytose.

En vu de contribuer à la prise en charge de la drépanocytose, l'objectif de ce travail a été d'évaluer le potentiel antidrépanocytaire et l'innocuité de la combinaison de quelques plantes médicinales en Côte d'Ivoire. Pour atteindre ce but, les objectifs spécifiques ci-après ont été définis :

- Répertorier les plantes médicinales antidrépanocytaires de l'Est de la Côte d'Ivoire ;
- Déterminer la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits de plantes ;
- Étudier les toxicités aiguë et subaiguë des extraits ;
- Explorer les effets de ces extraits de plantes sur les érythrocytes HbSS ;
- Évaluer les activités antianémique, analgésique et anti-inflammatoire de ces extraits de plantes..



**I-REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

1-1- Généralités sur les cellules sanguines

1-1-1- Hématopoïèse

L'hématopoïèse est l'ensemble des phénomènes biologiques qui concourent à la production, au remplacement continu et régulé des cellules sanguines à partir de cellules souches localisées dans la moelle osseuse. Ce sont des phénomènes de duplication, de différenciation, d'amplification et de maturation d'une cellule souche commune à toutes les lignées cellulaires (**Charpentier, 1996**).

Le foie et la rate contiennent des cellules souches pluripotentes chez le fœtus. Ces cellules se différencient sous l'action de facteurs de croissance hématopoïétiques en cellules précurseurs myéloïdes, érythrocytaires et lymphoïdes. Les lymphocytes provenant des précurseurs lymphoïdes, doivent encore subir une maturation pour donner les cellules T dans le thymus et les cellules B dans la moelle osseuse. Tous les autres précurseurs prolifèrent et atteignent leur maturation finale dans la moelle osseuse pour aboutir finalement dans le sang. Après la naissance, à l'âge adulte, l'hématopoïèse a lieu exclusivement dans la moelle osseuse (**Bernard et al., 1996**).

1-1-2- Le sang

Le sang est un liquide rouge, visqueux circulant dans les artères et les veines sous l'action de la pompe cardiaque. Il est plus dense que l'eau ($d=1,05$), possède une saveur salée et un pH presque neutre ($pH=7,40$). En moyenne, le corps humain contient 5 à 6 litres de sang. Chaque jour, plus de 100 000 battements du cœur propulsent celui-ci à travers tous les vaisseaux sanguins (**Schaffer et Mence, 2004**).

1-1-2-1- Composition et fonction du sang

Le sang est composé d'un liquide jaunâtre appelé plasma, dans lequel baignent des millions de cellules, notamment les globules rouges (érythrocytes) qui lui donnent sa couleur rouge, les globules blancs (leucocytes) et des plaquettes (thrombocytes). Il contient également des sels minéraux (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , CO_3^{2-} ou HCO_3^-), des protéines (albumine, globuline, etc.), des substances organiques (glucose, hormones, enzymes, lipides, aminoacides) mais aussi des résidus (urée et créatine). Le sang assume de nombreuses fonctions qui sont toutes liées au transport de substances, à la régulation de certaines caractéristiques physiques du milieu interne et à la protection de l'organisme (**Kuhn et al., 2017**).

1-1-2-1-1- Globules rouges

Les globules rouges sont des cellules sanguines les plus nombreuses, en forme biconcave mesurant approximativement $7,5 \mu m$ de diamètre. Ils sont produits par la moelle osseuse avec une durée de vie moyenne de 120 jours, puis dégradés et éliminés par la rate. Chez l'homme et chez la plupart des

mammifères, les globules rouges sont dépourvus de noyau cellulaire, caractéristique qui les rend très bien adaptés au transport de l'oxygène. Cette fonction est possible grâce aux molécules d'hémoglobine qu'ils contiennent (**Marieb, 1999**).

➤ **Description et fonction de l'hémoglobine**

En tant que pigment principal du sang, l'hémoglobine est une protéine dont les principales fonctions sont : la fixation, le transport et la délivrance de l'oxygène au niveau tissulaire dans l'organisme humain. L'hémoglobine (Hb) est une protéine majoritaire des globules rouges. Elle est faite d'assemblage de 4 chaînes polypeptidiques formant ainsi une structure appelée tétramère. Dans chaque tétramère de l'hémoglobine, l'on trouve deux chaînes α constituées de 141 acides aminés et deux chaînes β constituées de 146 acides aminés qui sont intimement liées par une molécule de l'hème. Chaque chaîne de l'hémoglobine est constituée d'une partie protéique appelée globine et d'une autre partie non protéique appelée l'hème. Cette dernière renferme un atome de fer ferreux (Fe^{++}) dont le rôle dans la fixation de l'oxygène est primordial (l'oxygène est un ligand du fer) (**Schaffer et Mence, 2004**).

Les gènes alpha et bêta de la globine sont localisés respectivement sur les chromosomes 16 et 11. Comme de nombreuses protéines, les chaînes d'hémoglobine peuvent présenter diverses mutations qui n'ont le plus souvent aucune incidence clinique. Plus de 500 hémoglobines anormales pour la plupart asymptomatiques ont été répertoriées. Les mutations sur le gène codant pour la chaîne β -globine est responsable de la drépanocytose.

1-1-2-1-2- Thrombocytes

Les thrombocytes sont des éléments cellulaires anucléés discoïdes provenant de la fragmentation du cytoplasme de leur progéniteur hématopoïétique, le mégacaryocyte. Leur fonction majeure est d'assurer l'hémostase, c'est-à-dire qu'elles sont les premiers éléments à intervenir pour arrêter le saignement dû à une lésion vasculaire et limiter les pertes sanguines (**Jandrot-Perrus et Nurden, 2007**).

1-2- Généralités sur la drépanocytose

1-2-1- Définition

La drépanocytose est une maladie génétique causée par une mutation ponctuelle du gène β -globine situé sur le chromosome 11. Cette mutation unique résulte de la transversion d'une base purique (Adénine) avec une base pyrimidique (Thymine) au niveau du 17^e nucléotide de l'ADNc affectant le 6^e codon de la chaîne β -globine. Elle entraîne le remplacement de l'acide glutamique en position 6 par une valine ($\beta 6Glu \rightarrow Val$) et la synthèse d'une hémoglobine anormale, l'hémoglobine S (Hb S). La valine hydrophobe, contrairement à l'acide glutamique, provoque un changement de

conformation de l'Hb S lors de la désoxygénation des globules rouges (**Keita, 2020**). La baisse de la pression partielle en oxygène provoque la diminution de la solubilité de l'hémoglobine, liée à la polymérisation de la désoxy-Hb S. La valine augmente l'interaction hydrophobique entre les tétramères d'Hb S et favorise la formation de fibres tubulaires. Ces fibres ne sont pas sans conséquence pour les globules rouges : ce sont elles qui leur confèrent leur forme de faucille, distorsion mécanique caractéristique de la maladie (**Annaix et Thuillier, 2000**). La falciformation est un processus actif et réversible influencé par l'état de polymérisation/dépolymérisation qui évolue selon l'environnement physiologique (**Aufradet, 2012**). Les hématies perdent alors leur élasticité et ne sont plus capables de se déformer pour traverser les micro-vaisseaux sanguins qui ont un diamètre inférieur à leur diamètre. Ils sont rigides et restent bloqués dans les capillaires sanguins en les obstruant ; ce qui entraîne des ischémies locales et des crises vaso-occlusives particulièrement douloureuses dont la répétition entraîne des risques d'atteinte grave des différents organes (**figure 1**) (**Rees et al., 2010**).

1-2-2- Historique

C'est en 1910 que la maladie fut découverte par le Dr Herrick aux Etats-Unis. Il repère la présence d'hématies déformées en faucilles, dans le sang d'un étudiant noir des caraïbes, souffrant d'anémie chronique. Cet aspect en faucille des globules rouges ou *drepanon* en grecque donnera à la maladie le nom de drépanocytose (**Giroto et al., 2003**).

Les autres dates importantes dans l'étude et les découvertes sur la drépanocytose se déclinent comme suit :

- En 1917, le caractère héréditaire de la drépanocytose est évoqué par Emmel (**Emmel, 1917**).
- En 1927, Hahn et Gillepsie montrent que la déformation en faucille des hématies est due à la désoxygénation de l'hémoglobine (**Giroto et al., 2003**).
- En 1933, Diggs évoque deux signes cliniques complètement différents. Des enfants présentant des signes d'anémie sévère et leurs parents asymptotiques. Il parle alors de « trait » drépanocytaire (**Giroto et al., 2003**).
- C'est Neel, en 1947 qui décrit ces deux tableaux cliniques différents comme les formes homozygotes et hétérozygote d'une même anomalie transmise selon les lois Mendéliennes (**Embury, 1997**).
- En 1949, Linus Pauling et Harvey Itano, utilisant la nouvelle technique d'électrophorèse, ont mis en évidence la migration électrophorétique particulière de l'hémoglobine S, chez des patients ayant la drépanocytose (**Giroto et al., 2003**).
- En 1956, Vernon Ingram montre que l'hémoglobine S ne diffère de l'hémoglobine A que par un acide aminé en position 6, l'acide glutamique remplacé par la valine. C'est la première maladie génétique dont la structure moléculaire est connue (**Giroto et al., 2003**).

- En 1970, Chien a montré que la viscosité sanguine chez le drépanocytaire est anormalement élevée, même quand la pression en oxygène est normale (**Giroto *et al.*, 2003**).
- En 1973, Eaton a démontré que la perméabilité membranaire des globules rouges HbSS est différente de celle de globules rouges HbAA face au calcium (**Giroto *et al.*, 2003**).
- En 1984, la première transplantation de la moelle chez un enfant atteint de drépanocytose a entraîné sa guérison complète. Cette transplantation a été faite pour traiter une leucémie aiguë et la guérison de la drépanocytose était un événement inattendu (**Giroto *et al.*, 2003**).
- L'hydroxy urée est devenue le premier médicament prouvé, qui prévient les complications de la drépanocytose, cela a été démontré dans une étude multicentrique qui s'est achevée en 1995. Elle permet la réactivation de la synthèse de l'hémoglobine fœtale (Hb F) (**Giroto, *et al.*, 2003**).

1-2-3- Epidémiologie

La drépanocytose représente la maladie génétique la plus répandue au monde et touche des millions de personnes. Initialement, la drépanocytose était retrouvée dans les régions endémiques pour le paludisme : Afrique sub-saharienne, bassin méditerranéen, Moyen-Orient et certaines parties du sous-continent indien et dans la péninsule Arabique (**figure 2**) (**Haldane, 1949 ; Labie, 2010 ; Piel *et al.*, 2010**). Suite à d'importants mouvements des populations, la drépanocytose s'est étendue indépendamment du paludisme, principalement le long des côtes orientales des Amériques, dans les Caraïbes et en Europe de l'Ouest (**Piel, 2013**). Les flux migratoires récents ont également fait de la drépanocytose l'hémoglobinopathie la plus répandue au monde, avec environ 50 millions de drépanocytaires (**Arnal et Giroto, 2002**). Affection ubiquitaire, la drépanocytose possède une distribution variable selon les continents (**Roberts et De Montalembert, 2007**).

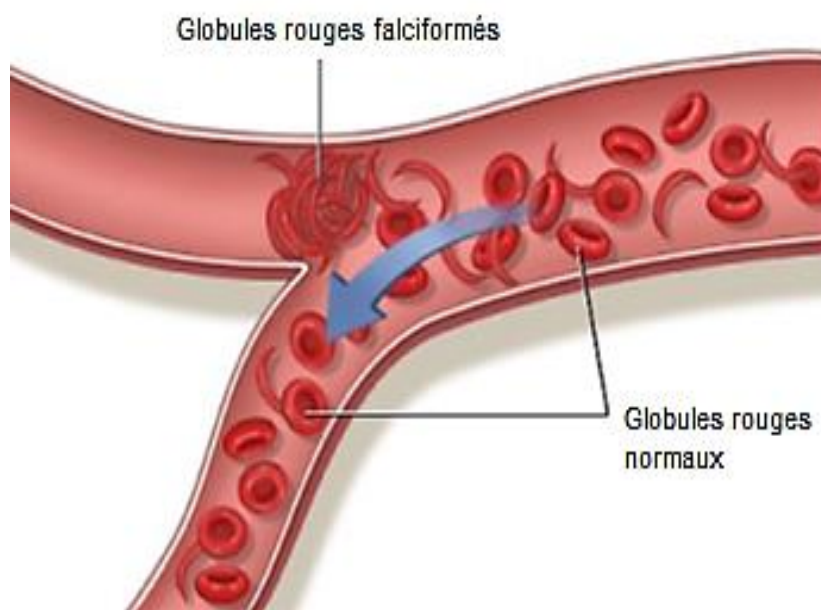


Figure 1 : Model d'obstruction d'un vaisseau sanguin par les globules rouges falciformes
Hierso (2015)

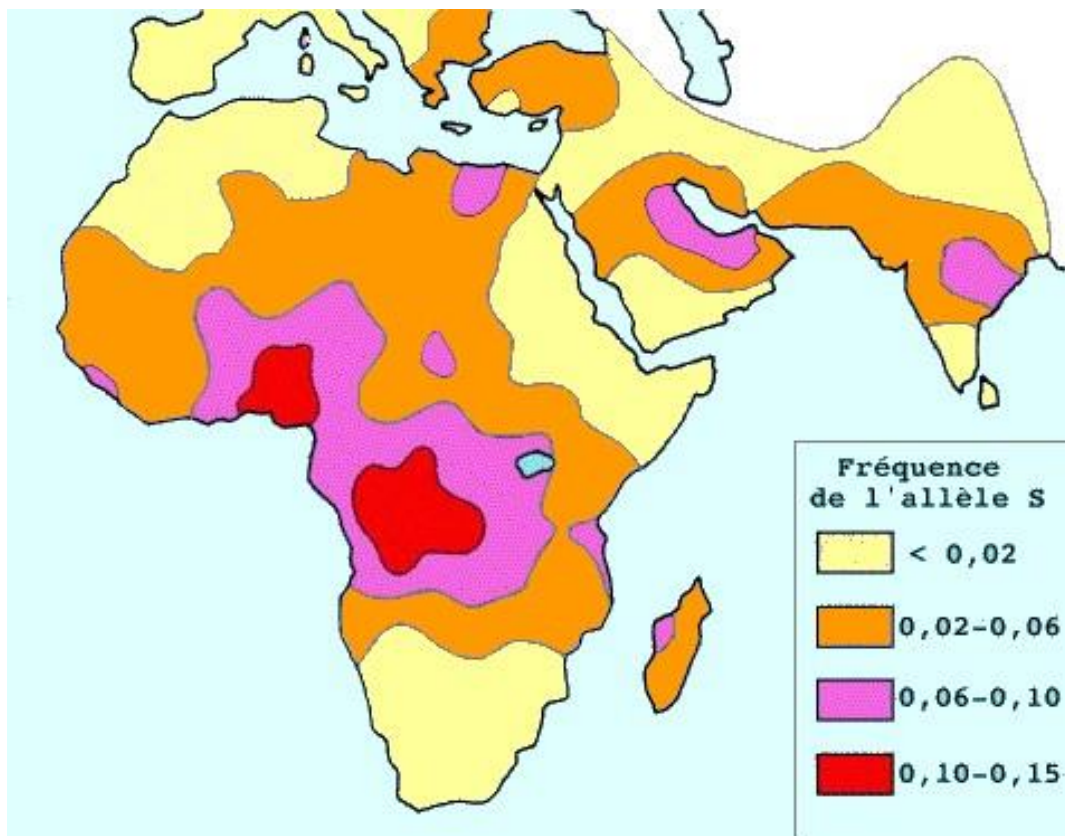


Figure 2 : Distribution historique et contemporaine de la drépanocytose
(Piel *et al.*, 2010)

1-2-4- Syndromes drépanocytaires

Au-delà de la drépanocytose homozygote SS, la plus répandue et ayant la symptomatologie la plus sévère, la maladie s'exprime également sous d'autres formes associant la présence de l'allèle S avec un deuxième allèle muté du gène β -globine. Nous retrouvons ainsi les autres types de syndromes drépanocytaires suivants :

- S/C : hétérozygotie composite la plus fréquente. Elle résulte d'une mutation ponctuelle du codon 6 se traduisant par le remplacement d'un acide glutamique par une lysine au niveau du gène β -globine.
- S/ β^0 -thalassémie : le gène β -thalassémique n'est pas exprimé et les symptômes sont similaires à ceux d'un homozygote SS.
- S/ β^+ -thalassémie : le gène β thalassémique est partiellement exprimé et la sévérité des symptômes dépend en partie du taux d'Hb A résiduel.

Plus rarement, nous retrouvons les hétérozygoties composites ci-dessous :

- SD Punjab : symptomatique, l'hémoglobine D Punjab résulte d'une mutation sur le codon 121. Un acide glutamique est remplacé par une glutamine.
- L'on peut également citer les cas d'hétérozygotes composites SE ou SEpore qui correspondent respectivement à une hémoglobine anormale associée à un phénotype thalassémique et à une globine résultant d'un crossing-over anormal entre les gènes δ - et β -globine.

Enfin, d'autres variantes plus rares associent une deuxième mutation en *cis* de la mutation β^S :

- S Oman : présente une deuxième mutation ponctuelle sur le codon 121 entraînant le remplacement d'un acide glutamique par une lysine.
- S Antilles : résulte d'une deuxième mutation ponctuelle sur le codon 23. Une valine est remplacée par une isoleucine.

Les sujets hétérozygotes dits AS sont porteurs et transmetteurs du gène drépanocyttaire, mais sont asymptomatiques ; ils ne présentent pas les complications de la maladie.

1-2-5- Mécanismes physiopathologiques de la drépanocytose

1-2-5-1- Structure et fonction de l'hémoglobine humaine

Les globines constituent une famille de protéines impliquées dans le transport ou le stockage du dioxygène. L'hémoglobine mature normale, dissoute dans le cytosol aqueux des érythrocytes en une solution très concentrée, assure le transport du dioxygène des poumons vers les tissus. Un globule rouge humain de 7 à 8 μm , contient environ 280 millions de molécules d'hémoglobine.

Chaque molécule d'hémoglobine est un tétramère formé par l'association de quatre chaînes polypeptidiques identiques deux à deux : deux chaînes alpha composées chacune de 141 acides aminés et deux chaînes bêta de 146 acides aminés. Chacune des chaînes adopte une conformation

spatiale lui conférant une forme globuleuse et ménageant une « poche » superficielle dans laquelle se trouve logée l'hème. Ce dernier est constitué d'une porphyrine complexée à un atome de fer à qui permet la fixation réversible de l'oxygène. La cohérence du tétramère d'hémoglobine résulte de liaisons entre les chaînes latérales hydrophobes via des acides aminés situés à la périphérie de chaque globine voir (**figure 3**).

1-2-5-2- Caractéristiques de l'hémoglobine S

1-2-5-2-1- Structure du polymère

La polymérisation de l'Hb S s'explique par le fait que l'acide glutamique hydrophile est remplacé par une valine hydrophobe en position 6 de la β -globine. En condition désoxygénée, des interactions hydrophobes ont lieu entre la leucine 88 et la phénylalanine 85 de la chaîne beta d'une molécule d'hémoglobine et la valine 6 de la chaîne beta de la molécule d'hémoglobine voisine (**Murayama, 1966**), d'où la création d'une structure cristalline en fibres.

Au niveau des hématies, cela se traduit par une falciformation marquée par une diminution de leur déformabilité, propriété essentielle pour cette cellule devant circuler dans les vaisseaux sanguins de diamètre inférieur au sien. La polymérisation de l'hémoglobine est un processus inhabituel et très complexe. Elle est provoquée par trois conditions :

1) une basse pression en dioxygène qui favorise une prédominance de désoxy-Hb S, la seule forme d'Hb S présentant le site complémentaire à la chaîne hydrophobe de la valine, et donc qui favorise le phénomène de polymérisation.

2) une forte concentration en Hb S qui favorise bien évidemment les contacts entre molécules ainsi que leurs interactions.

3) une température élevée, témoignant d'une forte agitation thermique, qui favorise également la polymérisation.

1-2-5-2-2- Effets de l'hémoglobine Fœtale sur la polymérisation de l'Hb S

L'hémoglobine fœtale (HbF) a la propriété d'inhiber la polymérisation de l'Hb S en s'intercalant dans le polymère de désoxy-hémoglobine S, inhibant ainsi la progression de la formation des fibres d'HbS et diminuant de ce fait la rigidité cellulaire (**Sebastiani et al., 2008 ; Ngo et al., 2012**). Une augmentation du taux d'Hb F chez des patients drépanocytaires SS participe à une diminution significative de l'inflammation et de la peroxydation lipidique, démontrant ainsi le rôle bénéfique et protecteur de l'hémoglobine fœtale chez les drépanocytaires (**Bhagat et al., 2012**).

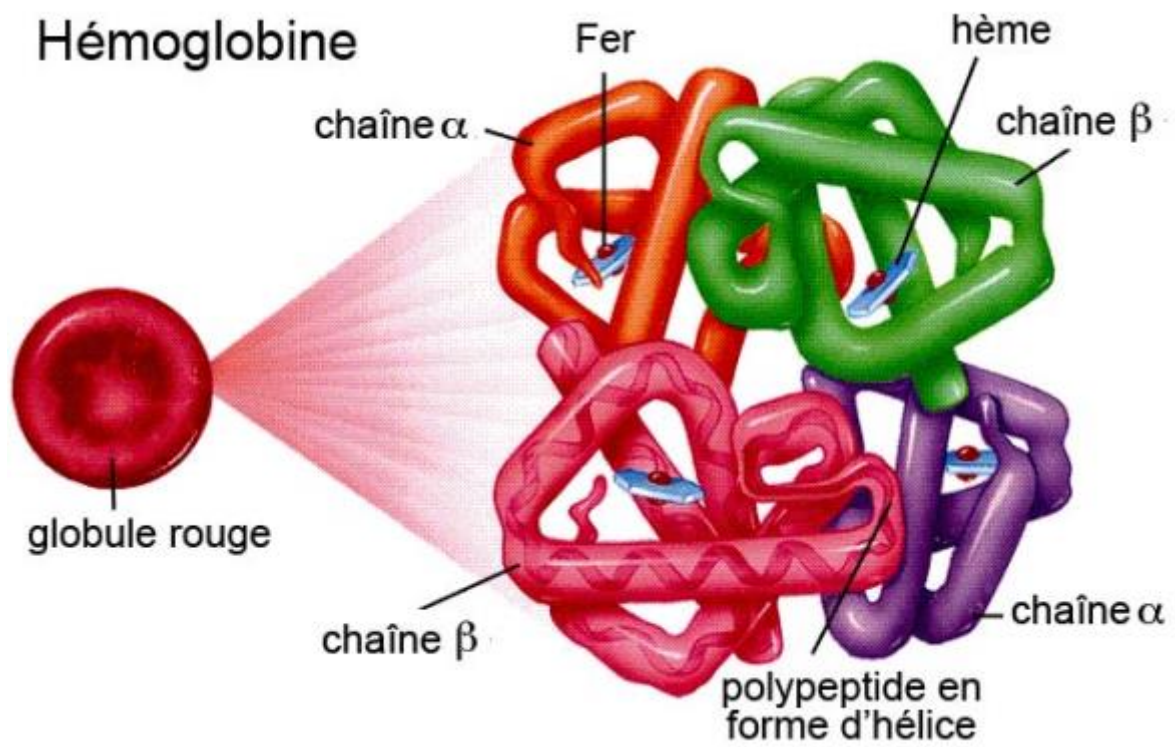


Figure 3 : Schématisation de la molécule d'hémoglobine
(Colmant, 2016)

1-2-5-3- Conséquences de la polymérisation

La membrane du globule rouge est sujette à des altérations structurales engendrant des anomalies fonctionnelles du globule rouge et des altérations de sa capacité d'écoulement dans les vaisseaux sanguins suite aux épisodes répétés de polymérisation de l'Hb S et de falciformation.

1-2-5-3-1- Anomalies structurales du globule rouge drépanocytaire

1-2-5-3-1-1- Altération des lipides

Les lipides de la membrane du globule rouge jouent un rôle important dans son organisation propre et dans ses échanges avec le plasma. Les phospholipides qui en représentent le principal composant, sont disposés en une structure en double couche. La répartition des lipides dans la double couche n'est pas homogène : la sphingomyéline (SM) et la phosphatidylcholine (PC) sont retrouvées dans le feuillet externe, la phosphatidyléthanolamine (PE) et la phosphatidylsérine (PS) dans le feuillet interne (**Zachowski *et al.*, 1986**). Le maintien de cette asymétrie est assuré par un complexe enzymatique transmembranaire :

- la Translocase ou Flippase assure le transport de la PS et de la PE de la couche externe vers la couche interne. Son action est inhibée par l'augmentation des ions Ca^{2+} .
- la Floppase transporte les phospholipides de l'intérieur vers l'extérieur de la membrane de façon non spécifique.
- la Scramblase permet le mouvement bidirectionnel des phospholipides dans la bicouche lipidique.

La PS normalement enfouie dans le feuillet interne de la bicouche lipidique est externalisée durant la sénescence des globules rouges et les processus d'apoptose. Dans la drépanocytose, les cycles de falciformation/défalciformation provoquent aussi une externalisation de la PS. Les macrophages reconnaissent spécifiquement la PS à la surface des cellules et les éliminent de la circulation (**Callahan *et al.*, 2000 ; Zwaal *et al.*, 2005**). L'externalisation de la PS est susceptible de favoriser la survenue de thromboses (**Chiu *et al.*, 1981**) par l'activation de facteurs de coagulation. Elle participe également à l'augmentation des interactions entre les drépanocytes et les cellules endothéliales (**Setty *et al.*, 2002**), favorisant l'adhérence des globules rouges à l'endothélium vasculaire via la TSP-1, mais aussi via un récepteur spécifique à la PS exprimé à la membrane des cellules endothéliales (**Manodori *et al.*, 2000 ; Setty et Betal, 2008**).

1-2-5-3-1-2- Altération des protéines

Les protéines de la membrane des globules rouges humains peuvent être regroupées, de façon générale, dans deux grands groupes : les protéines de la membrane érythrocytaire et les protéines du cytosquelette érythrocytaire.

Les protéines membranaires exercent diverses fonctions telles que le transport, l'adhérence avec les cellules circulantes, mais aussi les cellules endothéliales, ou encore des rôles de récepteur de

signalisation.

Parmi les protéines membranaires assurant des fonctions de transport, nous pouvons citer l'aquaporine, la protéine Glut-1, la rhAG, la Na⁺, le K⁺, ATPase, le Ca⁺⁺, ATPase, les cotransporteurs Na⁺; K⁺; 2Cl⁻; Na⁺; Cl⁻; Na⁺; K⁺; K⁺; Cl⁻ et la protéine bande 3.

La protéine bande 3 est une protéine échangeuse d'anions transmembranaires. Elle sert de canal pour le passage passif des ions bicarbonates et des ions chlorures de part et d'autre de la membrane érythrocytaire (**Hunter, 1977**). Il s'agit d'un rôle clé dans le mécanisme général de transport du CO₂ (**Hamasaki, 2006**).

Des travaux de recherche sur l'interaction entre l'hémoglobine et la bande 3 montrent que ces deux protéines semblent être dépendantes de l'oxygène, car la désoxy-hémoglobine montre une plus grande affinité pour la protéine bande 3 que l'oxyhémoglobine (**Campanella et al., 2008**). Il semblerait que le domaine N-terminal de la protéine bande 3 s'insérerait à travers la cavité de fixation du 2, 3-DPG au milieu du tétramère de désoxy-hémoglobine, où les résidus 12-23 de la protéine bande 3 établiraient un contact majeur le long des parois de la désoxy-hémoglobine (**Richard et al., 1993**).

Quant aux protéines du cytosquelette érythrocytaire, la spectrine et l'actine constituent le réseau filamenteux protéique principal du squelette membranaire.

La protéine 4.1 stabilise l'association spectrine-actine et représente un premier point d'attache du squelette membranaire sur la face interne de la membrane par interaction avec la glycophorine C.

Dans les hémoglobinopathies comme la drépanocytose, ces agrégats de protéines bande 3 sont formés précocement, en raison de l'auto-oxydation de l'hémoglobine S, de l'accumulation de fer dans la membrane érythrocytaire et des dommages oxydatifs membranaires entraînant une durée de vie réduite des drépanocytes (**Nagababu et al., 2008 ; Rifkind et Nagababu, 2013**).

En condition physiologique, les interactions protéines/protéines ou protéines/lipides sont étroitement régulées par des phosphorylations. Dans la drépanocytose, l'on retrouve une perturbation du niveau de phosphorylation soit augmentée (pour la protéine bande 3) soit diminuée (pour la spectrine et l'ankyrine), altérant l'intégrité de la membrane érythrocytaire. Ceci provoque une dissociation du squelette érythrocytaire du reste de la membrane (**Liu et al., 1991**) et participe aussi aux anomalies des transports ioniques (**Fathallah et al., 1995**).

1-2-5-3-2- Anomalies fonctionnelles

1-2-5-3-2-1- Déshydratation des globules rouges

La déshydratation intracellulaire observée aussi bien au stade de réticulocytes qu'au stade de globule rouge mature dans la drépanocytose est due à l'augmentation de la perte en potassium. Cette perte en potassium est consécutive à :

- l'activation excessive du Co-transport K-Cl Mg²⁺ dépendant : ce transport est activé lorsque la concentration en magnésium intra-érythrocytaire diminue (**Brugnara et Tosteson, 1987**), ce qui est le cas dans des drépanocytes qui ont une perméabilité membranaire accrue au magnésium (**De Franceschi et al., 1997**) ;
- l'activation du canal Gardos est due à l'augmentation de la perméabilité membranaire, induite par la désoxygénation du drépanocyte permettant ainsi une entrée de calcium (**Durpès et al., 2010**). Ceci conduit à une perte de potassium et d'eau (**Apovo, et al., 1994**). La concentration intra-érythrocytaire d'hémoglobine augmente lorsque le drépanocyte est déshydraté, facilitant ainsi la polymérisation de l'Hb S et le processus de falciformation de la cellule.

1-2-5-3-2-2- Anomalies hémorhéologiques

Les drépanocytes déshydratés sont rigides et peu déformables. Cette diminution de la déformabilité des drépanocytes ainsi que d'autres anomalies (viscosité, agrégation, seuil de désagrégation) ont été mises en évidence à la faveur du développement d'outils appartenant au domaine de l'hémorhéologie qui évalue l'écoulement sanguin et les propriétés biophysiques du sang et des éléments qui le composent. En effet, les hématies en forme de faucille ne pouvant pas circuler dans les petits vaisseaux (capillaires) vont causer également une augmentation de la viscosité du sang, entraînant des complications vaso-occlusives (**Zanddecki, 2006**).

- **Viscosité sanguine**

Les drépanocytaires homozygotes SS, du fait de l'anémie dont ils sont sujets, ont une viscosité sanguine plus faible que celle observée chez les sujets sains. En revanche, les hétérozygotes SC présentent une viscosité sanguine supérieure à celle des sujets sains, car l'anémie plus modérée de ces patients ne permet pas de compenser les autres anomalies rhéologiques caractérisées dans la maladie, engendrant ainsi une hyperviscosité sanguine chronique chez les SC (**Tripette et al., 2009**).

Deux propriétés rhéologiques des globules rouges décrites ci-dessous modulent la viscosité sanguine : la déformabilité et les propriétés d'agrégation / désagrégation érythrocytaire.

- **Déformabilité érythrocytaire**

La déformabilité érythrocytaire est une condition sine qua non du flux sanguin dans les vaisseaux. Les globules rouges ont un diamètre qui est supérieur à celui des plus petits vaisseaux : il est indispensable que ces cellules puissent se déformer pour pouvoir passer à travers les capillaires les plus étroits.

Il est à présent clairement établi que les globules rouges des patients drépanocytaires sont caractérisés par une déformabilité érythrocytaire réduite comparées à celle des sujets sains (**Brandão et al., 2003 ; Tripette et al., 2009**).

- **Agrégation érythrocytaire**

Le phénomène d'agrégation érythrocytaire est un processus au cours duquel les globules rouges s'empilent les uns sur les autres comme des assiettes pour former des rouleaux linéaires (**Tripette et al., 2009**).

Bien qu'une association étroite entre les différentes complications de la maladie et les altérations hémorhéologiques retrouvées dans la drépanocytose soit clairement établie, les mécanismes à l'origine des différences d'expression de la maladie, de sa sévérité et de la survenue d'une complication préférentiellement à une autre chez les patients drépanocytaires restent encore incompris. L'implication du stress oxydant comme paramètre pouvant expliquer une partie de cette variabilité a récemment été proposée (**Connes et al., 2014**).

1-2-6- Physiopathologie complexe

De nombreux acteurs rendent la physiopathologie de la drépanocytose complexe. La polymérisation de l'hémoglobine S est le mécanisme primaire de la vaso-occlusion et a pour conséquence la falciformation des globules rouges. Cependant, cette polymérisation de la désoxy-hémoglobine nécessite un temps de latence qui est supérieur au temps requis pour le passage des globules rouges dans la micro-circulation. Les cellules devraient ainsi normalement revenir dans le tronc artériel avant que leur falciformation n'entraîne un blocage au niveau des micro-vaisseaux (**Mozzarelli et al., 1987**).

Ce constat a naturellement laissé supposer qu'il y a d'autres mécanismes qui entraînent le ralentissement circulatoire, permettant ainsi aux globules rouges de rester assez longtemps dans les micro-vaisseaux pour avoir le temps de se déformer au niveau de ce territoire.

1-2-6-1- Adhérence cellulaire

1-2-6-1-1- Interactions entre globules rouges et cellules endothéliales

A la base de ces processus d'adhérence, des interactions moléculaires complexes sont mises en jeu. Le mécanisme de vaso-occlusion se ferait en deux étapes :

- l'adhérence des réticulocytes prématurément sortis de la moelle osseuse, dits "réticulocytes de stress",
- et/ou celle des globules rouges matures puis le blocage par les globules rouges falciformes et des drépanocytes irréversibles (**Labie et Elion, 2005**).

Les Globules Rouges matures et les drépanocytes interagissent avec l'endothélium via des immunoglobulines G (IgG) dont les taux sont anormalement élevés dans les drépanocytes (**Hebbel et Miller, 1984 ; Hebbel et al., 1987**). Ces Immunoglobine G (IgG) peuvent se fixer sur les domaines extracellulaires des protéines bande 3 agglomérées au sein de la membrane des globules rouges drépanocytaires (**Schlüter et Drenckhahn, 1986**), conduisant à la destruction prématurée du globule

rouge par la rate, exacerbant ainsi l'anémie des patients. L'externalisation de la phosphatidylsérine favorise également l'adhérence des globules rouges via la TSP-1, mais aussi via un récepteur spécifique à la PS plus récemment identifié, exprimé à la membrane des cellules endothéliales lors de leur activation (**Manodori et al., 2000 ; Setty et Betal, 2008**).

1-2-6-1-2- Interactions cellulaires entre leucocytes et cellules endothéliales

Les polynucléaires neutrophiles tendent à adhérer de façon accrue à l'endothélium vasculaire durant les crises vaso-occlusives (**Fadlon et al., 1998**). Ces résultats renforcent ainsi le rôle de ces cellules dans la vaso-occlusion.

1-2-6-1-3- Intervention des plaquettes sanguines

Le rôle exact des plaquettes dans les processus vaso-occlusifs n'est pas bien élucidé. Une étude de Wood et collaborateurs a mis en évidence l'adhérence des plaquettes aux cellules endothéliales des micro-veinules cérébrales chez des souris drépanocytaires (**Wood et al., 2004**). De plus, des études *in vitro* sur l'interaction entre plaquettes et monocytes, mais aussi entre les plaquettes et les drépanocytes ont été démontrées chez les patients drépanocytaires (**Wun et al., 1999 ; Brittain et Parise, 2008**). Mais de façon générale, l'activation des plaquettes semble influencer la surexpression de molécules et des récepteurs d'adhérence (**Wun et al., 1998 ; Chiang et Frenette, 2005**).

1-2-6-1-4- Interaction entre cellules circulantes

Des études *in vitro* ont montré que les drépanocytes adhèrent de manière anormale aux monocytes et aux polynucléaires neutrophiles (**Chang et al., 2008 ; Chiang et al., 2007**). Il a également été démontré que les polynucléaires neutrophiles des patients drépanocytaires sont moins déformables que ceux d'un individu normal (**Chiang et Frenette, 2005**), favorisant ainsi l'occlusion des vaisseaux.

Les travaux de Chaar et collaborateurs ont démontré chez les patients drépanocytaires la formation d'agrégats entre les monocytes périphériques et les globules rouges circulants, via l'interaction entre la protéine Lu-BCAM érythrocytaire et l'intégrine $\alpha 4\beta 1$ monocyttaire (**Chaar et al., 2010**). Ces agrégats pourraient participer au processus vaso-occlusif.

1-2-6-1-5- Activation cellulaire

➤ Phénotype pro-inflammatoire

L'inflammation joue un rôle majeur dans la physiopathologie de la drépanocytose. L'inflammation est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Cette réponse fait intervenir des phénomènes d'immunité, c'est-à-dire de résistance aux agressions. Les cellules endothéliales recrutent alors les leucocytes afin de localiser et de réparer les lésions. L'augmentation

du nombre des leucocytes (hyperleucocytose) et leur état d'activation constituent des marqueurs de l'état pro-inflammatoire associés à la drépanocytose (**Lard et al., 1999 ; Belcher et al., 2000**).

Parmi les médiateurs de l'inflammation, nous pouvons citer :

- les chimiokines, protéines activatrices des leucocytes présentant des propriétés chimiotactiques attirant ces cellules au site même de l'inflammation ;
- les cytokines, protéines sécrétées par les leucocytes assurant la communication intercellulaire ;
- les molécules d'adhérence.

L'inflammation récurrente ainsi que les cytokines inflammatoires augmentent la capacité d'adhésion des leucocytes (**Francis et Haywood, 1992 ; Croizat, 1994**). En effet, l'hypoxie, les infections et les cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , IL-1 et IL-6 activent l'endothélium vasculaire. Ces stimuli activent les leucocytes qui à leur tour activent l'endothélium vasculaire, engendrant ainsi un cercle vicieux. Cette double activation endothéliale et leucocytaire conduit à une expression beaucoup plus importante des molécules adhésives ou à leur activation telle que les intégrines, les sélectines et les ICAM (Molécules d'Adhésion Intercellulaire) qui contribuent davantage à l'obstruction des vaisseaux sanguins (**Chies et Nardi, 2001**).

1-2-6-2- Anomalies du tonus vasculaire

L'endothélium joue un rôle primordial dans la régulation locale de l'activité vasculaire en synthétisant des substances vasodilatatrices et vasoconstrictrices. Les principaux acteurs de cette vaso-régulation sont le monoxyde d'azote (NO) et l'endothéline-1 (ET-1). Dans la drépanocytose, l'on assiste à une dérégulation de l'expression de ces deux molécules vasorégulatrices.

➤ Anomalies du métabolisme du NO et de l'ET-1 dans la drépanocytose

Dans la drépanocytose, la vasorégulation de l'endothélium est altérée en faveur d'un phénotype vaso-constrictif. En effet, de nombreuses études ont démontré que les taux plasmatiques de l'ET-1 sont anormalement élevés chez les patients drépanocytaires à l'état basal, et exacerbés lors des crises vaso-occlusives (**Graido-Gonzalez et al., 1998 ; Lapoumériou et al., 2005**). Les travaux sur des souris drépanocytaires ont démontré qu'une inhibition pharmacologique des récepteurs de l'endothéline pouvait prévenir le déclenchement des crises vaso-occlusives et l'atteinte des organes chez celles-ci (**Sabaa et al., 2008**).

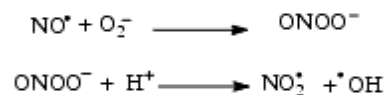
De plus, dans la drépanocytose, une réduction de la biodisponibilité du NO (vaso-dilatateur), a été démontrée et pourrait expliquer certaines complications vasculaires liées à la maladie. Différents facteurs contribuent à la diminution de la biodisponibilité du NO :

- ✓ l'hémolyse intravasculaire, phénomène majeur de la pathologie, en conduisant à la libération d'arginase.

En effet, l'arginase catalyse la réaction arginine + H₂O → ornithine + urée.

La L-arginine étant également le substrat de NO, en le captant, l'arginase plasmatique diminue la concentration de la L-arginine et diminue de ce fait la synthèse du NO (**Pernow et Jung, 2013**).

- ✓ la destruction chronique des globules rouges élève les taux d'hémoglobine libre dans le plasma. Il s'ensuit alors une réaction directe entre l'hémoglobine libérée et le monoxyde d'azote, avec une capture de ce dernier, perturbant ainsi la réponse physiologique vasodilatatrice. La capture du NO par l'hémoglobine libre jouerait ainsi un rôle majeur dans les crises douloureuses de la drépanocytose.
- ✓ les radicaux libres produits par le stress oxydant. La réaction entre le NO et des radicaux libres tels que l'ion superoxyde O²⁻ produit l'anion peroxydrite ONOO⁻ qui, en milieu acide H⁺ donne deux radicaux.



Ces diminutions de la biodisponibilité du NO participent aux dysfonctionnements de l'endothélium en limitant fortement les dilatations vasculaires nécessaires à l'ajustement de la pression sanguine et en favorisant les constriction via la levée de l'inhibition de l'ET-1.

En plus de favoriser les processus occlusifs des vaisseaux sanguins, la diminution de la biodisponibilité du NO est étroitement associée à l'hémolyse intravasculaire à l'origine d'un relargage excessif d'hémoglobine extracellulaire dans le plasma.

1-2-6-3- Hémolyse intravasculaire

Plusieurs études démontrent une hémolyse bien présente chez les patients drépanocytaires et exacerbée lors des crises vaso-occlusives et des événements hémolytiques aigus (**Naumann et al., 1971 ; Reiter et al., 2002 ; Zhou et al., 2009 ; Connes, 2011**).

Lors de sa libération, l'hémoglobine libre forme un complexe avec l'haptoglobine qui se lie sur CD163 à la surface des macrophages et des leucocytes en circulation (**Philippidis et al., 2004 ; Schaer et al., 2007**). Cependant, quand la capacité de liaison de l'haptoglobine est saturée, l'hémoglobine libre s'accumule dans le plasma et entraîne de nombreuses dysfonctions endothéliales. Elle piège le NO qui est consommé en excès, ce qui engendre une vasoconstriction (**Reiter et al., 2002**). La diminution de la biodisponibilité du NO peut également être à l'origine de coagulopathies intravasculaires puisque le NO a été démontré comme interagissant avec les composants de la cascade de la coagulation (tels que le facteur XIII et la fibrine), régulant ainsi négativement la formation de caillots sanguins (**Kayanoki et al., 1999 ; Shao et al., 2001**).

Par ailleurs, l'accumulation d'hémoglobine libre dans le plasma contribue également à l'activation plaquettaire et à la survenue de thrombose (**Radomski et al., 1993 ; Studt et al., 2005**).

Des études ont démontré que l'hémolyse intravasculaire et la diminution subséquente de la biodisponibilité du NO sont associées à des complications cliniques dans la drépanocytose telles que l'hypertension artérielle pulmonaire, le priapisme, les ulcères de jambes et les AVC (**Champion et al., 2005 ; Nolan et al., 2006 ; Kato et al., 2007**).

1-2-6-4- Oxydation tissulaire

Les interactions entre l'endothélium vasculaire et les cellules circulantes, globules rouges, globules blancs et plaquettes, sont favorisées par un contexte oxydatif résultant tout d'abord de l'instabilité inhérente de l'Hb S (**Klings et Farber, 2001**). De plus, il a été démontré que les globules rouges drépanocytaires produisent plus de radicaux libres que les globules rouges normaux (**Repka et Hebbel, 1991**). Par ailleurs, les processus oxydatifs conduisent également à une dénaturation de l'hémoglobine qui précipite et forme des hémichromes et des espèces réactives de l'oxygène (**Misra et Fridovich, 1972**).

Les globules rouges drépanocytaires subissant une lyse exacerbée qui entraîne l'accumulation de fer dans le plasma favorisent également la production de radicaux libres (**Dröge, 2002**). En effet une fois exposés au contact du fer, les globules rouges, les plaquettes et les polynucléaires neutrophiles augmentent la production d'espèces réactives de l'oxygène (**Amer et al., 2003 ; Amer et Fibach, 2005**) et sont plus vulnérables aux dommages occasionnés par ceux-ci.

Par exemple, une déficience de la vitamine E (antioxydante) augmente la peroxydation lipidique membranaire des globules rouges (**Aslan et al., 2000**). L'activation des plaquettes est favorisée par le stress oxydant (**Blockmans et al., 1995 ; Juliano et al., 1997**) pouvant expliquer l'état d'hypercoagulabilité observé chez les patients drépanocytaires (**Eldor, 1978**).

Dans un contexte oxydatif, les polynucléaires neutrophiles perdent leur capacité de défense antibactérienne (**Amer et Fibach, 2005**), pouvant favoriser la susceptibilité accrue aux infections des patients drépanocytaires.

Enfin, les processus oxydatifs semblent augmenter l'adhérence anormale des cellules circulantes à l'endothélium vasculaire puisque des taux plus élevés d'espèces réactives de l'oxygène ont été mesurés pendant des épisodes de reperfusion ou quand les polynucléaires sont activés ou adhèrent à l'endothélium (**Mohamed et al., 1993 ; Hofstra et al., 1996**). Le stress oxydant favoriserait donc les mécanismes vaso-occlusifs dans la drépanocytose.

1-2-7- Stress oxydant acteur majeur de la physiopathologie

Le stress oxydant est une caractéristique importante de la pathologie drépanocytaire et joue un grand rôle dans les phénomènes d'hémolyse, de vaso-occlusion et les atteintes des différents organes (Nur *et al.*, 2011). Il se définit comme un déséquilibre de la balance entre les agents pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. En effet, dans des conditions physiologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites en permanence par l'organisme sont contrecarrées par un système de défense antioxydant efficace qui permet de réguler leur production excessive (Halliwell et Gutteridge, 1984).

Cependant, chez les patients drépanocytaires, un affaiblissement de leur système de défense dû à une production diminuée et/ou une consommation excessive d'antioxydants vient rompre cet équilibre (Nur *et al.*, 2011).

1-2-7-1- Espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène présent dans l'organisme, qui a pour rôle majeur d'être l'accepteur final des électrons libérés au cours des divers processus cataboliques, est normalement réduit en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale pour apporter aux cellules l'énergie dont elles ont besoin pour assurer leurs fonctions. Cette réaction de réduction directe est rendue possible grâce à un système complexe de protéines et d'enzymes localisées dans la membrane interne de la mitochondrie. Ainsi, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'adénosine triphosphate (ATP) sont générées lors de la réduction de l'oxygène. Cependant, 2 à 5 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (Cadenas et Davies, 2000). Parmi ces ROS, figurent l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou encore le nitroperoxyde ($ONOOH$).

1-2-7-2- Sources du stress oxydant dans la drépanocytose

1-2-7-2-1- Auto-oxydation de l'hémoglobine

En présence d'oxygène, l'hémoglobine est capable de s'auto-oxyder, induisant ainsi la formation de méthémoglobine (metHb) $Hb Fe^{3+}$ par l'oxydation de Fe^{2+} en Fe^{3+} . Cette auto-oxydation de l'hémoglobine génère des radicaux libres parmi lesquels les anions superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Bien que ce phénomène soit retrouvé à la fois pour l'Hb A et l'Hb S, des études ont montré que cette dernière avait la capacité de s'auto-oxyder 1,7 fois plus vite que l'Hb A (Hebbel *et al.*, 1988). En effet, l'Hb A est capable de contrecarrer ces réactions, à l'inverse de l'Hb S qui se retrouve rapidement submergée par la production continue de $O_2^{\cdot-}$, puis par sa dismutation en H_2O_2 , celui-ci pouvant produire alors de l' $\cdot OH$.

Par ailleurs la metHb, en absence de réduction du fer par la méthémoglobine réductase, va se dénaturer en hémichromes. Ces hémichromes, retrouvés à des taux très élevés dans la membrane érythrocytaire des drépanocytes, vont favoriser l'oxydation des constituants membranaires des globules rouges (**Asakura et al., 1977**).

1-2-7-2-2- Xanthine oxydase

La restauration du flux sanguin après un épisode prolongé d'hypoxie contribue largement à la production de radicaux libres et aux dommages tissulaires. Les crises vaso-occlusives douloureuses et les épisodes vaso-occlusifs silencieux cliniquement, qui impliquent de façon transitoire le blocage des micro-vaisseaux par des globules rouges rigides, contribuent à des processus d'ischémie-reperfusion. Des lésions liées à ces processus ont été mises en évidence chez les souris drépanocytaires soumises à des épisodes d'hypoxie/réoxygénation (**Osarogiagbon et al., 2000**). Le niveau bas d'oxygène dû à l'interruption de la circulation sanguine provoque la production d'hypoxanthine et de xanthine oxydase à partir de l'adénosine triphosphate et de la xanthine déshydrogénase respectivement (**Beetsch et al., 1998**). Lors de la phase de réoxygénation, la xanthine oxydase va produire l'ion superoxyde en catalysant la conversion de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique (**Nishino et al., 1997**). Parce que les cellules endothéliales de certains tissus exhibent une faible activité de xanthine oxydase (c'est le cas du cerveau) et d'autres une forte activité de l'enzyme (par exemple les intestins), l'importance de cet enzyme comme source de production de ROS reste probablement tissue-dépendante (**Wood et Granger, 2007**).

1-2-7-2-3- NADPH oxydase

Les leucocytes et les cellules endothéliales représentent une importante source de ROS dans la drépanocytose via un mécanisme impliquant la NADPH oxydase (**Wood et Granger, 2007**). En effet, cet enzyme membranaire des cellules phagocytaires catalyse la réduction de l'oxygène en anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$.

1-2-7-2-4- Autres sources

L'hyperhomocystéinémie dans la drépanocytose augmente la production de ROS via un mécanisme impliquant la production de diméthyl-arginine asymétrique qui entre en compétition avec la L-arginine, substrat de l'oxyde nitrique synthase (NOS). En l'absence de L-arginine, précurseur du NO, la NOS endothéliale (NOS_e) se met à produire des ROS au détriment de la production de NO (**Wood et Granger, 2007**).

La production de stress oxydant dans la drépanocytose est multifactorielle et peut s'expliquer par :

- l'hémolyse accrue conduisant à une augmentation de l'hème libre fortement impliquée dans la

production de ROS ;

- l'auto-oxydation de l'hémoglobine S qui engendre une production de ROS 1,7 fois supérieure à celle de l'Hb A ;
- l'augmentation de l'ischémie-reperfusion, exacerbée par l'adhésion cellulaire à l'endothélium, qui va stimuler la production de ROS via notamment la xanthine oxydase ;
- le contexte inflammatoire bien caractérisé dans la maladie drépanocytaire. Il est encore aujourd'hui difficile de dire si l'état pro-inflammatoire chronique retrouvé dans la drépanocytose contribue à l'exacerbation du stress oxydant dans la pathologie ou inversement. De plus en plus, des études démontrent une relation plutôt bidirectionnelle entre inflammation et stress oxydant.

Les espèces réactives produites au cours du stress oxydant sont impliquées dans la falciformation des globules rouges, dans l'adhérence cellulaire à l'endothélium, dans la modulation du tonus vasculaire et dans l'inflammation qui est à l'origine des crises vaso-occlusives douloureuses et des lésions d'organes.

1-2-8- Manifestations clinique de la drépanocytose

Bien que l'anémie et la survenue de crises vaso-occlusives plus ou moins sévères soient les caractéristiques principales de la drépanocytose, cette maladie s'accompagne de complications aiguës et chroniques multiples, qui compliquent la prise en charge des patients atteints (**Lamarre, 2013**).

1-2-8-1- Episodes douloureux aigus en raison des crises vaso-occlusives

Les crises « vaso-occlusives » sont causées par l'obstruction des capillaires par les cellules en « faucille » et se manifestent par des douleurs vives et brutales dans certaines parties du corps. Elles peuvent, à la longue, entraîner la destruction de certains organes ou parties d'organes. Les douleurs peuvent se produire dans toutes les parties du corps, le dos, le thorax ; les extrémités et l'abdomen étant les parties les plus souvent atteintes. Les crises douloureuses qui durent généralement trois à dix jours, sont difficilement prévisibles (**Aufradet, 2012**).

➤ Syndrome pied-main ou dactylite

Ce syndrome concerne exclusivement l'enfant, avant l'âge de deux ans. Les pieds et/ou les mains deviennent chauds, gonflés, et les mouvements sont douloureux. Cela peut être la première manifestation de la maladie chez les jeunes enfants, associée ou non à de la fièvre (**Mary, 2008**).

1-2-8-2- Anémie hémolytique

L'anémie désigne un manque d'hémoglobine (ou de globules rouges) et se traduit par une fatigue excessive et une sensation de faiblesse. Lorsque l'anémie est assez sévère, le malade peut avoir des difficultés à respirer (essoufflement) et une accélération des battements du cœur (tachycardie). Les personnes atteintes sont anémiques en permanence, mais s'y adaptent généralement

assez bien. Parfois, les seuls signes visibles sont la fatigue et une couleur jaune des yeux ou de la peau (ictère), et une coloration foncée des urines (**Connes, 2011**).

➤ **Aggravation de l'anémie (séquestration splénique)**

Le fonctionnement intensif de la rate est une manifestation qui se retrouve surtout chez l'enfant. Les manifestations de la séquestration splénique sont : des douleurs abdominales ; une augmentation très soudaine du volume de la rate (splénomégalie), une pâleur marquée et de manière générale, une aggravation de toutes les manifestations de l'anémie. Les crises aplasiques se caractérisent par des manifestations telles que de la fièvre, des maux de tête (céphalées), des douleurs abdominales, une perte d'appétit ou des vomissements. Ces manifestations sont transitoires. Ces crises peuvent être liées à une infection par le parvovirus B19 ou à un manque en acide folique (vitamine B9) qui doit être prise régulièrement par les personnes drépanocytaires (**Lamarre, 2013; Makani et al, 2014**).

➤ **Le syndrome thoracique aiguë**

La radiographie des poumons montre la présence anormale de taches blanches (infiltrats pulmonaires). C'est une complication grave et le malade et son entourage doivent connaître les signes de ce syndrome. Chez l'enfant, il est souvent dû ou associé à une infection des poumons. Ce syndrome se manifeste par une fièvre, des difficultés respiratoires (dyspnée), une respiration rapide, une toux, et des douleurs dans la poitrine. Toutes ces crises doivent être traitées en urgence (**Castro et al., 1994, Platt et al., 1994**).

1-2-8-3- Accident vasculaire cérébral

Les manifestations sont très variables, et peuvent être transitoires (on parle alors d'accidents ischémiques transitoires). Ce sont entre autres les pertes de sensibilité ou de force dans un bras, une jambe, la moitié du visage, paralysie d'un côté du corps ou d'un membre (hémiplégie), difficultés soudaines à parler (aphasie), troubles de l'équilibre, convulsions, parfois coma. Des maux de tête violents ou des difficultés d'apprentissage soudaines peuvent être des signes d'alerte.

1-2-8-4- Susceptibilité accrue aux infections

Les enfants (parfois même dès l'âge de trois mois), et dans une moindre mesure les adultes, sont très sensibles aux infections bactériennes qui peuvent se développer de manière fulgurante et doivent donc être traitées rapidement. Ces infections sont dues au dysfonctionnement de la rate. Les personnes sont plus spécialement sensibles aux pneumonies, à la grippe, mais aussi aux hépatites, aux méningites, aux infections urinaires, aux septicémies et aux infections ostéo-articulaires. Les germes les plus fréquemment associés à ces infections dans cette pathologie sont constitués de *Plasmodium falciparum*, *Haemophilus influenzae*, staphylocoques, streptocoques et pneumocoques (**Mabiala-**

Babela et al., 2005 ; Douamba et al., 2017 ; Kamara et al., 2017).

1-2-8-5- Autres complications chroniques de la drépanocytose

Les patients drépanocytaires connaissent d'autres complications telles que : les atteintes cardiaque, hépatique et rénale, les problèmes de dermatologie, l'Hypertension Artérielle Pulmonaire, la rétinopathie, le priapisme et la lithiase biliaire.

1-2-9- Prises en charge thérapeutiques de la drépanocytose

Il n'existe pas de traitement curatif de cette maladie génétique, hormis une transplantation de cellules souches hématopoïétiques.

1-2-9-1- Prises en charge modernes

Plusieurs méthodes de traitement sont utilisées, mais aucune ne s'avère parfaitement efficace. Les principaux traitements utilisés sont les hydroxy-urées, la transfusion sanguine, les traitements pharmacologiques et la greffe de moelle osseuse.

1-2-9-1-1- Action des analgésiques

En cas de crise, débutante, le traitement peut commencer à la maison par une réhydratation orale accrue. Des analgésiques gradués peuvent être administrés (paracétamol + dextropropoxyphène, codéine, morphine, buprénorphine) selon l'intensité de la douleur et les habitudes du patient afin de calmer la souffrance liée aux crises vaso-occlusives, au priapisme, au syndrome thoracique aigu, à la séquestration splénique (**Habibi et al., 2004**).

1-2-9-1-2- Action de l'hydroxy-urée

L'hydroxyurée ou hydroxycarbamide est une molécule qui favorise la synthèse de l'Hb F en inhibant la synthèse de la ribonucléotide réductase (**Odièvre et al., 2009**), diminuant ainsi la falciformation. Il joue aussi un rôle de cyto-réducteur en réduisant l'adhésion des éléments figurés du sang à l'endothélium vasculaire et régule le processus inflammatoire (**Charache et al., 1995**).

Les effets indésirables avec cette molécule sont relativement peu nombreux compte tenu de son mécanisme d'action : des cas de thrombopénies et neutropénies (dues à la myélotoxicité), une azoospermie réversible à l'arrêt du traitement est quasi inéluctable. Dans certains cas, des manifestations cutanées ont été révélées (éruptions, ulcères) (**Odièvre et al., 2009**).

1-2-9-1-3- Transfusion sanguine

La transfusion sanguine est indispensable dans la prise en charge du patient drépanocyttaire. Elle permet généralement de corriger l'anémie aiguë, d'améliorer l'oxygénation et de réduire le pourcentage de cellules anormales, les crises vaso-occlusives, le syndrome thoracique aigu et les douleurs (**Riddington et Wang, 2002**).

La transfusion sanguine peut être soit ponctuelle pour les complications ou soit chronique dans le but de prévenir d'éventuelles complications (**Redding-Lallinger et Knoll, 2006**). Les inconvénients de ce traitement sont le manque de sang et la compatibilité avec les patients drépanocytaires.

1-2-9-1-4- Greffe de moelle osseuse

En détruisant la moelle osseuse du malade et en la remplaçant par celle d'un donneur, il y a possibilité d'obtenir une guérison totale, car les hématies sont produites à partir de cellules souches dans la moelle osseuse. Il faut cependant un donneur apparenté le plus possible, c'est à dire un frère ou une sœur (**Bernaudin et al., 2010**). Cette guérison par greffe provenant de donneurs compatibles progresse, mais lentement en raison de la proportion encore limitée de patients ayant un donneur parfaitement compatible (**Bolanos-Meade et Brodsky, 2009**). De plus, l'accès aux centres de greffe est limité en nombre et le risque de complications immédiates ou à court terme de la greffe (mortalité) ou chroniques sont souvent observés (**Habibi et al., 2015**). Cette approche thérapeutique reste coûteuse pour la plupart des patients.

Heureusement, ces risques diminuent rapidement, en particulier pour les enfants les plus jeunes ayant un donneur familial compatible dans la fratrie. Il est donc très important de prévenir les foyers infectieux chroniques en maintenant à jour leurs vaccinations, et en prenant les antibiotiques prescrits tous les jours en cas de crise (**Habibi et al., 2015**).

1-2-9-1-5- Antioxydants

Au regard du contexte oxydatif bien présent dans la drépanocytose, la question d'un développement thérapeutique basé sur l'administration d'agents réducteurs ou antioxydants s'est naturellement posée. Plusieurs travaux de recherche se sont donc orientés sur cette voie, essentiellement sur des modèles animaux. Cependant, il y a peu d'essais cliniques disponibles, principalement au stade 3, ce qui limite l'évaluation réelle de ces thérapies antioxydantes dans la drépanocytose (**Silva et al., 2013**).

Ainsi, des études *in vitro* ont démontré que les acides aminés non essentiels tels que la N-acétylcystéine stimulait la production de glutathion, diminuerait de façon significative la formation des globules rouges falciformés et ramènerait la forme biconcave de ceux-ci (**Gibson et al., 1998 ; Nur et al., 2012**).

Les travaux de **Cho et al. (2010)** ont montré l'effet bénéfique de l'hydroxyurée. En effet, l'hydroxyurée semble passer par un mécanisme en partie lié à l'augmentation de la glutathion peroxydase, qui est un antioxydant enzymatique puissant, via une voie de signalisation cellulaire mettant en jeu la protéine P53. **Vinchi et al. (2013)**, à travers leurs travaux sur des souris

drépanocytaires et α -thalassémiques, ont démontré des effets antioxydants de l'hémopexine sur la réduction du dysfonctionnement de l'endothélium induites par l'hème et les lésions oxydatives chez celles-ci. L'hémopexine est une glycoprotéine qui se lie aux molécules d'hèmes issues de la dégradation de l'hémoglobine.

Toutefois, malgré ces résultats prometteurs, les études testant les bienfaits des antioxydants apportent aussi des résultats mitigés puisque **Arruda *et al.* (2013)** démontrent que l'utilisation des vitamines C et E augmente les marqueurs d'hémolyse. Des investigations plus approfondies sont donc nécessaires afin de mieux déterminer les cibles à atteindre pour la mise en place de stratégies thérapeutiques à visée antioxydante chez les patients drépanocytaires.

1-2-9-1-5-1- Systèmes antioxydants enzymatiques

1-2-9-1-5-1-1- Superoxydes Dismutases (SOD)

Elles sont capables d'éliminer l'anion superoxyde en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène.

Les chercheurs ont montré que le taux de SOD augmente chez les patients drépanocytaires comparés à celui des sujets sains et que cette augmentation reflète la tentative de défense des globules rouges drépanocytaires contre le stress oxydant (**Gizi *et al.*, 2011**). Ces résultats sont en accord avec les observations de **Das et Nair, (1980)**.

Les patients drépanocytaires, cliniquement les plus sévères, présentent une réduction de l'activité de la SOD comparée aux patients cliniquement moins sévères, bien que les taux de SOD soient comparables dans les deux groupes (**Schacter *et al.*, 1988**).

1-2-9-1-5-1-2- Catalase

La catalase est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Les travaux de **Dasgupta *et al.* (2006)** ont révélé des taux réduits de catalase chez les patients drépanocytaires. Par contre ceux de **Das et Nair (1980)** ont montré que le taux de catalase est plus élevé chez les patients drépanocytaires comparés à celui des sujets contrôles.

L'augmentation de la catalase pourrait être un signal de défense pour capter le maximum d' H_2O_2 tandis que la diminution de la catalase pourrait s'expliquer par la présence écrasante du stress oxydant que le système de défense antioxydant défaillant des patients drépanocytaires n'arrive plus à contrecarrer.

1-2-9-1-5-1-3- Glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases constituent sans doute l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection. Elles sont capables de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la

réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur comme le glutathion, le cytochrome C (cytochrome c peroxydases), le NADH (NADH peroxydases) (**Delattre et al., 2007**).

Le glutathion oxydé est régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH, H⁺, formé principalement par la voie des pentoses phosphates (**Delattre et al., 2007**). D'autres enzymes comme la glutathion transférase, les thiorédoxines réductases ou les thiorédoxines peroxydases et l'hème oxydase présentent également une activité antioxydante, relativement importante (**Delattre et al., 2007**).

Les travaux de **Gizi et al. (2011)** ont montré que le taux du glutathion peroxydase augmente chez des patients drépanocytaires comparés aux sujets contrôles AA. Au niveau de la glutathion réductase, aucune différence n'était observée entre les deux groupes. Ces résultats sont controversés par les travaux de **Cho et al. (2010)** qui ont révélé une perte d'activité de 33 % de la glutathion peroxydase chez les drépanocytaires comparés à des sujets contrôles, perte corrélée à l'hémolyse retrouvée chez ces patients. Cependant, chez les patients bénéficiant d'un traitement à l'hydroxyurée une augmentation de 90 % de l'activité de la glutathion peroxydase a été observée par rapport aux patients n'ayant pas reçu l'hydroxyurée.

1-2-9-1-5-2- Systèmes antioxydants non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles le glutathion, l'acide urique, les vitamines (A, C, E) ou la bilirubine. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou (•NO) (**Favier, 2003 ; Amer et al., 2006 ; Gizi et al., 2011**). La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger des radicaux peroxydes RO² et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Neuzil et Stocker, 1993**).

Les composés tels que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes, apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (**Krinsky, 1989**).

Des protéines comme l'haptoglobine, la transferrine et l'hémopexine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants comme les ions Fe²⁺/Fe³⁺ ou Cu²⁺/Cu⁺.

Les études d'**Amer et al. (2006)** attestent que l'administration de vitamines A, C et E diminue le taux de glutathion et le stress oxydatif exacerbé chez les patients drépanocytaires.

1-2-10- Prévention

Pour éviter les crises, il est recommandé de suivre des mesures simples suivantes :

- bien aérer les pièces afin de bien s'oxygéner (**Wajcman et al., 2004**) ;

- boire fréquemment de l'eau ;
- éviter les variations brusques de températures ;
- éviter au maximum les infections respiratoires ;
- porter des habits amples afin de ne pas s'essouffler et surtout de ne pas favoriser la constriction vasculaire ;
- éviter d'aller en altitude ;
- éviter de s'exposer aux fortes chaleurs, car la déshydratation déclenche des crises en augmentant la viscosité sanguine (**Beyeme-Owono et Chiabi 2004**).

En somme, toutes les prises en charge moderne proposées n'apportent que des solutions temporaires (**Ould, 2006 ; Lippi et al., 2010**), et restent onéreuses pour les populations à revenu faible d'Afrique. C'est dans cette optique que la recherche d'autres solutions avec les plantes médicinales est la bien venue.

1-2-11- Phytothérapie

La phytothérapie est une alternative capable d'offrir un soulagement aux sujets drépanocytaires. Plusieurs preuves expérimentales mettent en exergue l'activité anti-drépanocytaire *in vitro* et *in vivo* des plantes (**Wambebe et al., 2001**). De nombreuses plantes sont utilisées dans le traitement de la drépanocytose en Afrique en tant qu'alicaments ou médicaments traditionnels améliorés ou sous forme de recettes traditionnelles.

Par ailleurs, des recettes ou médicaments améliorés à base d'association de plantes sont proposés dans la lutte contre les crises drépanocytaires. L'on peut citer parmi tant d'autres :

- DREPANOSTAT® : il a pour principe actif l'acide hydroxyméthylbenzoïque et agirait en augmentant le taux de Hb F. Commercialisé au Togo, il est obtenu à partir d'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* (**Mavian, 2012**).
- VK-500® mis au point à partir de plusieurs plantes dont *Fagara zanthoxyloïdes* et exploité au Bénin depuis 1999.
- NICOSAN® (HEMOXIN® aux Etats Unis d'Amérique, Nicosan ou Nix-0699), il s'agit d'une recette obtenue à partir de graines de *Piper guineense*, d'écorces de *Pterocarpus osum*, de fruits d'*Eugenia caryophyllum* et de feuilles de *Sorghum bicolor*. Cette recette possède également des effets antifalcémiant (**Iyanus et al., 2002**) et a été initialement lancée au Nigéria par le National Institute for Pharmaceutical Research and Development (NIPRD).
- FACA® : c'est une association de poudre de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* (Rutaceae) et de poudre de racines de *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) mis au point par **Ouattara (1991)** qui a réalisé un criblage phytochimique de ces deux plantes, ainsi qu'une formulation de la poudre d'écorces de racines en gélules.

- DREPANOALPHA® : c'est une association de plusieurs plantes comestibles riches en anthocyanes, en acides organiques et leurs dérivés. DREPANOALPHA a montré des activités antifalcémiantes, anti-hémolytiques, antiradicalaires et antioxydantes. Sa capacité à augmenter le taux d'hémoglobine, de plaquettes, de globules rouges et de globules blancs a été prouvé (**Gbolo et al., 2017**).

1-3- Généralités sur les plantes étudiées

1-3-1- *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae)

1-3-1-1- Utilisation traditionnelle

Jatropha gossypifolia est utilisé dans le traitement de diverses maladies telles que la toux, la tuberculose, les bactéries, les infections et les tumeurs cancéreuses (**Aiyelaagbe et al., 2007 ; Bebawi et al., 2007**). La décoction de feuilles de cette plante est utilisée pour cicatriser les plaies (**Omoregbe et al., 1996**). La sève de la tige arrête le saignement et les démangeaisons des blessures (**Horsten et al., 1996**).

1-3-1-2- Propriétés pharmacologiques

Des études antérieures sur la composition chimique ont montré qu'il peut être utilisé comme agent hémostatique (anticoagulant) (**Oduola et al., 2005 ; 2007**). L'activité antimicrobienne a été étudiée par **Seth et Sarin (2010); Purohit et Purohit (2011); Abiodun et al. (2011)** et **Kumari et Roy (2014)**. L'activité anti-inflammatoire a été étudiée par **Nagaharika et al. (2013)** et **Xavier-Santos et al. (2018)**. Les activités antipyrétiques et purgatives ont été mises en évidence par **Murugalakshmi et al. (2014)**. L'activité anti-âge a été étudiée par **Bullangpoti et al. (2012)**. **Adetuyi et al. (2015) ; Hammad et al. (2016)** ont montré que cette plante possède une activité antidiabétique et une activité antiulcéreuse.

Elle possède des activités anticancéreuse, hépatoprotectrice et antidiarrhéique (**Apurba et al., 2013 ; Sachin, 2015**), antivenimeuse (**Juliana et al., 2014**), antiplasmodiale (**Onyegbule et al., 2019**). *J. gossypifolia* a une action sur les hormones sexuelles pour la fertilité (**Sachin, 2013**), toutes ces propriétés de *J. gossypifolia* pourraient être attribuées à la présence de certains métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les phénols qui ont été détectés dans divers extraits de différentes parties de la plante (**Femi-Olabisi, 2019**).

1-3-2- *Justicia secunda* (Vahl) (Acanthaceae)

1-3-2-1- Utilisation traditionnelle

Justicia secunda est une plante dont l'extrait aqueux est utilisé pour le traitement de l'anémie, l'hypertension et la diarrhée (**Ambe et al., 2015**).

1-3-2-2- Propriétés pharmacologiques

Selon **Gbenou et al. (2006)**, les feuilles de *J. secunda* ont une activité antianémique. L'activité anti-diarrhéique a été démontrée par **Ambe et al. (2015)**. L'activité antifalcifémianta a été prouvée par **Mpiana et al. (2010)**.

Les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antinociceptives des feuilles de cette plante ont été révélées par **Samuel et al. (2016)**. Les effets hépato protecteurs et hématologiques chez le rat ont été étudiés par **Godswill et al. (2019)**.

1-3-3- *Parquetina nigrescens* (Alzel) (Periplocaceae)

1-3-3-1- Utilisation traditionnelle

Parquetina nigrescens pourrait traiter des maux yeux, maux de reins, plaie de ventre (**Béné et al., 2016**). La plante intervient dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète (**Tra-Bi et al., 2008**). Elle interviendrait également dans le traitement de l'ulcère de Buruli (**Yemoa et al., 2015**).

1-3-3-2- Propriétés pharmacologiques

L'activité antioxydante des feuilles de *P. nigrescens* a été démontrée par **Ayoola et al. (2011)**; **Owoyele et al. (2011)**, **Fadeyemi et al. (2016)**. Les feuilles de cette plante sont également reconnues pour leur activité antianémique et l'amélioration du système immunitaire (**Ogunsile et al., 2016**). Elles ont une bonne réputation antiparasitaire et participent à la cicatrisation des plaies (**Agbor et Odetola, 2005**). L'activité antimicrobienne de la plante a été démontrée par **Hoekou et al. (2016)**. Elle possède aussi une activité anti hémolytique (**Imaga et al., 2010**), une activité anti diarrhéique (**Adeola et al., 2019**) et régulerait les paramètres hématologiques (**Omoboyowa et al., 2016**). *P. nigrescens* intervient dans l'inhibition de la falciformation des globules rouges (**Imaga et al., 2010**).

1-3-4- *Zanthoxylum leprieurii* (Guill) (Rutaceae)

1-3-4-1- Utilisation traditionnelle

Zanthoxylum leprieurii est utilisé dans le traitement et dans la gestion des spasmes musculaires, des varices, de la maladie de Raynaud, de l'arthrite, des rhumatismes, la névralgie, la grippe, la fièvre, la constipation, la carence gastrique, la dysenterie, la diarrhée, les maux de dents et maladie de la gencive, la toux, les rhumes, les affections cutanées et la variole (**Evelyne et al., 2020**).

Cette plante s'est révélée également efficace contre l'angine, et les hémorroïdes (**Jazet et al. 2008 ; Evelyne et al., 2020**). Les fruits séchés de *Z. leprieurii* sont utilisés comme épices par les populations locales dans de nombreuses régions d'Afrique (**Tchiégang et Mbougoueng, 2005**).

1-3-4-2- Propriétés pharmacologiques

Misra et al. (2013) ont montré l'activité antibactérienne et anticancéreuse des huiles

essentielles de *Z. leprieurii*.

De même, l'effet inhibiteur des alcaloïdes isolés de *Z. leprieurii* et *Z. zanthoxyloides* sur les enzymes glucosyltransférases et aromatasés a été démontré par **Wouatsa *et al.* (2013)**.

La plante s'est révélée antioxydante, antimicrobienne, anticancéreuse et cytotoxique. Elle possède également des propriétés schistosomicides et antibactériennes (**Kpomah *et al.*, 2012 ; Zondegoumba *et al.*, 2019**).

Les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, insecticides et antispasmodiques ont été mises en évidence par **Evelyne *et al.* (2020)**.

1-3-5- Harungara madagascariensis (Lam) (Rutaceae)

1-3-5-1- Utilisation traditionnelle

Toutes les parties de l'arbre sont utilisées de manière différente pour traiter diverses maladies telles que l'anémie, le jaunisse, la typhoïde, les hémorragies, la gonorrhée, le paludisme, l'asthme, les maladies du foie, le diabète, les maladies du pancréas et la dissenterie (**Adeneye *et al.*, 2008 ; Nicolas, 2012**). Ainsi, l'écorce et les feuilles interviennent dans le traitement des maladies du foie. La sève et l'écorce servent de vermifuge. La sève résineuse est utilisée contre les coliques et les maladies cutanées (mycoses, irritations, gale, démangeaisons, etc.), en application externe.

1-3-5-2- Propriétés pharmacologiques de *Harungana madagascariensis*

Harungana madagascariensis possède plusieurs activités notamment les activités antioxydantes en réduisant des radicaux libres (**Oluwatosin *et al.*, 2016**), antimicrobienne (**Etchike *et al.*, 2011 ; Afieoho *et al.*, 2017**), antihelminthique (**Koné et Kamanzi, 2006**), antipaludique (**Manzo, 2012**), antidiabétique (**Mangambu, 2014**) et anti typhoïde (**Kengni *et al.*, 2016**).

1-3-6- Disthemonanthus bentamianus (Bail) (Fabaceae)

1-3-6-1- Utilisation traditionnelle

Les feuilles et l'écorce de *D. benthamianus* sont utilisées en médecine traditionnelle africaine pour traiter les ulcères, les infections microbiennes, les troubles nerveux, les constipations, les troubles intestinaux et l'hydropisie (**Kouassi *et al.*, 2013**).

1-3-6-2- Propriétés pharmacologiques

Les propriétés antibactériennes et antifongiques de *D. benthamianus* ont été étudiées par **Christiana *et al.* (2012)**. *D. benthamianus* est riche en flavonoïdes tels qu'Oxyyanine B, Ayanine et Distemonanthine. Ces composés ont montré une activité anti-tumorale, antioxydante et anti-diarrhéique **Yousseu, (2019)**.

1-3-7- *Afromonum melegueta* (K Schum) (Zingiberaceae)

1-3-7-1- Utilisation traditionnelle

Au Gabon, la racine de *A. melegueta* est utilisée comme médicaments contre le ténia. En Afrique en général, les fruits frais sont utilisés comme aphrodisiaques, et la décoction de racine est utilisée par les mères nourricières pour contrôler la lactation et l'hémorragie du postpartum (Iwu, 1993). Les rhizomes sont utilisés dans le traitement de la dysenterie et de la diarrhée (Dokosi, 1998), tandis que les graines sont mâchées pour soigner la dysenterie, comme sédatif contre les maux de dents, pour se protéger du rhumatisme et des migraines, et pour soigner la fièvre (Simon *et al.*, 2007).

1-3-7-2- Propriétés pharmacologiques

L'extrait aqueux des graines d'*A. melegueta* est un stimulant sexuel (Kamtchouing *et al.*, 2002), *A. melegueta* possède une activité anti-diarrhéique (Umukoro et Ashorobi, 2003) et anti-inflammatoire (Umukoro et Ashorobi, 2005 ; Okoli *et al.*, 2007). Les graines de cette plante possèdent également des activités hypotensive (Lawal *et al.*, 2007), hypoglycémiant (Ilic *et al.*, 2010) anti-hémolytique (Damilola, 2017).

1-3-8- *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich (Annonaceae)

1-3-8-1- Utilisation traditionnelle

Les fruits de *X. aethiopica* sont donnés par les femmes après l'accouchement pour améliorer l'écoulement du lait (Tatsadjieu *et al.*, 2003). Les fruits sont également utilisés dans le traitement de l'ulcère de Buruli (Yemoa *et al.*, 2008), de la stérilité féminine et masculine (Victorin *et al.*, 2018) des troubles dysentériques, des douleurs fébriles, des rhumatismes (Ogbonnia *et al.*, 2008 ; Igwe *et al.*, 2003 ; Béné *et al.*, 2016 ; Kouchadé *et al.*, 2016).

1-3-8-2- Propriétés pharmacologiques

Il a été démontré que l'extrait de fruit de *X. aethiopica* possède des propriétés antimicrobiennes (Asekun et Adeniyi, 2004 ; Fleischer *et al.*, 2008 ; Kuete, 2010), analgésiques (Woode *et al.*, 2012), anti-inflammatoires (Obiri *et al.*, 2014) et hématopoïétique (Taiwo *et al.*, 2009 ; Ogbonnia *et al.*, 2008). L'activité antirépanocytaire de plusieurs extraits des fruits de *X. aethiopica* a été démontrée par Uwakwe & Nwaoguikpe (2008). Selon Sokamte *et al.* (2017), l'huile essentielle issue de *X. aethiopica* possède des activités antifongique et antiradicalaire.

Bien qu'en Côte d'Ivoire, des études antérieures aient démontrées les propriétés hypoglycémiantes, antiulcéreuses, antimicrobiennes, antifongiques, antipaludiques, antioxydantes, anti-inflammatoires et antipyrétiques de certaines plantes médicinales, très peu d'études ont été effectuées sur les plantes médicinales utilisées pour le traitement de la drépanocytose.

II- MATÉRIEL ET MÉTHODES

2-1- Zone d'étude

La zone d'étude se situe à l'Est de la Côte d'Ivoire dans la région de l'Indenié-Djouablin (6° 43' 47" Nord et 3° 29' 47" Ouest). L'enquête a porté sur six villages : N'gra, Kouakou-Dramankro, Abro-Namue, Adaou, Amoriakro et Ebakro. Cette zone est délimitée au Nord par la région du Gontougo et de l'Iffou, à l'Ouest par la région du N'Zi, au Sud par la région de la Me et à l'Est par la République du Ghana. La région couvre une superficie de 6 919,55 km² (**Figure 4**).

Le récent recensement général de la population et de l'habitat a enregistré une population d'environ 700 000 habitants dans l'Indenié-Djouablin (**Rgph, 2014**). La zone d'enquête est située dans la partie guinéenne de la Côte d'Ivoire caractérisée par le réseau hydrographique et la forêt les plus denses (**Rgph, 2014**). Avec un climat subéquatorial, la zone étudiée possède une surface cultivable favorable aux cultures vivrières et industrielles.

La population de l'Indenié-Djouablin est caractérisée par la présence de plusieurs grands groupes ethniques (Agni, Malinké, Baoulé, N'Zima, Abouré). Le reste de la population est composé des autres ethnies de la Côte d'Ivoire et des allogènes qui viennent principalement des pays de la sous-région (Burkina Faso, Ghana, Bénin, Togo et Niger).

2-2- Matériel d'étude

Plusieurs matériels ont été utilisés pour les expérimentations. Les différentes expérimentations pharmacologiques, phytochimiques et toxicologiques réalisées ont nécessité l'utilisation de matériel végétal, de matériel animal (sang humain de drépanocytaires SS et des rats de laboratoire de souche wistar) et de produits chimiques.

2-2-1- Matériel biologiques

2-2-1-1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de différents organes (feuilles, écorces de tronc, racines, fruits et graines) de 8 plantes de la flore ivoirienne. Ces plantes ont été répertoriées et récoltées de décembre 2017 à février 2018 dans la région d'Abengourou (Est de la Côte d'Ivoire). Elles ont ensuite été identifiées au Centre National de Floristique de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody en février 2018 par Feu Monsieur Assi Jean. La liste des plantes et les organes utilisés dans cette étude pour les expérimentations anti-drépanocytaires ont été consignés dans le **tableau I**.

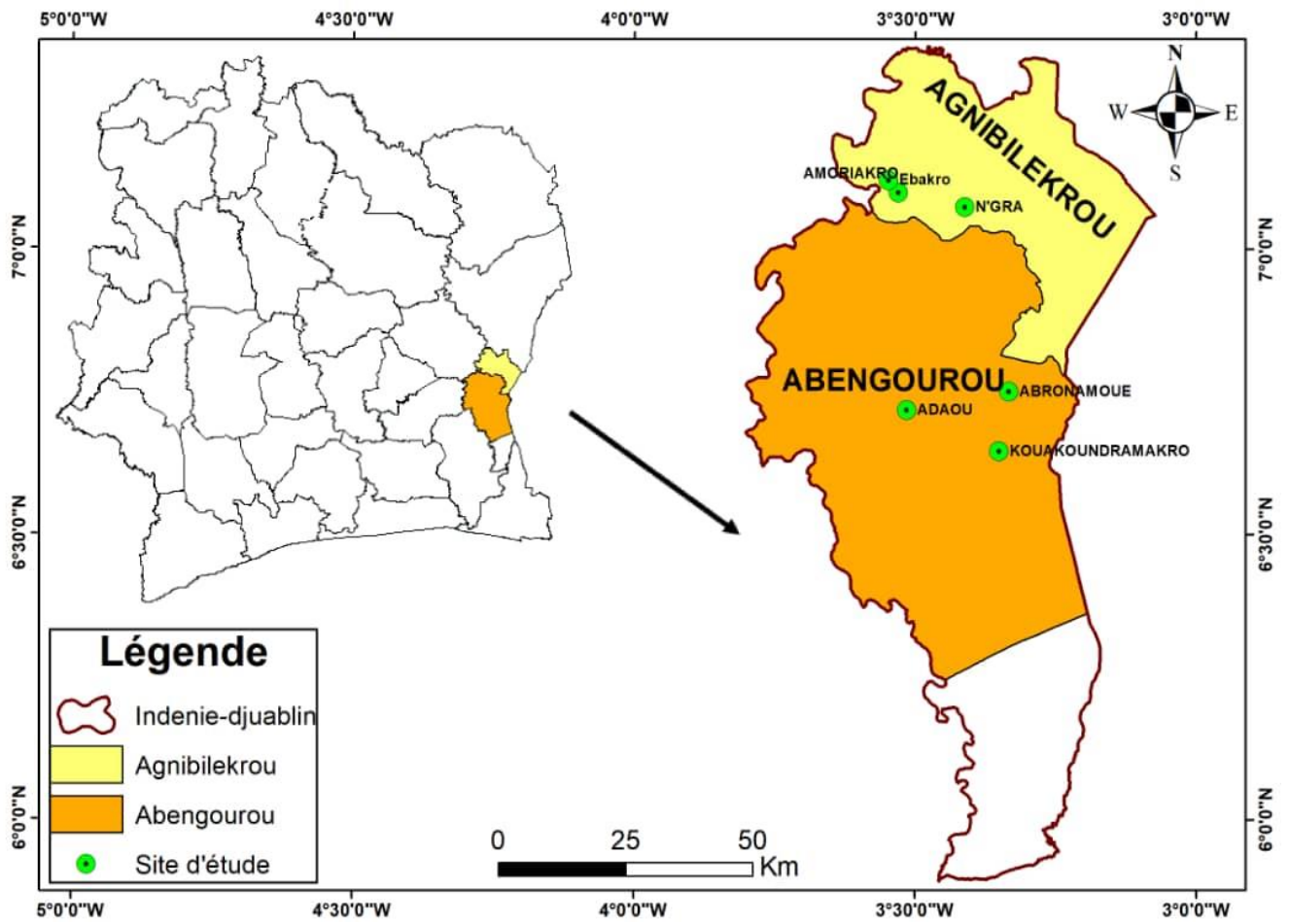


Figure 4 : Situation géographique de la zone d'étude (Logiciel ArcGIS 10.5)

Tableau I : Liste des espèces végétales et les organes utilisés

N ^o	Noms scientifique des plantes	Familles	Type Morphologique	Statuts des plantes	Noms locaux	Organes utilisés	Lieux de récolte
1	<i>Afromonum melegueta</i> (K.Schum)	Zingiberaceae	Arbuste	Sauvage	Essa (Agni)	Graine	Acheté sur le marché d'Abengourou
2	<i>Distemonanthus benthamianus</i> (Baill)	Caesalminiaceae	Arbre	Sauvage	Doukouman (Agni)	Ecorces du tronc	Forêt sacré d'Adaou (Abengourou)
3	<i>Harungara madagascariensis</i> (Lam)	Rutaceae	Arbre	Sauvage	Soulgalani (Malinké)	Tige feuillée	Abengourou
4	<i>Jatropha grossyptifolia</i> L	Euphorbiaceae	Arbuste	Cultivée	Apploplo gna	Tige feuillée	Abengourou
5	<i>Justicia secunda</i> (Vahl)	Acanthaceae	arbuste	Sauvage	Modja waka	Tige feuillée	Abengourou
6	<i>Parquetina nigrescens</i> (Alzel)	Periplocaceae	Liane	Sauvage	Ababagnan	Tige feuillée	Abengourou
7	<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich	Annonaceae	Arbuste	Cultivée	Essidian	fruits	Acheté sur le marché d'Abengourou
8	<i>Zanthoxylum leprieurii</i> (Guill)	Hypericaceae	Arbre	Sauvage	Bakélé	Ecorces du tronc	Abengourou

2-2-1-2- Population d'étude

L'échantillon de sang de 30 patients porteurs du génotype SSFA₂ a été utilisé. Le statut hémoglobinique de chaque patient est connu préalablement ainsi que l'hémogramme. Ces échantillons de sang ont été prélevés au niveau du pli du coude puis recueillis dans des tubes contenant de l'EDTA (Ethylène diamine tétracétate). De plus, les personnes volontaires chez qui les prélèvements sanguins ont été faits, ont donné leur consentement éclairé écrit pour une question d'éthique. L'échantillonnage des volontaires n'a pas tenu compte de l'âge ni du sexe.

-Critères d'inclusion

Cette étude a regroupé les drépanocytaires répondants aux critères suivants :

- ✓ Patients ayant le génotype SS.
- ✓ Patients n'ayant pas été transfusés deux mois avant la prise de sang.
- ✓ Patients ayant un taux d'hémoglobine fœtal inférieur à 5%

-Critères de non inclusion

Les patients répondant aux critères suivants n'ont pas été pris en compte.

- ✓ Les patients transfusés deux mois avant les prélèvements sanguins.
- ✓ Les patients homozygotes dont le taux d'hémoglobine fœtal a été supérieur à 5 %.
- ✓ Les patients faisant une crise et/ou ayant d'autres affections.

2-2-1-3- Matériel animal

Le matériel animal de l'étude était constitué des rats de laboratoire de sexes mâles et femelles de souche Wistar de l'espèce *Rattus norvegicus*. Ces rats âgés de 60 à 90 jours et ayant un poids compris entre 100 et 200 g ont été utilisés. Ces animaux ont été nourris *ad libitum* avec des granulés de la société FASCI® et du pain rassis. L'eau de robinet utilisée pour les abreuver dans des biberons lavés, a été constamment renouvelée. Cette alimentation leur a été donnée tous les jours à la même heure. Les animaux (5 rats mâles ou 5 femelles) ont été conditionnés dans des cages en plastique. Les copeaux de bois ont été utilisés comme tapis dans ces différentes cages. Ce lit de copeaux a été renouvelé tous les deux jours.

2-2-2- Produits et consommables

L'éthanol 70 % et l'eau distillée ont été utilisés pour les extractions. L'eau physiologique (NaCl 0,9 %) a été utilisée pour le lavage des hématies et les dilutions des extraits.

Pour le tri phytochimique : le chloroforme, l'alcool éthylique à 96°, l'acétate de sodium, l'acide chlorhydrique fumant (HCl), l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄), l'alcool chlorhydrique dilué 2 fois, l'alcool isoamylique, l'ammoniac dilué 2 fois, l'anhydride acétique, le chlorure ferrique 2 %, des copeaux de magnésium, le réactif de Bouchardat (réactif iodo-ioduré), le réactif de Dragendorff (iodosbismuthate de potassium), le réactif de Stiasny et le réactif de Bornstraëgen (ammoniac dilué

au demi) ont été utilisés.

Pour la teneur en composés phénoliques, le chlorure de fer III (FeCl_3), le réactif de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique, la quercétine, le tri-chlorure d'aluminium (AlCl_3), la vanilline, l'acide chlorhydrique, le carbonate de sodium (Na_2CO_3), l'acétate de sodium et l'acétate de potassium ont été utilisés. Ces produits proviennent de Merck Co (Germany).

Le chlorure fer II (FeCl_2), le ferricyanure de potassium, l'acide trichloroacétique (TCA) et le chlorure de fer III (FeCl_3), le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) et la vitamine C ont été utilisés pour mesurer l'activité antioxydante des différents extraits de plantes. Ces produits sont issus de Sigma (St. Louis, MO, USA).

Le métabisulfite de sodium a été utilisé pour accélérer la falciformation et la phénylalanine a servi de témoin positif pour l'inhibition de la falciformation.

La paraffine a servi à mettre les tubes à hémolyse et les lames et lamelles à l'abri de l'air.

Les réactifs intégrés au Cobas ont été utilisés pour le dosage des paramètres biochimiques (ALAT, ASAT, urée, créatine, triglycéride, cholestérol total, HDL et glycémie) ont été obtenus chez Roche Diagnostics (France);

L'Adjuvant Complet de Freund, la carragenine et le diclofenac de sodium ont été utilisés pour évaluer l'activité antiinflammatoire. Ces produits sont issus d'ADVILMED ;

La phénylhydrazine et la vitamine B12 ont été utilisés pour évaluer l'activité antianémique ;

Pour le dosage du taux de fibrinogène, le control N, le réactif Buffer et le réactif Thrombine ont été utilisés ;

L'acide acétique a été utilisé pour provoquer les torsions chez les rats.

2-2-3- Matériel technique

Le matériel technique utilisé pour cette étude est composé de plusieurs appareils :

- Une fiche d'enquête (en annexe) a été utilisée pour recueillir des données de l'enquête ;
- des couteaux et des machettes ont été utilisés pour récolter des échantillons ;
- des papiers journaux ont servi pour la confection des herbiers ;
- des sacs plastiques ont servi à transporter les plantes ;
- un broyeur électrique IKA-Labortechnik (Type MFC /Janke & Kunkel) a été utilisé pour pulvériser les plantes ;
- une étuve de marque (VENTICELL[®]) a permis le séchage des extraits de plantes ;
- un microscope SQA Vision de marque Dell couplé à un ordinateur a permis de déterminer la morphologie et le comptage des hématies dans chaque champ ;
- un spectromètre a servi à lire les longueurs d'ondes ;
- un compteur automatique des cellules sanguines (Sysmex KX 21) pour l'hémogramme ;

- un pied à coulisse électronique (stainless shardened digital[®]) a servi à mesurer le diamètre de la patte de l'animal ;
- un COBAS C₃₁₁(Hitachi) a été utilisé pour déterminer les paramètres biochimiques ;
- une centrifugeuse JOUAN[®] BR4i (JOUAN GmbH, Allemagne) a permis d'obtenir le sérum à partir du sang total après centrifugation ;
- le SYSMEX CA-104 a permis de réaliser le test de coagulation ;
- une balance (Electronique) a servi aux différentes pesées ;
- une canule d'intubation a été utilisée pour l'administration orale des extraits ;
- le petit matériel de laboratoire (erlenmeyer, éprouvette graduée, pipettes, micropipettes, baguette d'agitation, seringues graduées, tubes à essai, lames, lamelles et les gants) a été utilisé pour tous les tests à l'étude ;
- les Micropipettes (P100, P200, P1000 P5000) et embouts (100 µL, 200 µL, 1000 µL) ont servi à réaliser les différents tests.
- des tubes EDTA, sec, citraté et gris ont été utilisés pour les prélèvements ;
- une trousse à dissection a été utilisée pour disséquer les rats.
- les papiers essuie-tout ont été utilisés pour le nettoyage de la paillasse après la dissection.

2-3- Méthode d'études

2-3-1- Enquête ethnobotanique

Les informations résumées dans le présent document ont été recueillies dans 6 villages, auprès des tradipraticiens de la région de l'Indenié-Djuablin. Seulement ceux qui ont été disponibles et qui ont accepté de livrer leurs secrets ont été retenus. Trois visites ont été effectuées auprès des tradipraticiens : d'abord une visite de courtoisie, puis une autre pour l'échange sur la drépanocytose enfin une autre pour la récolte des plantes indiquées. La méthodologie suivie dans les enquêtes de terrain est basée sur la méthode de **Fujita *et al.* (1995)**. Les données ont été collectées par le biais d'entretiens semi-structurés réalisés avec les populations locales (**Martin, 1995**).

Après avoir expliqué le but de la visite, un questionnaire en français a été proposé. Quand le niveau de français du répondant était faible, le questionnaire était traduit dans la langue locale par un intermédiaire. Les tradipraticiens ont été interrogés à deux reprises, ce qui a permis de vérifier les informations déjà recueillies. Plusieurs informations sur les noms locaux, les parties de la plante utilisée, les effets thérapeutiques, les maladies traitées, les méthodes de préparation, les modes d'administration, la durée de traitement et les techniques de culture traditionnelles ont été recueillies. Des questions concernant les informations personnelles concernant des guérisseurs traditionnels ont également été posées. Des visites sur le terrain ont été effectuées avec les personnes interrogées afin

de recueillir des spécimens des plantes. Des archives photographiques des espèces observées ont été créées pour faciliter l'identification. Les échantillons collectés ont été identifiés au Centre National de Floristique (C.N.F.).

L'enquête ethnobotanique a permis de recenser plusieurs plantes. Cependant, sur la base des activités biologiques des plantes révélées par la bibliographie, seulement 8 espèces ont été retenues pour cette étude.

2-3-2- Récolte et conditionnement du matériel végétal

Les organes de chaque espèce de plante (prise séparément) ont été récoltés en grande quantité et acheminés dans la salle des travaux pratiques de Biochimie de l'UFR Biosciences pour être triés. Pour chaque lot d'une espèce donnée, les espèces étrangères ont été non seulement retirées, mais aussi les récoltes ont été débarrassées des échantillons souillés, pourris, brûlés par le feu ou contaminés par des moisissures ou tout autre parasite. Hormis les écorces, les autres éléments végétaux ont été rincés, égouttés par secousses et découpés en petits morceaux. Ces morceaux de plantes ont été ensuite séchés à l'abri du soleil à la température ambiante (25-30°C) pendant trois semaines dans ladite salle. Le séchage a été réalisé dans un endroit bien aéré et ventilé. Après leur séchage, les éléments végétaux (de chaque espèce de plantes prise séparément) ont été finement broyés à l'aide d'un broyeur électrique IKA-Labortechnik (Type MFC /Janke & Kunkel). Les différentes poudres ont été emballées séparément dans des sachets de polyéthylène non translucides. Ces derniers ont ensuite été fermés hermétiquement, étiquetés et stockés (au laboratoire, sous une hotte) à l'abri de l'humidité et de la chaleur. Les poudres obtenues ont été stockées pour une utilisation ultérieure.

2-3-3- Préparation des extraits végétaux

Les différentes recettes étaient composées respectivement de 4, 3 et 2 plantes par recettes. Les poudres obtenues après pulvérisation de ces plantes ont été assemblées dans les quantités de 25 g par plantes pour la recette JJP ; 33,33 g par plantes pour la recette ZHm et 50 g par plantes pour la recette DbA pour former une composition totale de 100 g pour chaque recette.

2-3-3-1- Préparation de l'extrait hydroéthanolique

L'extrait hydroéthanolique a été préparé selon la méthode de **Zirihi *et al.* (2003)**. Cent grammes (100 g) de poudre végétale ont été dissouts dans un litre de solvant hydroéthanolique (70 %). Le mélange a été ensuite homogénéisé pendant 30 min par tour à l'aide d'un mixeur de marque Severin®. L'homogénat obtenu a été essoré dans un carré de tissu puis filtré successivement trois fois sur du coton hydrophile et sur du papier Whattman (3 mm). Le filtrat a été évaporé à 45 °C à l'aide d'une étuve ventilée de type Venticell® pendant 24 h.

Les poudres sèches obtenues ont constitué l'extrait éthanolique 70 % codifié comme suit :

(EJJP) pour la recette composée de *A. melegueta*, *J. gossypifolia*, *J. secunda* et *P. nigrescens*.

(EZHm) pour la recette composée de *X. aethiopica*, *Z. leprieurii* et *H. madagascariensis*.

(EDbA) pour la recette composée de *A. melegueta* et *D. benthamianus*.

2-3-3-2- Préparation de l'extrait aqueux par décoction

Selon la méthode décrite par **Guede-Guina et al. (1995)** qui a été modifiée, cent grammes (100 g) de poudre végétale ont été portés à ébullition pendant 20 min dans 2 L d'eau distillée. Le décocté refroidi à la température ambiante (25 °C) a été filtré trois fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Wattman 3 mm. Le filtrat a été ensuite séché à 50 °C à l'aide d'une étuve de type Venticell®.

La poudre obtenue est l'extrait total aqueux codifié comme suit :

(DJJP) pour la recette composée de *A. melegueta*, *J. gossypifolia*, *J. secunda* et *P. nigrescens*.

(DZHm) pour la recette composée de *X. aethiopica*, *Z. leprieurii* et *H. madagascariensis*.

(DDbA) pour la recette composée de *A. melegueta* et *D. benthamianus*.

2-3-4- Tri phytochimique des extraits

Le tri phytochimique a permis de caractériser les principaux groupes chimiques tels que les stérols, les polyterpènes, les alcaloïdes, les tanins, les polyphénols, les flavonoïdes, les quinones et les saponines. Ces composés ont été mis en évidence à l'aide de réactifs appropriés pour donner des couleurs ou précipités spécifiques qui attestent leur présence ou non dans les extraits. Cette étude a été réalisée sur les extraits hydroéthanoliques et les décoctés des plantes selon le protocole de **Nemlin et Brunel (1995)**.

2-3-4-1- Stérols et polyterpènes

Principe

L'apport de l'anhydride acétique acidifie l'homogénat de l'extrait végétal. Les stérols et terpènes sont mis en évidence par addition d'acide sulfurique. L'apparition ou non, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive ou négative.

Protocole expérimental

Les stérols et les polyterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Cinq (5) mL de chacun des deux extraits ont été évaporés sur un bain de sable. Le résidu a été dissous à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique ; puis 0,5 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté au triturât. La lecture a été faite comparativement à un essai témoin, le cholestérol ou le sitostérol.

2-3-4-2- Polyphénols

Principe

La colorimétrie des phénols met à profit la formation de précipité coloré avec une solution de chlorure ferrique (FeCl_3). L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, indique la présence de composés polyphénoliques. L'ajout de FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Koudougou, 2004**). L'appréciation de cette coloration est faite par rapport à un essai témoin qui est une solution de phénol.

En solution aqueuse, les tanins sont précipités par les sels de métaux lourds (Cu, Zn, Sn, Pb, Hg). Il y a deux types de tanins, les tanins catéchiques et les tanins galliques. La réaction au formol chlorhydrique (réactif de Stiasny) permet de distinguer les tanins catéchiques des tanins galliques par saturation à l'acétate de sodium. Les tanins catéchiques sous forme condensée (non hydrolysable) sont précipités par chauffage au bain-marie à 80 °C et forment de gros flocons après refroidissement. Les tanins galliques qui sont sous forme d'hétérosides hydrolysables sont hydrolysés après addition d'acétate de sodium. L'addition de quelques gouttes de perchlorure de fer, va donner une coloration bleu-noire spécifique indiquant la présence des tanins galliques. Un essai témoin est fait avec l'acide gallique.

Protocole expérimental

La réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) a permis de caractériser les polyphénols. A deux (2) mL de chaque extrait hydro-éthanolique et aqueux, il a été ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 %. L'apparition ou non d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence ou de l'absence des polyphénols.

2-3-4-2-1- Flavonoïdes

Principe

En solution alcoolique et en présence d'hydrogène naissant, les hétérosides flavoniques donnent des dérivés diversement colorés en fonction de la structure chimique du flavonoïde. Ainsi, les flavones vont donner une coloration orange ; les flavonols vont donner une coloration rouge et les flavonones vont donner une coloration rouge-violacée (**Bruneton, 1999**).

Protocole expérimental

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Deux (2) mL de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. A cette solution ont été ajoutés 2 à 3 copeaux de magnésium.

L'apparition d'une coloration rose-orangé ou violacée après l'addition de 3 gouttes d'alcool iso amylique indique la présence ou l'absence de flavonoïdes.

2-3-4-2-2- Tanins

Protocole expérimental

Après l'ajout de 15 mL du réactif de Stiasny au résidu, le mélange a été maintenu au bain-marie à 80 °C pendant 30 min. L'observation ou non d'un précipité en gros flocons a caractérisé la présence ou l'absence des tanins catéchiques.

Pour les tanins galliques, la solution précédente a été filtrée. Le filtrat a été recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ a provoqué l'apparition ou non d'une coloration bleu-noir intense, signe de la présence ou l'absence de tanins galliques.

2-3-4-3- Substances quinoniques

Principe

La caractérisation des quinones est fondée sur le fait qu'ils donnent sous l'action d'une lessive alcaline ajoutée en faible quantité (ammoniaque, soude, eau de chaux), une coloration rouge cerise.

Protocole expérimental

Deux (2) mL de chacun des deux extraits ont été évaporés à sec. Le résidu a été trituré dans 5 mL d'acide chlorhydrique au 1/5. Le triturât a été mis dans un tube à essais. Le triturât a été porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, il a été extrait par 10 mL de chloroforme. L'ammoniaque diluée 2 fois (0,5 mL) a été ajoutée à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette ou non constituait le signe de la présence ou l'absence de quinones.

2-3-4-4- Alcaloïdes

Principe

Les alcaloïdes se combinent avec les métaux lourds (bismuth, iode, mercure, tungstène) et précipitent sous forme de sels. Les métaux lourds utilisés dans les réactifs servant à leur détermination sont :

- l'iode dans le réactif de Bouchardât qui entraîne la formation de précipité brunâtre ;
- le couple iode et bismuth dans le réactif de Dragendorff engendre la formation de précipité orangé ;
- l'iode et le mercure dans le réactif de Valser-Mayer forment un précipité blanc laiteux
(Bruneton, 1999).

- Protocole expérimental

Six (6) mL de chaque extrait ont été évaporés à sec. Le résidu a été repris par 6 mL d'alcool à 60 % puis deux tests ont été réalisés :

Tests au réactif de Dragendorff : l'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff sur la solution alcoolique a provoqué un précipité ou une coloration orangée indiquant ainsi la présence ou l'absence d'alcaloïdes.

Tests au réactif de Burchard : l'ajout de 2 gouttes du réactif de Burchard sur la solution alcoolique a provoqué un précipité ou non de coloration brun-rougeâtre indiquant ainsi la présence ou l'absence d'alcaloïdes.

2-3-4-5- Saponosides

Principe

En solution aqueuse, les saponosides ont un indice de mousse très élevé. Cette propriété a été donc mise à profit dans ce test, par agitation vigoureuse d'un échantillon de volume d'extrait. Après cette agitation, la mousse formée dans l'échantillon doit avoir 1 cm de hauteur au moins, être stable et persistée pendant plusieurs minutes. Cela indique la présence de saponine.

Protocole expérimental

Dans un tube à essai, 10 mL de l'extrait total aqueux. Le tube a été agité pendant 10 secondes puis laissé au repos durant 15 min. Une hauteur de mousse d'environ 3 cm persistante ou non a indiqué la présence de saponosides.

2-3-5- Dosage des composés phénoliques

2-3-5-1- Dosage des phénols totaux

Principe

Les phénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al. 1999**). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange de complexes des acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif qui entraîne la formation d'oxydes de molybdène et de tungstène de couleur bleu absorbant à 745 nm.

Protocole expérimental

Un (1) mL d'extrait méthanolique a été introduit dans un tube à essai. Au contenu du tube, a été ajouté 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. Le tube a été laissé au repos pendant 3 min puis 1 mL de solution de carbonate de sodium à 20 % (p/v) a été ajouté. Le contenu du tube a été complété avec 7 mL d'eau distillée. Le tube a été placé à l'obscurité pendant 30 min et la lecture de la densité optique (DO) a été effectuée à 745 nm contre un blanc. Une gamme étalon établie à partir d'une solution mère d'acide gallique (1 mg/mL) dans les mêmes conditions que l'essai a permis de déterminer la quantité de phénols de l'échantillon.

2-3-5-2- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué suivant la méthode décrite par **Meda et al. (2005)**.

Principe

Les flavonoïdes réagissent avec le chlorure d'aluminium en présence d'acétate de potassium

pour donner un complexe de couleur jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans le milieu.

Protocole expérimental

Un volume de 0,5 mL d'extrait méthanolique a été introduit dans un tube à essai. Au contenu du tube ont été ajoutés successivement 0,5 mL d'eau distillée, 0,5 mL de chlorure d'aluminium, 0,5 mL d'acétate de potassium et 2 mL d'eau distillée. Le tube a été laissé au repos pendant 30 min à l'obscurité et la densité optique (DO) a été lue à 415 nm contre un blanc. Une gamme d'étalon établie à partir d'une solution mère de quercétine (0,1 mg/mL) dans les mêmes conditions que l'essai a permis de déterminer la quantité de flavonoïdes de l'échantillon.

2-3-6- Evaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro*

2-3-6-1- Mesure de l'activité antiradicalaire

Le protocole décrit par **Mansouri *et al.* (2005)** a été utilisé pour évaluer l'activité antiradicalaire. Celle-ci a été mesurée par la dégradation du DPPH : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle, qui est un radical synthétique présentant une intense coloration violette. Le test au DPPH permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante).

Principe

Le test au DPPH permet de mesurer la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. La couche électronique de ce radical est saturée au contact d'antioxydants. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait de la plante à piéger ce radical, qu'on peut détecter par un spectrophotomètre-UV. La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515-517 nm (λ_{\max} DPPH°). La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant.

Protocole expérimental

Un millilitre (1 mL ou 1000 μ L) de chacune des solutions d'extraits préparés à différentes concentrations (prises séparément) a été ajouté à 2000 μ L DPPH (0.004 % préparée dans du méthanol). Parallèlement, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1000 μ L de méthanol avec 2000 μ L de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'acide ascorbique a été utilisé comme molécule de référence. L'absorbance de cette molécule a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration,

le test a été répété 3 fois. L'activité antiradicalaire a été estimée selon l'équation ci-dessous.

La concentration inhibitrice 50 % (CI₅₀) qui est la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, a été déterminée graphiquement par la régression linéaire.

Le pourcentage d'inhibition a été obtenu selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition (DPPH)} = \frac{[A_0 - A_1]}{A_0} \times 100$$

A₀ = Absorbance du blanc,

A₁ = Absorbance de l'extrait à une concentration donnée

(1)

2-3-6-2- Mesure du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode décrite par **Yildirim et al. (2001)**.

Protocole expérimental

A 1000 µL L des différents extraits de plantes aux différentes concentrations (0,1 à 1 mg/mL), ont été ajoutés 2,5 mL de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 mL de ferricyanure de potassium 1 %. Après 30 min d'incubation au bain-marie à 50 °C puis addition de 2,5 mL d'acide trichloracétique 10 %, le milieu réactionnel a été centrifugé à 3000 trs/min pendant 10 min. A 2,5 mL du surnageant ont été ensuite ajoutés 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de chlorure de fer III à 0,1 %. Après une seconde incubation de 10 min à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc. Le Fe²⁺ peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur verte dans le milieu réactionnel à 700 nm. Le BHT à différentes concentrations (0,1 à 1 mg/mL) a été utilisé comme étalon.

2-3-7- Etude de la toxicité

La toxicité se définit comme l'ensemble des effets néfastes qui peuvent être des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, provoquées par une substance introduite à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées (**Hodgson, 2004**).

2-3-7-1- Evaluation de la toxicité aiguë des trois recettes

Principe

Avec un processus séquentiel utilisant un nombre minimum d'animaux par étapes, des informations suffisantes sur la toxicité aiguë de la substance peuvent être obtenues pour permettre sa classification. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée dans un processus séquentiel dans lequel trois animaux d'un seul

sexe préférentiellement de sexe femelle sont utilisés à chaque étape. Après 48 heures d'observation, l'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est-à-dire :

- 1) arrêt de l'essai,
- 2) administration de la même dose à trois animaux supplémentaire,
- 3) administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires (OCDE, 2001).

Protocole expérimental

Des rats femelles nullipares et non gestantes ont été utilisés pour mener l'expérience. Elles étaient âgées de 8 semaines environ. Elles ont été marquées avec un marqueur pour permettre leur identification. Après une semaine d'acclimatation, les rattes ont été mises à jeun pendant 16 h, mais recevant de l'eau (OCDE, 2001). Treize (13) lots de trois rates chacune ont été formé.

Les extraits ont été dissous dans de l'eau distillée puis administrés à dose unique aux rates par gavage avec un volume relatif au poids corporel des rates. Le lot 1 (témoin) composé de trois (3) rates a reçu 1 mL d'eau distillée pendant toute la durée de l'expérimentation. Les lots 2, 4 et 6 puis 3, 5 et 7 ont reçu l'extrait aqueux des trois recettes aux doses respectives de 300 et 2000 mg/kg de poids corporel (PC). Les doses de 300 et 2000 mg/kg de poids corporel (PC) de l'extrait hydroéthanolique des trois recettes ont été administrés aux animaux des lots 8, 10 et 12 puis 9, 11 et 13 respectivement.

2-3-7-2- Etude de la toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë est due à l'exposition répétée d'une dose de produit, pendant une période de 28 jours par voie orale. Pour évaluer la toxicité subaiguë, la ligne directrice de l'OCDE 408 (2018) a été utilisée.

Protocole

Pour cette expérience, 48 rats dont 24 mâles et 24 femelles de souche Wistar, âgés de 8 à 10 semaines ont été utilisés. Ils ont été choisis au hasard et repartis en 6 lots de 3 rats par sexe. Le poids moyen des mâles varie entre 100 et 112 g et celui des femelles variaient entre 100 et 112 g. Le choix des deux sexes pendant les expériences s'inscrit dans le contexte de l'étude de sorte à apprécier l'effet des extraits sur les animaux de manière générale et de manière spécifique sur chacun des deux sexes.

Un lot témoin constitué de six rats reparti en trois mâles et trois femelles ont reçu de l'eau distillée. Les lots 3, 4 et 5 de rats ont reçu l'extrait aqueux à différentes doses de 200, 400 et 800 mg/kg de poids corporel (PC) et les rats des trois (3) autres lots ont reçu l'extrait hydroéthanolique 70 % à ces mêmes doses.

❖ Méthode d'administration des doses

Le volume administré était de 1 mL /100 g de pc par jour chaque matin pendant les 28 jours de traitement. Chaque trois (3) jours, de nouvelles solutions d'extraits étaient préparées en tenant compte du nouveau poids acquis par animal par lot. Le volume administré a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Volume (mL)} = \frac{\text{Dose} \times \text{Poids}}{\text{Concentration}}$$

Dose : mg/kg
Poids : kg
Concentration : mg/mL

(2)

2-3-7-2-1- Prélèvement de sang et des organes des animaux

❖ Prélèvement de sang

À la fin de la période d'essai, les rats ont été sacrifiés par décapitation et des prélèvements sanguins ont été effectués dans les tubes EDTA et des tubes secs pour le dosage des paramètres hématologiques et biochimiques. Les organes tels que le foie, les poumons, le cœur, les reins et la rate ont été prélevés, pesés immédiatement et immergés dans un fixateur (Formol 10 % + NaCl 0,9 %) pour les coupes histologiques.

❖ Détermination de l'évolution de la masse des animaux

Au cours de l'étude de la toxicité, les animaux ont été pesés tous les deux jours en vue de déterminer l'effet des extraits sur l'évolution du poids corporel. La variation du poids des animaux a été calculée selon la formule ci-dessous :

$$\text{Variation du poids (\%)} = \frac{\text{Poids final} - \text{Poids initial}}{\text{Poids initial}} \times 100$$

(3)

❖ Effet des extraits sur la masse des organes

L'expression du gain ou de la perte du poids des organes prélevés après le sacrifice a été déterminée selon la formule :

$$\text{Poids relatif (g/100 de pc)} = \frac{\text{Poids de l'organe}}{\text{Poids corporel}} \times 100$$

(4)

Ainsi, le poids des organes des animaux traités a été comparé à celui des animaux témoins.

2-3-7-2-2- Méthodes de dosage des marqueurs hématologiques et biochimiques

Le dosage des paramètres hématologiques a été effectué à l'aide du Sysmex XN-1000i (**Annexe 3**). Ces marqueurs hématologiques étaient : le nombre des globules rouges (GR), le nombre de globules blancs (GB), le taux d'hémoglobine (Hb), le taux d'hématocrite (Hte), le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), le nombre de plaquettes (PLT) et le taux de lymphocytes (LYM).

Le dosage des marqueurs biochimiques tels que la créatinine, l'urée, l'Alanine aminotransferase (ALAT), l'Aspartate aminotransferase (ASAT), le calcium, le phosphore, le magnésium, le triglycéride, le HDL- cholestérol et le cholestérol totale a été effectué sur le Cobas C311 Hitachi (**Annexe 3**) selon différents principes et méthodes mentionnés dans les notices qui accompagnent les kits.

2-3-7-2-2-1- Dosage des paramètres hématologiques

Le sang total prélevé dans les tubes EDTA a été utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques. Ces marqueurs hématologiques ont été déterminés automatiquement grâce à la technologie combinant la variation d'indépendance et la cytométrie de flux (**Ormerod *et al.*, 1993**).

Principe du Sysmex XN-1000i Kobe

Le système hématologique automatisé XN-1000i de Sysmex utilise la puissance des technologies de la cytométrie de flux fluorescente et de la focalisation hydrodynamique. Grâce à une table de travail de laser à photodiode, la cytométrie de flux fluorescente de Sysmex offre la sensibilité nécessaire pour mesurer et différencier les types de cellules présentes dans le sang.

2-3-7-2-2-2- Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé à l'aide des kits prêts à l'emploi et d'un automate. Le sérum obtenu a été prélevé pour le dosage de ces paramètres biochimiques à l'aide de l'analyseur Cobas C311 Hitachi de Roche diagnostic. Le sérum obtenu après centrifugation des tubes secs, a été utilisé pour déterminer ces paramètres.

Principe du Cobas C311 Hitachi

Le Cobas C311 est un analyseur de biochimie clinique entièrement automatisé. Le principe du Cobas C311 est basé sur la réalisation des dosages manuels dans un circuit complètement fermé sans intervention humaine. Son utilisation est prévue pour la détermination qualitative et quantitative d'une vaste gamme d'analyses biochimiques dans différents liquides corporels.

Protocole expérimental

Le dosage des paramètres biochimiques a été effectué selon différentes méthodes après la calibration et le contrôle qualité des kits. L'analyse quantitative des paramètres biochimiques a été réalisée à partir de 500 µL de sérum après la calibration des kits et la validation des résultats du contrôle qualité. Les résultats sont obtenus directement en concentration après conversion des absorbances à partir des équations des droites d'étalonnage incorporées dans l'automate.

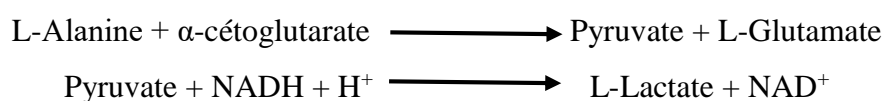
2-2-7-2-2-2-1- Dosage des marqueurs sériques du foie

❖ Dosage de l'activité de l'Alanine Aminotransférase

L'Alanine aminotransférase (ALAT) ou Transaminase Glutamo Pyruvique (TGP) est une enzyme cytoplasmique présente essentiellement dans le foie, mais aussi dans le cœur et le rein. Elle a été dosée selon la méthode de **Bergmeyer et Horder (1980)** et suivant les recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (FICC).

Principe

L'Alanine Aminotransférase (ALAT) catalyse le transfert du groupement amine de l'alanine sur l' α -cétoglutarate pour former du pyruvate et du L-glutamate. Le pyruvate est converti en lactate par le lactate déshydrogénase suivant l'équation :



La quantité de réduction du NADH est proportionnelle à la quantité de pyruvate formé dans le milieu réactionnel donc de l'activité de l'enzyme. Cette activité est déterminée par la mesure de l'absorbance à 340 nm contre un témoin.

Protocole expérimental

Dans un volume de 0,5 mL de milieu réactionnel préchauffé (2 à 3 min à 37 °C) contenant du tampon Tris HCl à pH7,8 (100 mM), du L-alanine (500 mM), de l' α -cétoglutarate (15 mM), du NADH (0,1 mM), du LDH (≥ 1428 U/l), et de l'azide de sodium (0,9%) est ajouté un volume de 0,05 mL de produit à doser (contrôle ou échantillon). Après agitation, les densités optiques qui sont mesurées quatre fois toutes les minutes au spectrophotomètre à une longueur d'onde λ égale à 340 nm, ont permis de déterminer l'activité enzymatique sérique.

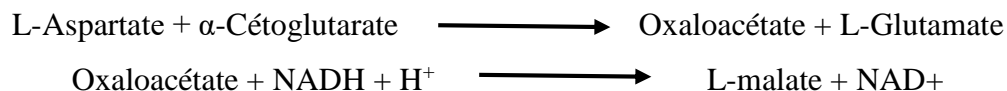
❖ Dosage de l'activité de l'Aspartate Aminotransférase

L'Aspartate Aminotransférase (ASAT) ou Transaminase glutamo-oxaloacétique (TGO) est une enzyme cytoplasmique et mitochondriale (PM= 90000 g/mol), présente majoritairement dans le cœur, mais aussi dans le foie, les muscles, les reins, le pancréas, la rate, les poumons, les globules rouges et le cerveau. Elle a été dosée selon la méthode de **Karmen (1955)** et selon les recommandations de la

Fédération Internationale de Chimie Clinique (FICC).

Principe

L'ASAT transfère son groupement aminé sur l'atome de carbone de l' α -cétoglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate. L'oxaloacétate est ensuite réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) en présence de NADH réduit qui s'oxyde en NAD^+ . La quantité NADH est proportionnelle à l'intensité d'oxaloacétate présent dans le sérum donc à l'intensité de l'activité de l'ASAT. Cette activité catalytique est obtenue par la détermination à 340 nm de la disparition du NADH. Soit la réaction suivante :



MDH= Malate déshydrogénase

Protocole expérimental

Dans un volume de 0,5 mL de milieu réactionnel préchauffé (2 à 3 min. à 37 °C) contenant le tampon Tris HCl à pH 7,8, le L-aspartate (240 mM), l' α ceto glutarate (12 mM), le NADH (0,18 mM), le MDH (≥ 500 U/l), le LDH (≥ 1200 U/l) et l'azide de sodium à 0,9 %, a été ajouté un volume de 0,05 mL de produit à doser (contrôle ou échantillons). Après agitation, les densités optiques qui ont été mesurées quatre fois toutes les minutes au spectrophotomètre à une longueur d'onde λ égale à 340 nm, ont permis de déterminer l'activité enzymatique sérique.

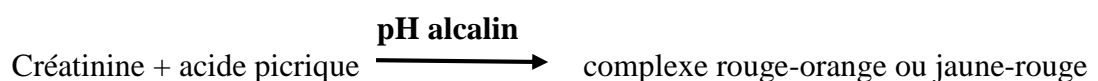
2-2-7-2-2-2-2- Dosage des marqueurs sériques des reins

❖ Dosage de la créatinine

La créatinine est formée à partir du métabolisme du phosphate de créatinine (créatine) qui est un composé riche en énergie utilisée par le muscle squelettique (**Stevens et Levey, 2005**). Elle est sécrétée par les cellules tubulaires proximales et filtrée par le glomérule (**Stevens et al., 2006**). La concentration de créatinine dans l'urine et le sérum peut être utilisée pour surveiller la clairance de la créatinine du corps qui est un indicateur de taux de filtration glomérulaire (**Stevens et Levey, 2005**).

Principe

Dans une solution alcaline, la créatinine réagit avec le picrate pour former un complexe jaune-rouge dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon. Les échantillons de sérum et de plasma contiennent des protéines qui réagissent de manière non spécifique dans la réaction de Jaffé. Ainsi, pour que des résultats corrects soient obtenus, une correction est effectuée automatiquement par l'analyseur par soustraction automatique de 18 $\mu\text{mol/L}$ (0,2 mg/dL) sur les valeurs obtenues.



Protocole expérimental

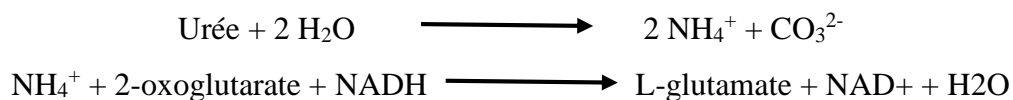
A 10 μL de sérum dilué dans 20 μL d'eau déionisée, ont été ajoutés 13 μL de tampon alcalin (R1) dilué dans 71 μL d'eau déionisée et 13 μL d'acide picrique également dilué dans 20 μL d'eau déionisée. L'absorbance de la coloration jaune-rouge a été lue au spectrophotomètre à 520 nm selon la méthode de **Jaffe (1886)** décrite par **Ng et Blass (1986)**.

❖ Dosage de l'urée

L'urée est le déchet principal du catabolisme des protéines. Elle est produite dans le foie à partir de l'ammoniac qui est formé à la suite de la désamination des acides aminés (**Nelson et Cox, 2005**). L'urée est dissoute dans le sang et est principalement excrétée par les tubules rénaux et un peu dans la sueur. Le dosage de l'urée sérique dont les valeurs de référence sont comprises entre 0,10 et 0,50 g/L, est habituellement effectué pour évaluer le fonctionnement des reins, le contrôle de la progression et le traitement de la maladie du rein (**Aliu et al., 2016**).

Principe.

La méthode cinétique de l'uréase est utilisée pour le dosage de l'urée (**Talke et Schubert, 1965**). En présence de l'uréase, l'urée est hydroxylée en carbonate et ammoniac. Ce dernier réagit avec le 2-oxoglutarate en présence du glutamate déshydrogénase (GLDH) et le coenzyme NADH pour former le L-glutamate comme suit:



La baisse du NADH est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon. Cette dernière est mesurée à la longueur d'onde de 340 nm.

Protocole expérimental

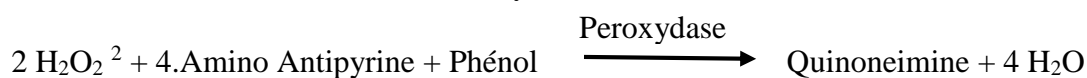
0,5 mL de réactif A contenant du salicylate de sodium (62 mmol/L), du nitroprussiate de sodium (3,4 mmol/L), du tampon phosphate Ph 6, 9 (20 mmol/L) et de l'uréase (>500 UI/mL), additionnée de 0,5 mL de réactif B contenant de l'hydrochlorite de sodium (7 mmol/L) et de l'hydroxyde de sodium (150 mmol/L) ont été mélangés pour constituer le milieu réactionnel (1 mL). A ce milieu, a été ajouté 0,01 mL de produit à doser (étalon ou échantillons). Après agitation automatique et incubation à température ambiante (16 à 25°C) pendant 10 min, la densité optique a été lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde λ égale à 500 nm en comparaison avec le blanc réactif.

2-2-7-2-2-3- Bilan lipidique et glycémie

❖ Dosage du cholestérol total

Principe

Le cholestérol libre ainsi que le cholestérol estérifié présents dans un échantillon, donnent selon **Mehdioui *et al.* (2009)**, sous l'action de la cholestérol-estérase (CE), les esters du cholestérol scindés en cholestérol libre et en acides gras. Dans une réaction ultérieure catalysée par la cholestérol-oxydase, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en cholest-4-ène-3-one avec formation d'eau oxygénée. L'eau oxygénée formée réagit avec le phénol et l' amino-4- phénazone en présence de peroxydase pour donner un dérivé coloré rouge (quinone-imine) dont l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de cholestérol.



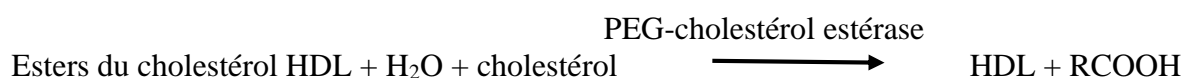
Protocole expérimental

A un volume de 1 mL du milieu réactionnel contenant du PIPES (acide pipérazine-1,4bis (éthane-2 sulfonique)) à 35 mmol/L, du cholâtes de sodium (0,5 mmol/L), du phénol (>28 mmol/L), de la cholestérol-estérase (>0,2 UI/mL), de la cholestérol-oxydase (> 0,1 UI/mL), de la peroxydase (> 0,8 UI/L), la 4-Amino antipyrine (0,5 mmol/L), avec un pH 7,0, un volume de 0,01 mL de produit à doser (étalon ou échantillons) a été ajouté à l'ensemble de la préparation. Après agitation automatique et incubation à température ambiante (16 à 25°C) pendant 10 min, la densité optique a été lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde λ égale à 500 nm en comparaison avec le blanc réactif.

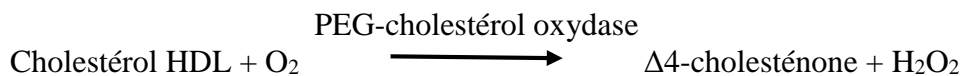
❖ HDL-Cholestérol

Principe de dosage

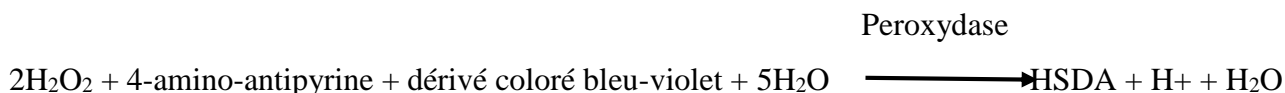
En présence d'ions magnésium, le sulfate de dextran forme de manière sélective des complexes hydrosolubles avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons ; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par le PEG. La concentration en HDL-cholestérol est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol estérase et de cholestérol oxydase modifiées par du PEG (40 % environ des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du PEG). Sous l'action du cholestérol estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acides gras.



Dans une seconde réaction catalysée par le cholestérol oxydase modifiée par le PEG, le cholestérol est transformé, en présence d'oxygène, en α -4-cholesténone avec formation d'eau oxygénée.



En présence de peroxydase, l'eau oxygénée formée réagit avec la 4-amino-antipyrine et le sodium N-(hydroxy-2 sulfo-3 propyl) diméthoxy-3,5-aniline (HSDA) avec formation d'un dérivé coloré bleu-viole.



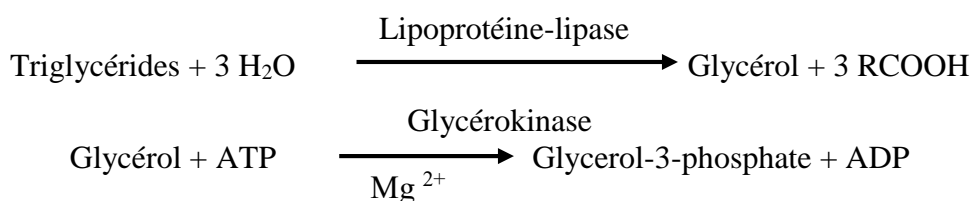
- Méthode du dosage

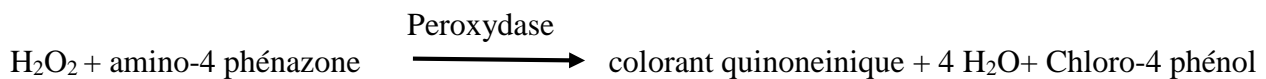
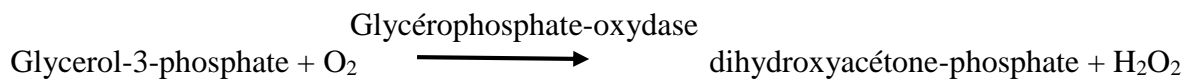
A 2,5 μL de sérum humain ont été ajoutés 150 μL de R1 (Tampon HEPES, 10,07 mmol/L; CHES 96,95 mmol/L, pH 7,4; sulfate de dextran 1,5 g/L; nitrate de magnésium hexahydrate 11,7 mmol/L; HSDA, 0,96 mmol/L; ascorbate-oxydase (d'Eupenicillium, recombinante), 50 $\mu\text{kat/L}$ peroxydase (de raifort) 167 $\mu\text{kat/L}$) puis 50 μL de R2 (Tampon HEPES: 10,07 mmol/L, pH 7,0; PEG-cholestérol estérase (de Pseudomonas), 3,33 $\mu\text{kat/L}$; PEG-cholestérol oxydase (de Streptomyces recombinante), 127 $\mu\text{kat/L}$; peroxydase (de raifort), 333 $\mu\text{kat/L}$ et 4-aminoantipyrine, 2,46 mmol/L) pour donner un dérivé coloré bleu-violet. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol et mesurée par photométrie à 505 nm selon les méthodes de **Sugiuchi *et al.* (1995)**, **Matsuzaki *et al.* (1996)**.

❖ Triglycérides

Principe du dosage

Le test des triglycérides est une méthode enzymatique. Les triglycérides sont hydrolysés par la lipoprotéine-lipase (LPL) en glycérol et en acides gras. Le glycérol est alors phosphorylé en glycérol-3-phosphate par l'ATP lors d'une réaction catalysée par la glycérolkinase. L'oxydation du glycérol-3-phosphate est catalysée par la glycérol-phosphateoxydase pour former du dihydroxyacétone-phosphate et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence de peroxydase (POD), le peroxyde d'hydrogène formé entraîne le couplage oxydatif du 4-chlorophénol et de la 4-aminophénazol pour former un colorant quinoneinique rouge dont l'intensité est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides.





Protocole expérimental

A 2 µL de sérum ont été ajouté un mélange de 148 µL de milieu réactionnel contenant 120 µL de R et 28 µL d'eau déionisée. Le reactif R est constitué à partir de tampon PIPES, 50 mmol/L à pH 6,8; Mg²⁺, 40 mmol/L; cholate de sodium, 0,20 mmol/L; ATP, 1,4 mmol/L; amino-4-phénazone, 0,13 mmol/L; chloro-4-phénol, 4,7 mmol/L; lipoprotéine-lipase (*Pseudomonas*), 83 µkat/L; glycérokinase (*Bacillus stearothermophilus*), 3 µkat/L; glycérophosphateoxydase (*E. coli*), 41 µkat/L; peroxydase (raifort), 1,6 µkat/L. L'intensité de la coloration rouge est proportionnelle à la concentration en triglycérides et mesurée au photomètre à 512 nm (Fossati et Principe, 1982 ; McGowan *et al.*, 1983). A partir de ces différents paramètres lipidiques, les valeurs du LDL-Cholestérol et du VLDL-Cholestérol ont été déterminées par la formule de Friedewald *et al.* (1972).

$$\text{VLDL (g/L)} = \text{Triglycérides}/5$$

$$\text{LDL (g/L)} = \text{Cholestérol Total} - \text{HDL} - \text{VLDL}$$

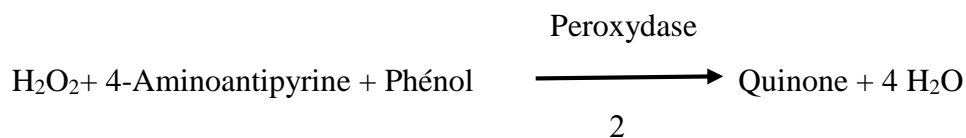
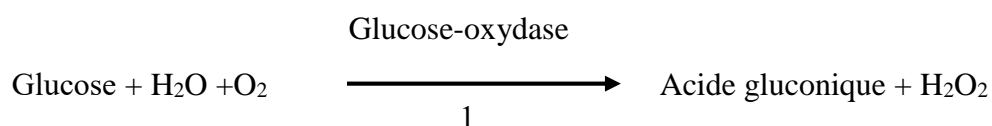
Cette formule est valable à condition que la concentration des Triglycérides soit ≤ 4 g/L.

❖ Dosage de la glycémie

Le glucose présent dans le sérum est déterminé selon la méthode au glucose oxydase.

Principe

La détermination du glucose par la méthode enzymatique au glucose oxydase se fait selon les réactions suivantes :



Cette méthode est plus sensible et plus spécifique que la technique à l'orthotoluidine

- Méthode du dosage

Dans une série de trois tubes (blanc, calibreur et échantillon) contenant 1mL de la solution enzymatique de glucose ont été ajoutés 10 µL d'eau distillée, 10 µL du calibreur et 10 µL du sérum à tester. Le mélange est incubé à 37 °C pendant 10 min. La densité optique est mesurée à 500 nm contre le blanc composé de la solution enzymatique.

2-2-7-2-3- Étude histopathologique

La technique d'histologie a permis d'obtenir des coupes minces des différents organes suivants : le foie, le cœur et les reins. Cette technique comprend plusieurs étapes principales successives, à savoir : la fixation, l'inclusion, la coloration et le montage (**Zougrou *et al.*, 2019**).

2-2-7-2-3-1- Fixation des organes

Le but de la fixation des organes est de maintenir les cellules dans un état proche de l'état vivant. La fixation entraîne un durcissement de l'organe ce qui permet de maintenir les diverses formations tissulaires en place, ainsi les cellules sont protégées contre les attaques bactériennes, les distorsions et les rétractions. Les organes ont été immergés après les prélèvements dans le formol à 10 % + NaCl 9 ‰, pendant 48 heures à température ambiante.

2-2-7-2-3-2- Déshydratation et imprégnation

➤ Déshydratation des organes

Des morceaux de chaque organe ont été placés individuellement dans des cassettes étiquetées puis déshydratées par un passage successif dans des bains d'alcool de degré croissant (80° en 1 heure, 90° en 2 heures et deux bains de 100 °C en deux heures chacun).

➤ Eclaircissement

Après la déshydratation, les cassettes contenant les morceaux des organes ont séjourné dans trois bains de toluène d'une durée de 2 heures chacun. Cette opération permet d'éliminer les traces de l'éthanol et de préparer les organes à l'imprégnation.

2-2-7-2-3-3- Imprégnation

Cette étape a été faite dans 2 bains successifs de paraffine à l'étuve dont la température était de 70±2 °C. Les cassettes ont séjourné pendant 2 heures dans le premier bain et 3 heures dans le deuxième bain.

2-2-7-2-3-4- Inclusion à la paraffine

L'inclusion des organes à la paraffine a été faite à la température ambiante dans des moules. En effet, les cassettes ont été ouvertes par détachement de la fermeture. Les morceaux des organes ont été enlevés et placés dans le moule. Le moule a été ensuite recouvert par la cassette à l'intérieur de laquelle la paraffine liquide a été coulée jusqu'à remplissage. Après refroidissement, le démoulage a donné un bloc de paraffine solide dans lequel l'organe a été fixé au dos de la cassette.

2-2-7-2-3-5- Coupe des blocs

Les coupes ont été faites au microtome de marque LEICA modèle (RM2125 TRS). Après le dégrossissement, les blocs ont été placés en -4 °C au congélateur. Ensuite, les coupes proprement dites ont été réalisées à 5 µm. Ceci a permis d'obtenir des rubans de paraffines contenant des coupes d'organes.

2-2-7-2-3-6- Montage et déparaffinage des coupes

Les rubans ainsi formés ont été déposés dans un bain-marie de température 40 °C puis montés sur les lames porte-objet. Les lames ont été placées à l'étuve dont la température était 60 °C pendant 30 min pour être déparaffinées.

2-2-7-2-3-7- Coloration des coupes

La technique de coloration standard, à savoir hématoxyline-éosine a été utilisée. Dans cette technique deux types de colorant ont été utilisés : l'hématoxyline de Harris modifié, ce colorant colore le noyau des cellules nucléaire et la solution alcoolique d'éosine jaunâtre à 3%, elle colore le cytoplasme. La coloration des coupes a été faite en trois phases.

➤ Déparaffinage des coupes

Les coupes d'organes ont été déparaffinées à nouveau dans trois bains successifs de toluène en 15 min chacun.

➤ Réhydratation

La réhydratation a été faite dans trois bains successifs d'alcool à degré décroissant (100°, 90° et 80°) pendant 5 min chacun. Ensuite, les coupes ont été rincées à l'eau distillée.

➤ Coloration proprement dite

Après rinçage, les coupes ont été colorées dans une solution d'hématoxyline de Harris modifié pendant 5 min, puis rincées à l'eau de robinet, et plongées dans la solution d'éosine pendant 3 min. Après coloration, les coupes ont été déshydratées dans trois bains successifs d'alcool à degré croissant (80°, 90° et 100°) pendant 1 min 30 s, dont 30 s par bain.

2-2-7-2-3-8- Montage

Les lames colorées ont été protégées pour rendre possible leur examen microscopique et leur conservation sans risque d'altération. Dans ce but, les lames ont été recouvertes par des lamelles couvre-objet à l'aide d'une colle EUKITT. L'analyse des coupes a été faite à l'aide d'un microscope

électronique tri-oculaire connecté à un ordinateur. La prise d'image et l'analyse des images ont été faites grâce au logiciel Videomet version 8.0.9 (France).

2-2-8- Tests biologiques *in vitro* et *in vivo*

Ces tests ont été réalisés sur des globules rouges falciformes prélevés sur des patients portant l'hémoglobine SS et sur des rats. Il s'agit d'étudier l'effet des extraits sur l'inhibition de la falciformation des globules rouges SS ; sur la fragilité osmotique érythrocytaire, sur l'anémie, sur la douleur et sur l'inflammation.

2-2-8-1- Test antifalcémiant

La méthode est celle d'**Emmel, (1933)** selon un protocole décrit par **Imaga *et al.* (2009)**. Cette méthode met en évidence l'inhibition de la falciformation. Elle a permis d'évaluer l'activité anti-drépanocytaire des extraits de plantes.

2-2-8-1-1- Lavage de l'échantillon de sang

L'échantillon de sang de génotype HbS a été centrifugé pendant 5 min à 1500 tr/min. Le surnageant a été retiré à l'aide d'une pipette Pasteur, les globules rouges ont été suspendus dans une solution saline à NaCl 0,9 %.

2-2-8-1-2- Evaluation de la falciformation

Ensuite, 50 µL de cette solution de globules rouges ont été mélangés à 50 µL d'une solution de méta bisulfite de sodium à 2 % et à 50 µL d'extrait de plante, aux concentrations de 5 et 10 mg/mL. Chaque expérience a été réalisée en triple. La phénylalanine (5 et 10 mg/mL) a été utilisée comme référence.

2-2-8-1-3- Observation au microscope à immersion

L'analyse morphologique des érythrocytes a été réalisée à l'aide d'un microscope à immersion, 30 min après l'addition des extraits de plante au mélange de globule rouge-métabisulfite jusqu'à 120 min. L'observation d'une goutte de chaque mélange, entre lame et lamelle, à l'aide du microscope SQA-Vision a été faite. Elle a permis de déterminer le taux de drépanocytes et de cellules normales dans chaque champ. Cette activité a été déterminée par la formule suivante :

$$\boxed{AA = \frac{P0 - P1}{P0} \times 100} \quad (5)$$

AA : Activité Antifalcémiante ;

Po : Taux d'érythrocytes falciformes chez le témoin négatif ;

P1 : Taux d'érythrocyte falciformes en présence d'extraits végétaux ou de la phénylalanine.

2-2-8-2- Test de fragilité de la membrane érythrocytaire et de stabilité membranaire

Cette méthode vient du protocole élaboré par **Parpart *et al.* (1947)** et modifié par **Elekwa *et al.* (2005)**. Elle a permis de déterminer l'activité des extraits de plante sur la membrane des érythrocytes.

2-2-8-2-1- Préparation de solution de NaCl

Une série de neuf solutions a été préparée à partir de 100 g/L de NaCl en présence d'une solution tampon à pH 7,4 (150 mM de phosphate). Les dilutions ont été réalisées pour obtenir des concentrations équivalentes à 9,0 ; 7,0 ; 6,0 ; 5,5 ; 5,0 ; 4,0 ; 3,0 ; 2,0 et 1,0 g/L de NaCl avec un volume final de 50 mL.

2-2-8-2-2- Préparation des contrôles

Un volume de 0,05 mL d'échantillon de sang a été ajouté à 5 mL de chacune des 9 solutions de NaCl préalablement préparées. Chaque tube a été immédiatement secoué plusieurs fois les tubes et ceux-ci ont été mis au repos pendant 30 min à la température ambiante. Au terme de ce temps, les tubes ont été secoués à nouveau et soumis à centrifugation pendant 5 min à 1500 tr/min. L'absorbance des surnageants de chaque tube a été lue à 540 nm. Le tube de 9,0 g/L de NaCl a été utilisé pour faire la tare ou le blanc de lecture.

2-2-8-2-3- Effet des extraits de plantes sur la membrane

Un volume de 0,5 mL des extraits de plantes aux concentrations de 0,625 et 1,25 mg/mL a été ajouté à 4,5 mL de chacune des neuf solutions de NaCl. Ensuite, un autre volume de 0,05 mL de l'échantillon de sang a été ajouté au mélange. Chaque mélange a été centrifugé et l'absorbance de chaque tube été lue à 540 nm. Un contrôle positif a été effectué avec de la phénylalanine. Le tube de 9,0 g/L de NaCl a été utilisé pour faire le blanc de lecture.

A partir des mesures de la densité optique, le taux d'inhibition de l'hémolyse des différents extraits a été déterminé avec la formule suivante :

$$\text{Taux d'inhibition de l'hémolyse} = \frac{(DO_t - DO_i)}{DO_t} \times 100$$

DO_i : Absorbance de l'extrait de l'échantillon ;

DO_t : Densité optique de la solution témoin.

(6)

2-2-8-3- Détermination de l'activité antianémique

Principe

La méthode utilisée est celle décrite par **Naughton *et al.* (1995)** et **Berger (2007)**. Elle consiste à la vérification d'action inhibitrice des extraits sur l'anémie induite par injection intra péritonéale de 40 mg/kg/j de phénylhydrazine (PHZ) pendant deux jours (J0 et J1). Les animaux traités avec la phénylhydrazine dont la concentration d'hémoglobine était inférieure à 13 g/dL ont été considérés comme anémiques.

Protocole expérimental

Trente-cinq (35) rats de sexe confondu, repartis en sept lots de 5 rats de masse corporelle comprise entre 150-170 g puis âgés de 4 à 5 mois ont été utilisés. Avant induction de l'anémie, le sang des rats des différents lots a été prélevé par incision de la queue (J₀).

L'anémie a été ensuite induite par voie intra péritonéale 40 mg/kg/j de la phénylhydrazine pendant deux jours (J₀ et J₁) chez les rats des lots 2, 3, 4, 5, 6 et 7. Les rats du lot 1 (normaux) ont reçu l'eau distillée.

Avant le traitement des rats par les différents produits (vitamine B12 et extraits) la concentration d'hémoglobine a été déterminée pour ne retenir que ceux qui sont anémiés (concentration d'hémoglobine < 13 g/dL).

Les rats retenus, ont été utilisés pour la suite des travaux. Les rats du lot 2 (anémiés) ont reçu l'eau distillée et les rats du lot 3 ont reçu du sirop vitamine B12. Quant aux rats des lots 4 et 5 ; 6 et 7, ils ont été traités respectivement avec l'extrait aqueux et hydro-éthanolique de ZHm aux doses de 400 mg et 800 mg/Kg de pc.

Méthode d'incision ou amputation de la queue du rat

Une petite portion de la queue du rat anesthésié (moins de 5 mm) a été coupée. Pour faciliter la collecte, préalablement la queue a été plongée dans l'eau tiède pour provoquer une vasodilatation. Ensuite, cette queue a été massée avec douceur de la base vers l'extrémité. Le sang qui s'écoulait, a été directement recueilli dans un tube EDTA. Cette méthode a été rapide et a permis d'obtenir facilement 1 mL de sang en moins d'une minute (**Leonard et Ruben, 1986**).

Les paramètres hématologiques ont été dosés aux jours J7, J14 et J21 chez les sept lots de rats à l'aide d'un compteur automatique des cellules sanguines (Sysmex KX 21). Les rats des sept lots ont été pesés avant tout prélèvement aux jours J0, J2, J7, J14 et J21.

2-2-8-4- Détermination de l'activité analgésique

Principe

La méthode utilisée est celle décrite par **Koster *et al.* (1959)** et modifiée par **Collier *et al.* (1968)**. Elle consiste à la vérification d'action inhibitrice des extraits sur la douleur provoquée chez les rats par injection intrapéritonéale d'une solution diluée d'acide acétique. Les douleurs se

manifestent par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale (spasmes).

Protocole expérimental

L'induction des torsions a été réalisée par injection intrapéritonéale aux rats d'une solution d'acide acétique 0,6 % à raison de 10 ml / kg de poids corporel (Pc).

Huit lots de 5 rats ont été constitués.

le lot 1 ou lot témoin (TM) a reçu de l'eau distillée.

le lot 2 a reçu l'Ibuprofène (10 mg/kg/pc).

les lots 3,4 et 5 ont reçu le décocté de ZHm (DZHm) aux doses 200, 400 et 800 mg/kg/pc.

les lots 6,7 et 8 ont reçu l'extrait hydroéthanolique de ZHm (EZHm) aux doses 200, 400 et 800 mg/kg/pc.

Une heure après l'injection des différentes solutions, l'acide acétique 0,6 % à la dose de 10 mL/kg a été injecté aux rats (**Siegmund et al., 1957**). Cinq minutes (5 min) après l'injection de la solution d'acide acétique, le nombre de torsions abdominales a été observé pendant 20 min. L'activité antalgique qui est le pourcentage de réduction des moyennes de torsions abdominales a été calculée suivant l'équation :

$$PIC(\%) = \frac{M0 - M1}{M0}$$

*PIC : Pourcentage d'inhibition des cotorsions,
M0 : Moyenne des torsions du lot témoin,
M1 : Moyenne des torsions du lot traité.*

(7)

2-2-8-5- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

2-2-8-5-1- Test d'inhibition de l'œdème de la patte du rat à la Carragénine

Principe

Le test de l'activité anti-inflammatoire a été effectué selon la méthode de **Winter et al. (1962)**. L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris ou du rat entraîne l'apparition d'un œdème (signe clinique de l'inflammation) de la région métatarsienne. L'intensité de cet œdème, qui atteint son maximum de développement en 5h, est évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte (par rapport au volume initial). L'administration préventive par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème.

Protocole expérimental

Des rats ayant un poids compris entre 120 g et 150 g ont été mis en jeun pendant 24 h. Ils ont

été repartis dans 9 lots de 6 rats chacun. Le diamètre au temps T_0 de la patte postérieure droite de chaque animal a été déterminé à l'aide d'un pied à coulisse numérique (**Bukhari, 2013**).

Les lots 1 et 2 (rats normaux et rats œdémateux) ont reçu de l'eau distillée. Les rats du lot 3 (référence) ont reçu le Diclofenac de Sodium (5 mg/kg de pc). Les six autres lots ont reçu respectivement le décocté et l'extrait hydroéthnolique aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc.

Une heure après administration par gavage des différents solutions, 0,1 mL de la solution de carragénine à 1 %, a été injectée par voie cutanée au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite de chaque rat des lots 2, 3, 4, 5, 6,7, 8 et 9. L'évolution de l'œdème droite a été déterminée à 1h, 2h, 3h, 4h, 5h et 6h (**Anupana et al., 2012**).

2-2-8-5-2- Test d'inhibition de l'œdème de la patte du rat avec l'Adjuvant Complet de Freund

Principe

Le test de l'activité anti-inflammatoire a été effectué selon la méthode de **Pearson (1956)**. Lors d'une inflammation aiguë ou chronique l'activation des leucocytes, des mastocytes, la libération de cytokines et la production des radicaux libres participent à la déformation du globule rouge et modifie les propriétés rhéologiques du sang.

En effet, l'Adjuvant de Freund permet d'induire l'inflammation chronique (polyarthrite) chez les rats. L'injection de ce produit sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris ou du rat entraîne l'apparition d'un œdème (signe clinique de l'inflammation) de la région métatarsienne. L'administration par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème.

Protocole expérimental

Des rats ayant un poids compris entre 110 et 170 g sans distinction de sexe ont été utilisés pour l'étude. Ces animaux ont été divisés en neuf groupes de six animaux chacun. Hormis le lot (contrôle), chaque lot de rat a reçu par injection intraplantaire 0,4 ml de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA) dans la surface sous-plantaire de la patte arrière gauche. Le Diclofenac de sodium a été utilisé comme molécule de référence. Le Diclofenac de sodium, l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique ont été dissous dans l'eau distillée puis administrés aux rats pendant 20 jours après injection de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA).

- Le groupe I était composé de rats qui n'ont pas été traités. Il a servi de contrôle.
- Le groupe II a servi de contrôle arthritique (contrôle négatif).
- Le groupe III a été traité avec le Diclofenac de sodium un (1) jour après injection de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA) pendant 20 jours.

- Les groupes IV, V et VI ont été traités avec le décocté de ZHm (DZHm) aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc vingt-quatre heures (24 h) après l'injection de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA).
- Les groupes VII, VIII et IX ont été traités avec l'extrait hydroéthanolique de ZHm (EZHm) aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc un (1) jour après l'injection de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA).

Le volume de la patte de tous les animaux a été mesuré avec un pied à coulisse à J₀, J₄, J₈, J₁₂, J₁₆ et J₂₀. L'importance des œdèmes a été appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (% AUG) du volume de la patte de rat suivant la formule :

$$\%AUG = \frac{V1 - V0}{V0} \times 100 \quad (8)$$

V1 : Volume de la patte au temps t
V0 : Volume initial de la patte

L'activité anti-inflammatoire a été aussi évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème selon la formule :

$$\%INH = \frac{\%AUG_{TM} - \%AUG_{TT}}{\%AUG_{TM}} \times 100 \quad (9)$$

%AUG_{TM} : pourcentage augmentation des témoins négatifs
%AUG_{TT} : pourcentage d'augmentation des Traités

La variation du poids corporel et l'œdème des rats ont été observés chaque quatre jour. Le 21^e jour, à la fin de l'expérience, tous les animaux ont été sacrifiés, le sang a été collecté dans les tubes EDTA et dans les tubes citratés pour doser la NFS et le taux de fibrinogène respectivement.

➤ Dosage du fibrinogène

• Principe

Le fibrinogène est la principale protéine plasmatique affectant la vitesse de sédimentation. La concentration plasmatique en fibrinogène est augmentée dans des cas d'inflammation, de nécrose tissulaire, de diabète ou d'obésité. Ce test permet de vérifier si le sang des individus qui effectuent cet examen coagule normalement à partir de la technique de turbo-densitométrie.

- **Protocole du dosage**

Ce dosage s'effectue comme suit :


- ❖ Dans une cuvette ont été ajouté 10 µl du sérum du rat et 90 µl du réactif Buffer puis cette cuvette a été incubée dans une chambre du SYSMEX CA-104 pendant une 1 min.
- ❖ Après 1 min incubation, 50 µl du réactif Thrombine ont été ajouté au milieu réactionnel pour finaliser la réaction.

NB : Le dosage du paramètre (fibrinogène) du patient se fait après le test contrôle de l'appareil d'hémostase. Le contrôle de l'appareil consiste à doser les paramètres du sang CONTROLE-N selon le protocole décrit ci-dessus. Ce test du CONTROLE nous permet de confirmer tous les résultats du jour.

2-3- Analyses statistiques

L'analyse statistique des données et la représentation graphique a été effectuée à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 9.0 (San Diego, Californie, USA). Les valeurs ont été données sous forme de moyennes suivies de l'erreur standard sur la moyenne ($M \pm SEM$). La différence entre deux valeurs a été donnée par le test t de student lequel a été complété par les tests de Dunnet et Turkey comme post tests. Le seuil de significativité est fixé à $P < 0,05$ pour l'expression des résultats. La notation suivante a été utilisée pour toute différence significative :

- non significative (ns) : $p > 0,05$;
- peu significative (*) ou (a) : $p < 0,05$;
- significative (**) ou (aa) : $p < 0,01$;
- très significative (***) ou (aaa) : $p < 0,001$;
- hautement significative (****) ou (aaaa) : $p < 0,0001$.



III- RÉSULTATS ET DISCUSSION

3-1- Résultats

3-1- Etude ethnobotanique

3-1-1- Profil démographique des praticiens de la médecine traditionnelle

Au cours de cette étude ethno-médicale menée dans la région de l'Indénié-Djuablin, dans l'Est de la Côte d'Ivoire, 09 guérisseurs traditionnels ont été interrogés. Originaires de 6 villages, les guérisseurs traditionnels ont collaboré à cette étude en fournissant des informations sur les plantes anti-drépanocytaires qu'ils utilisaient pour soigner les patients.

Parmi les guérisseurs traditionnels, l'on retrouve aussi bien les hommes que les femmes. Mais ce sont les femmes qui ont été les plus représentées (90 %) que les hommes (10 %). La personne la plus âgée parmi ces guérisseurs est une femme d'environ 70 ans et la plus jeune était un homme d'environ 39 ans. Les guérisseurs interrogés qui avaient entre 39 et 50 ans représentaient 44 % et celles qui avaient entre 50 et plus représentent 56 %. Seulement 17 % des personnes interrogées ont été scolarisées. Les 83 % restants n'ont jamais été à l'école (**Tableau II**).

➤ Niveau de connaissances de la maladie

Tous les guérisseurs interrogés ont décrit la drépanocytose avec des symptômes tels que des yeux jaunes, des lèvres sèches, une tête, des jambes ou un corps enflé, des douleurs articulaires, une anémie fréquente et le paludisme, surtout pendant les saisons des pluies. Ils ont également expliqué que la maladie pouvait entraîner un retard de croissance et de maturité.

3-1-2- Caractéristiques ethnobotaniques des plantes étudiées

L'étude a permis d'identifier 26 espèces de plantes utilisées en médecine traditionnelle pour traiter l'anémie falciforme (**Tableau III**). Ces 26 espèces de plantes sont issues de 16 familles et 26 genres, parmi lesquelles sept familles : Apocynaceae, Fabaceae, Rutaceae, Annonaceae, Bignoniaceae, Rubiaceae et Zingiberaceae sont les plus utilisées (**Figure 5**). Les espèces les plus fréquemment mentionnées dans les prescriptions sont *A. melegueta*, *X. aethiopica*, *C. pentandra* et *N. latifolia*.

3-1-3- Types de recettes traditionnelles utilisées dans la gestion de la drépanocytose

Onze (11) recettes ont été composées à partir des 26 espèces de plantes utilisées dans la gestion de la drépanocytose en milieu traditionnel (**Tableau IV**). Parmi ces recettes, 10 sont poly-spécifiques soit 91 %, et une est mono-spécifique soit 9 %.

Tableau II : Informations générales sur les herboristes enquêtés

Paramètres		Pourcentages
Tranches d'âge]39-50 ans]	44 %
]50 ans et plus]	56 %
Niveaux d'étude	Non scolarisés	83 %
	Scolarisées	17 %
Sexe	Masculin	10 %
	Féminin	90 %

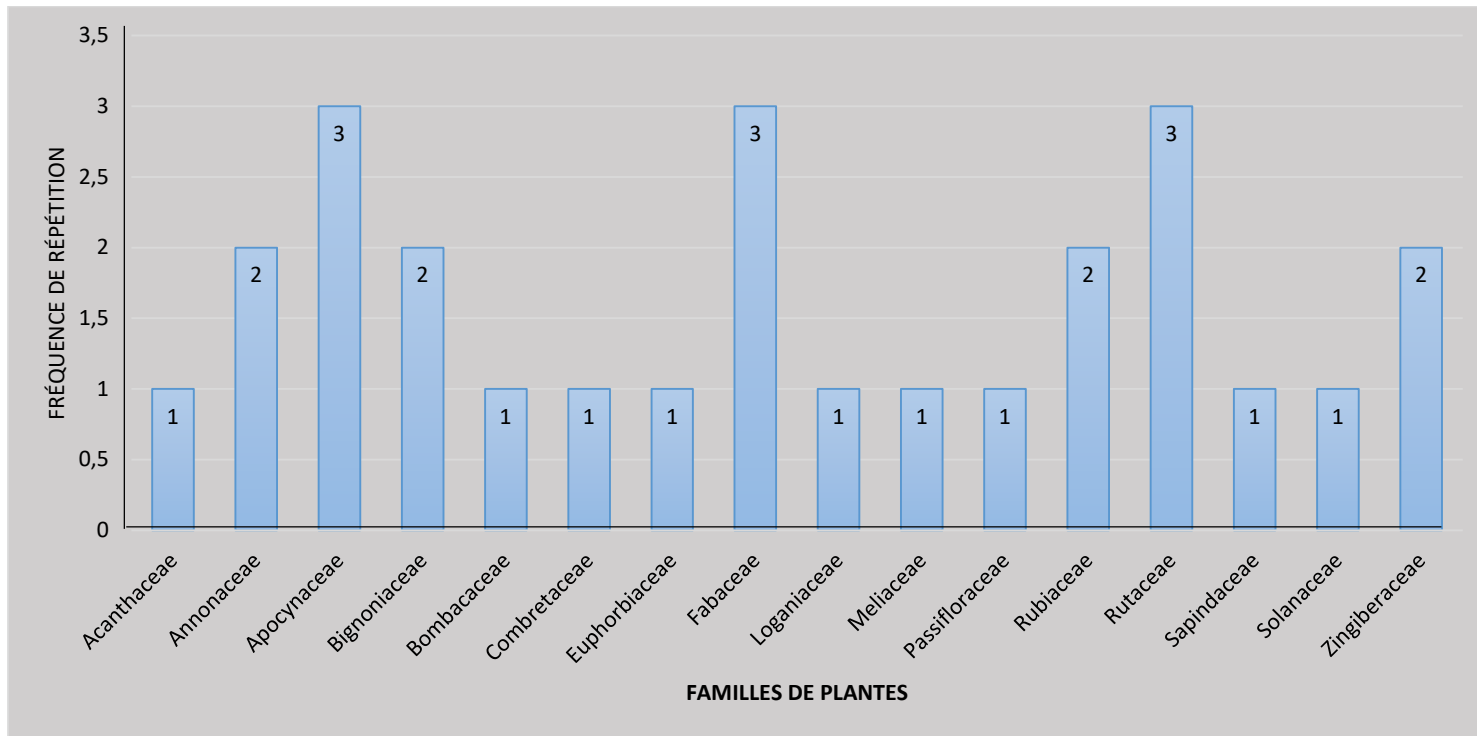


Figure 5 : Nombre d'espèces de plantes recensées par famille botanique

Les chiffres 1, 2 et 3 représentent le nombre de fois qu'une famille de plantes a été citée

Tableau III : Données sur quelques plantes anti-drépanocytaires recensées dans l'Indenié-Djouablin

N°	Noms scientifiques	Familles	Type Morphologiques	Origines	Indications thérapeutiques
1	<i>Adenia lobata</i> (Jacq)	Passifloraceae	Arbre	Sauvage	Malaria ; inflammation ; Infection
2	<i>Afromonum melegueta</i> (K.Schum)	Zingiberaceae	Grains	Sauvage	Infection
3	<i>Alstonia boonei</i> (De Wild)	Apocynaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; hypertension ; Paludisme ; inflammation
4	<i>Annona senegalensis</i> (Pers)	Annonaceae	Arbre	Sauvage	Infection ; anémie ; paludisme ; douleur
5	<i>Anthocleista djalonensis</i> (Afzel)	Loganiaceae	Arbre	Sauvage	Malaria ; inflammation ; Infection
6	<i>Blighia sapida</i> (K.D. Koenig)	Sapindaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; infection ; douleur
7	<i>Casia sieberiana</i> (DC)	Fabaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; infection
8	<i>Ceiba pentandra</i> (L.Gaertn)	Bombacaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; infection ; fièvre typhoïde

Suite du **Tableau III**

N°	Noms scientifiques	Familles	Type Morphologiques	Origines	Indications thérapeutiques
9	<i>Distemonanthus benthamianus</i> (Baill)	Fabaceae	Arbre	Sauvage	Infection sexuelle, anémie ; hypertension
10	<i>Griffonia simplicifolia</i> (DC Baill)	Fabaceae	Arbuste	Cultivée	Toux, anémie, Inflammation
11	<i>Harungara madagascariensis</i> (Lam)	Rutaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; anti-inflammatoire ; infection
12	<i>Holarrhena floribunda</i> (L. Prota)	Apocynaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; inflammation ; infection
13	<i>Jatropha gossypifolia</i> .L	Euphorbiaceae	Arbuste	Cultivée	Paludisme ; anémie ; cicatrices d'infection
14	<i>Justicia secunda</i> (Vahl)	Acanthaceae	Arbuste	Sauvage	Anémie ; hypertension
15	<i>Khaya senegalensis</i> (Desr A. Juss)	Meliaceae	Arbre	Sauvage	Infection cutanée ; Anémie ; Paludisme ; Infection
16	<i>Kigelia africana</i> (Prota)	Bignoniaceae	Arbre	Sauvage	Infection à l'accouchement ; faiblesse sexuelle ; régulateur des hormones sexuelles
17	<i>Morinda lucida</i> L.	Rubiaceae	Arbuste	Sauvage	Paludisme ; anémie ; traitement microbien, infertilité féminine
18	<i>Nauclea latifolia</i> L.	Rubiaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; infection ; inflammation

Suite du **Tableau III**

N°	Noms scientifiques	Familles	Types Morphologique	Origines	Indications thérapeutiques
19	<i>Parquetina nigrescens</i> (Alzel)	Apocynaceae	Liane	Sauvage	Paludisme ; anémie ; douleur oculaire ; douleur rénale ; accouchement
20	<i>Solanum torvum</i> Sw.	Solanaceae	Arbuste	Sauvage	Anémie ; Infection
21	<i>Spathodea campanulata</i> (P.Beauv)	Bignoniaceae	Arbre	Sauvage	Infection à l'accouchement ; faiblesse sexuelle ; paludisme ; prévention des maladies
22	<i>Terminalia catappa</i> L.	Combretaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; Infection ; Douleur
23	<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich	Annonaceae	Arbuste	Cultivée	Infection
24	<i>Zanthoxylum gillettii</i> (De Wild)	Rutaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; infection, hypertension ; faiblesse sexuelle, inflammation ;
25	<i>Zanthoxylum leprieurii</i> (GUILL)	Rutaceae	Arbre	Sauvage	Anémie ; paludisme ; infection ; hypertension ; faiblesse sexuelle, inflammation
26	<i>Zingiber officinale</i> (Rosc)	Zingiberaceae	Herbe	Cultivée	Toux, Infection

Tableau IV : Caractéristiques des différentes recettes de plantes et leurs modes d'emploi dans le traitement de la drépanocytose

Recettes	Noms scientifiques	Familles	Noms locaux	Organes utilisés	Mode d'emploi	Mode d'administration et fréquence d'utilisation
1	<i>Parquetina nigrescens</i>	Periplocaceae	Ababagnan (Agni)	Feuilles + tige	Décoction	Oral Boire trois verres par jour jusqu'à la guérison
	<i>Justicia secunda</i>	Acanthaceae	Modja waka (Baoulé)	Feuilles + tige + fleur		
	<i>Jatropha gossypifolia</i>	Euphorbiaceae	Apploplo gna (Agni)	Feuilles + tige + fleur		
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
2	<i>Kigelia africana</i>	Bignoniaceae	Singian (Malinké)	Ecorces de tige	Décoction	Orale + purge jusqu'à la guérison
	<i>Harungara madagascariensis</i>	Hypericaceae	Soulgalani brou (Malinké)	Feuilles		
	<i>Zanthoxylum leprieurii</i>	Rutaceae	Bakélé (Baoulé)	Ecorces de tige		
	<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Essidian (Agni)	Fruits		
3	<i>Alstonia boanei</i>	Apocynaceae	Emien (Agni)	Ecorces de tige	Décoction	Orale + purge Boire deux verres par jour jusqu'à la guérison
	<i>Ceiba pentandra</i>	Bonbacaceae	Bana-yiri (Malinké)	Ecorces de tige		
	<i>Holarrhena floribunda</i>	Apocynaceae	Sèbè (Malinké)	Ecorces de racine		
	<i>Nauclea latifolia</i>	Rubiaceae	Bati (Malinké)	Ecorces de racine		
	<i>Zanthoxylum gillettii</i>	Rutaceae	Wô (Malinké)	Ecorces de tige		
	<i>Anthocleista djalonensis</i>	Loganiaceae	Anoubé (Akyé)	Ecorces de tige		
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
	<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Essidian (Agni)	Fruits		

Suite du **Tableau IV**

Recettes	Noms scientifiques	Familles	Noms locaux	Organes utilisés	Mode d'emploi	Mode d'administration et fréquence d'utilisation
4	<i>Spathodea campanulata</i>	Bignoniaceae	Assrele	Ecorces de tige	Décoction	Orale + purge Boire deux verres par jour pendant 1 semaine
	<i>Blighia sapida</i>	Sapindaceae	Kaha yafoufené (Akyé)	Ecorces de tige		
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
	<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Essidian (Agni)	Fruits		
	<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Doyiya (Agni)	Racine		
5	<i>Ceiba pentandra</i>	Bonbacaceae	Bana-yiri (Malinké)	Ecorces de tige	Décoction	Oral + purge ; boire deux verres par jour pendant deux semaines
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
6	<i>Distemonanthus benthamianus</i>	Caesalminiaceae	Doukouman (Agni)	Ecorces de tige	Décoction	Orale + purge Boire deux verres par jour pendant trois semaines
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
7	<i>Griffonia simplicifolia</i>	Fabaceae	Blokotoa (Baoulé)	Feuilles	Décoction	Application cutanée frotter sur le corps jusqu'à ce que le malade soit soulagé
	<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Essidian (Agni)	Fruits		
	<i>Eleis guineensis</i>	Arecaeae	Aye mah (Agni)	Fruits + Pulp		
8	<i>Khaya senegalensis</i>	Meliaceae	Djara (Malinké)	Ecorces de tige	Broyage	Orale + purge
	<i>Annona senegalensis</i>	Annonaceae	Soussoube (Malinké)	Ecorces de tige et Feuilles		
	<i>Cassia sieberiana</i>	Caesalpiniaceae	Siadjan lili (Malinké)	Ecorces de tige		
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
	<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Essidian (Agni)	Fruits		

Suite du **Tableau IV**

Recettes	Noms scientifiques	Familles	Noms locaux	Organes utilisés	Mode d'emploi	Mode d'administration et fréquence d'utilisation
9	<i>Nauclea latifolia</i>	Rubiaceae	Baty (Malinké)	Ecorces de tige et racine	Décoction	Orale + purge Boire deux verres par jour pendant 3 mois
	<i>Adenia lobata</i>	Passifloraceae	Gouanfira (Malinké)	Ecorces de tige		
	<i>Afromonum melegueta</i>	Zingiberaceae	Essa (Agni)	Graines		
	<i>Xylopia aethiopica</i>	Annonaceae	Essidian (Agni)	Fruits		
10	<i>Solanum torvum</i>	Solanoceae	Gnankadrowa (Agni)	Fruits	Sauce	Orale toujours si possible
11	<i>Terminalia catapa</i>	Combretaceae	Cocoma (Agni)	Ecorces de tige et Feuilles	Décoction	Oral et cutané pendant les crises, jusqu'à la fin de la crise
	<i>Morinda lucida</i>	Rubiaceae	Kongroman (Abron)	Feuilles		

3-1-4- Organes, modes de préparation et d'administration des médicaments

Toutes les parties des plantes sont utilisées. Les écorces de tige (38 %) ont été les plus utilisées, suivies des fruits (18 %), des graines (18 %), des feuilles (17 %) et des racines (9 %) (**Figure 7**). Les résultats indiquent que les écorces de tige sont les parties les plus employées dans la préparation des recettes anti-drépanocytaires dans la région de l'Indénié-Djuablin. Le canari, la pierre plate, le galet, le mortier et le pilon sont des outils et des récipients utilisés pour préparer les recettes de médicaments.

Pour soigner les personnes malades, trois techniques de préparation sont employées à savoir : la décoction (82 %), le cataplasme (9 %) et la mastication (9 %). La voie orale (54 %), la voie rectale (32 %) et la voie cutanée (14 %) sont trois voies employées pour faciliter l'administration des recettes.

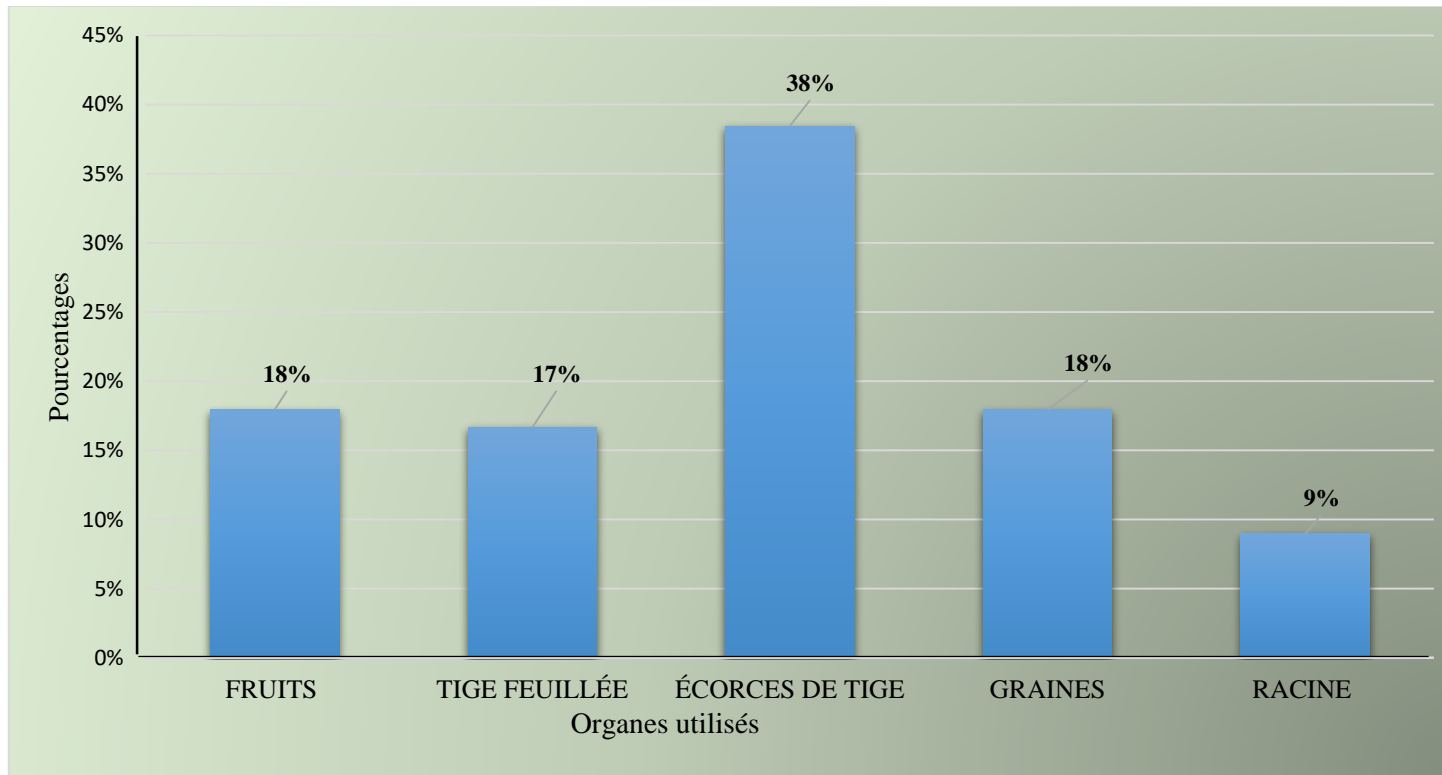


Figure 6 : Pourcentages d'utilisation des organes de plantes pour la préparation des recettes traditionnelles

3-2- Composition phytochimique des plantes et leurs combinaisons selon l'enquête

L'analyse phytochimique qualitative réalisée sur les extraits des plantes et leurs combinaisons telles que préconisées par les recettes traditionnelles met en évidence la présence de différents groupes de métabolites secondaires. Les résultats montrent que ceux-ci contiennent des polyphénols, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stéroïdes et des triterpènes. Les substances quinoniques étaient présentes dans les extraits de ZHm par contre elles sont absentes dans les extraits des recettes JJP et de DbA (**Tableau V**).

3-3- Teneurs en composés phénoliques

3-3-1- Teneurs en phénols totaux

La teneur en phénols totaux pour chaque extrait est exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/gMS) dont l'équation de la courbe d'étalonnage est $Y = 0,0863x$; $R^2 = 0,9977$ (**Annexe 2**).

L'analyse des résultats montre que les teneurs en polyphénols totaux sont $14,8 \pm 0,99$; $36,71 \pm 0,34$ et $43,31 \pm 0,92$ mg EAG/g de matière sèche pour DJJP, DDbA et DZHm respectivement. Il existe une différence significative ($P < 0,0001$) entre les décoctés des recettes DDbA et DZHm ; et DJJP.

Le décocté de la recette ZHm (DZHm) est plus riche en composés phénoliques ($43,31 \pm 0,92$ mg EAG/g). Une différence significative ($P < 0,01$) est observée entre les décoctés des recettes ZHm et DbA.

En ce qui concerne les résultats des extraits hydroéthanoliques, les teneurs sont de $16,84 \pm 1,5$; $33,82 \pm 0,6$ et $24,16 \pm 0,64$ pour EJJP, EZHm et EDbA respectivement. EZHm est significativement plus riche ($P < 0,0001$ et $P < 0,001$) en phénols totaux que EJJP et EDbA.

Du point de vue statistique, une différence significative ($P < 0,05$) est observée entre les extraits aqueux et hydroéthanolique de la recette ZHm. Il existe une différence significative ($P < 0,001$) entre les extraits aqueux et hydroéthanolique de la recette DbA, par contre aucune différence significative n'est observée entre les extraits de la recette JJP (**figure 7**).

Tableau V : Résultats du tri phytochimique réalisé sur les différents extraits de plantes

Plantes étudiées												
		<i>A.</i> <i>melegueta</i>	<i>D.</i> <i>benthamianus</i>	<i>H.</i> <i>madagascariensis</i>	<i>J.</i> <i>gossypiifolia</i>	<i>J.</i> <i>secunda</i>	<i>P.</i> <i>nigrescens</i>	<i>X.</i> <i>aethiopica</i>	<i>Z.</i> <i>leprieurii</i>	R. 1 JJP	R. 2 ZHm	R. 3 DbA
Extraits secondaires	Métabolites											
	S/P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T.G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S.Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Extrait aqueux (décocté)	S/P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T.G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SQ	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrait hydro- éthanolique 70%	S/P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T.C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	T.G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SQ	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

S/P : stérols/polyterpènes ; *P* : polyphénols ; *F* : Flavonoïdes ; *T.C* : Tanins catéchiques, *T.G* : Tanins Galliques, *A* : Alcaloïdes ;

S.Q : Substances Quinoniques, *S* : Saponosides

(R.1) Recette 1 JJP : *Afromonum melegueta*, *Jatropha gossypiifolia* L, *Justicia secunda* et *Parquetina nigrescens*

(R.2) Recette 2 ZHm : *Xylopiya aethiopica*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Harungara madagascariensis*

(R.3) Recette 3 DbA : *Afromonum melegueta* et *Distemonanthus benthamianus*

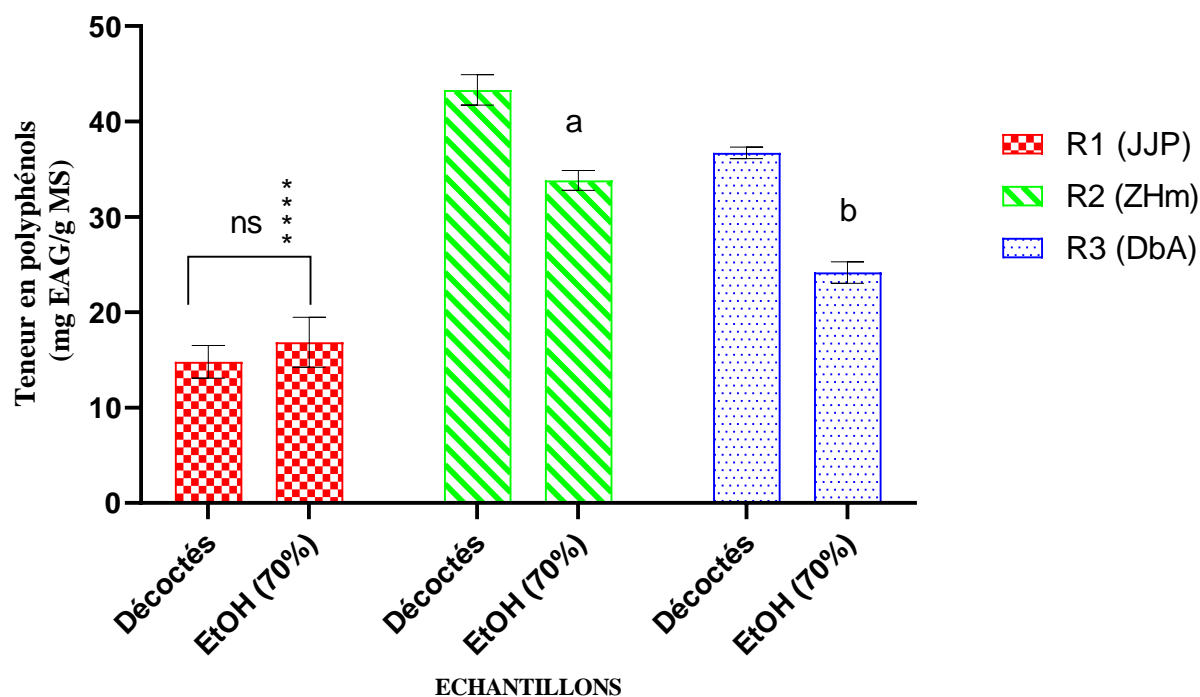


Figure 7 : Teneurs en phénols totaux des extraits aqueux et hydroéthanoliques de trois recettes de plantes

R₁ (JJP) : *Afromonum melegueta*, *Jatropha gossypifolia*, *Justicia secunda* et *Parquetina nigrescens*

R₂ (ZHm) : *Xylopia aethiopica*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Harungara madagascariensis*

R₃ (DbA) : *Afromonum melegueta* et *Distemonanthus benthamianus*

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne ± écart-type

(****) (P<0,0001) représentent les différences significatives entre la recette JJP et les recettes ZHm et DbA

(a) (P <0,05) représentent la différence significative entre DZHm et EZHm

(b) (P <0,001) représentent la différence significative entre DDbA et EDbA

(ns) : pas de différence significative entre les extraits de la recette JJP

3-3-2- Teneur en flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus après le dosage des flavonoïdes dans les différents extraits issus des recettes sont illustrés par la **Figures 8**.

La courbe d'étalonnage d'équation $Y=1,3574x - 0,0181$; $R^2 = 0,9976$ obtenue avec la quercétine a permis de calculer les concentrations en flavonoïdes totaux dans les différents extraits de plantes (**Annexe 2**).

La teneur en flavonoïdes totaux est variable et diffère d'une plante à l'autre et d'un extrait à l'autre. En effet, le taux de flavonoïdes totaux des extraits aqueux est de $8,83 \pm 0,4$ pour DJJP, $17,07 \pm 0,89$ et $13,73 \pm 0,21$ mgEQ/g pour (DZHm) et (DDbA) respectivement. Une différence significative ($P < 0,0001$) est observée entre DJJP puis DZHm et DDbA.

En ce qui concerne les extraits hydroéthanoliques, les teneurs sont de $7,70 \pm 0,2$; $19,76 \pm 1,15$ et $20,2 \pm 0,64$ mgEQ/g respectivement pour les recettes JJP, ZHm et DbA. La teneur en flavonoïdes totaux de EDbA est significativement supérieure ($P < 0,001$) à celle de EJJP, mais aucune différence significative ($P > 0,05$) n'a été observée entre les teneurs en flavonoïdes des recettes ZHm et DbA.

Statistiquement, il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en flavonoïdes des extraits des recettes JJP et ZHm. Par contre, il existe une différence significative ($P < 0,001$) entre les différents extraits de la recette DbA.

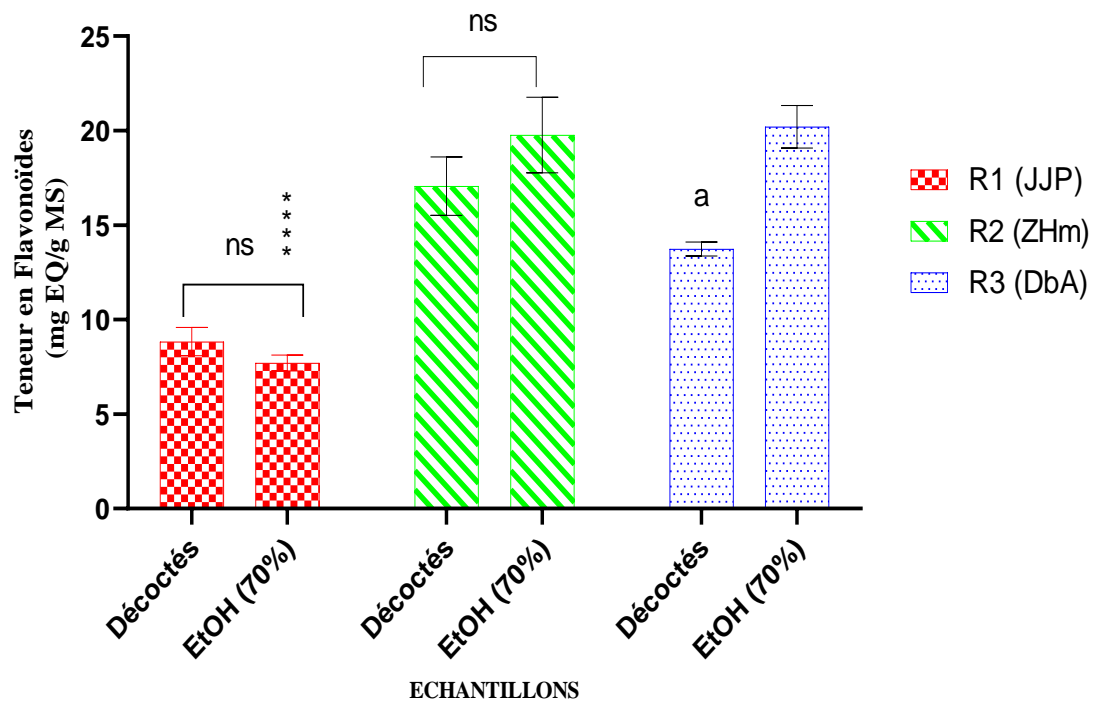


Figure 8 : Teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux et hydroéthanoliques des trois recettes de plantes

R₁ (JJP): *Jatropha gossypifolia*, *Justicia secunda*, *Parquetina nigrescens* et *Afromonum melegueta*

R₂ (ZHm) : *Zanthoxylum leprieurii* Harungara madagascariensis et *Xylopia aethiopica*

R₃ (DbA) : *Distemonanthus benthamianus* et *Afromonum melegueta*

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne ± écart-type

(****) (P<0,0001) représentent les différences significatives entre la recette JJP et les recettes ZHm et DbA

(a) (P <0,05) représentent la différence significative entre DDbA et EDbA

(ns) : pas de différence significative entre les extraits des recettes JJP et ZHm

3-4- Potentiel antioxydante des extraits des trois recettes de plantes

3-4-1- Pouvoir inhibiteur du radical DPPH

Les figures 9 et 10 illustrent les activités anti-radicalaires des différents extraits de plantes comparées à celle de l'acide ascorbique. De façon générale, ces courbes présentent une partie ascendante correspondant à la gamme de concentration inhibitrice exponentielle, une partie de ralentissement et un plateau correspondant à l'activité inhibitrice maximale de l'échantillon.

Les extraits étudiés exercent une bonne activité antioxydante. Les pourcentages d'inhibition du DPPH par les extraits aqueux sont de 69,65 % ; de 78,68 % et de 82,35 % pour DJJP, DZHm et DDbA respectivement à la concentration de 1 mg /mL. Quant aux pourcentages d'inhibition du DPPH par les extraits hydroéthanoliques, ils sont de 70,05 % ; 75,85 % et 82,49 % pour EJJP, EZHm et EDbA respectivement à la concentration de 1 mg /mL.

Les différents extraits de plantes possèdent un pouvoir anti-radicalaire au même titre que l'acide ascorbique, car elle a inhibé le DPPH à 99 % à la concentration de 200 µg /mL.

Les valeurs des CI_{50} obtenues graphiquement à partir des courbes sont de 80 µg/mL, 30 µg/mL et 10,67 µg/mL pour DJJP, DZHm et DDbA respectivement. De même les valeurs des CI_{50} des extraits hydroéthanolique des recettes EJJP, EZHm et EDbA ont été de 70 µg/mL, 20 µg/mL et 6,45 µg/mL respectivement. L'acide ascorbique a une $CI_{50} = 6,05$ µg /mL (**figure 10**).

La comparaison des CI_{50} montre qu'il n'existe aucune différence significative entre la CI_{50} de l'acide ascorbique et celles des extraits aqueux et hydroéthanolique de la recette (DbA). Par contre, il existe une différence significative ($p < 0,001$) et ($p < 0,01$) entre la CI_{50} de l'acide ascorbique et celles des extraits aqueux et hydroéthanolique de la recette ZHm respectivement. Il existe également une différence très significative ($p < 0,0001$) entre la CI_{50} de l'acide ascorbique et les extraits aqueux et hydroéthanolique de la recette JJP.

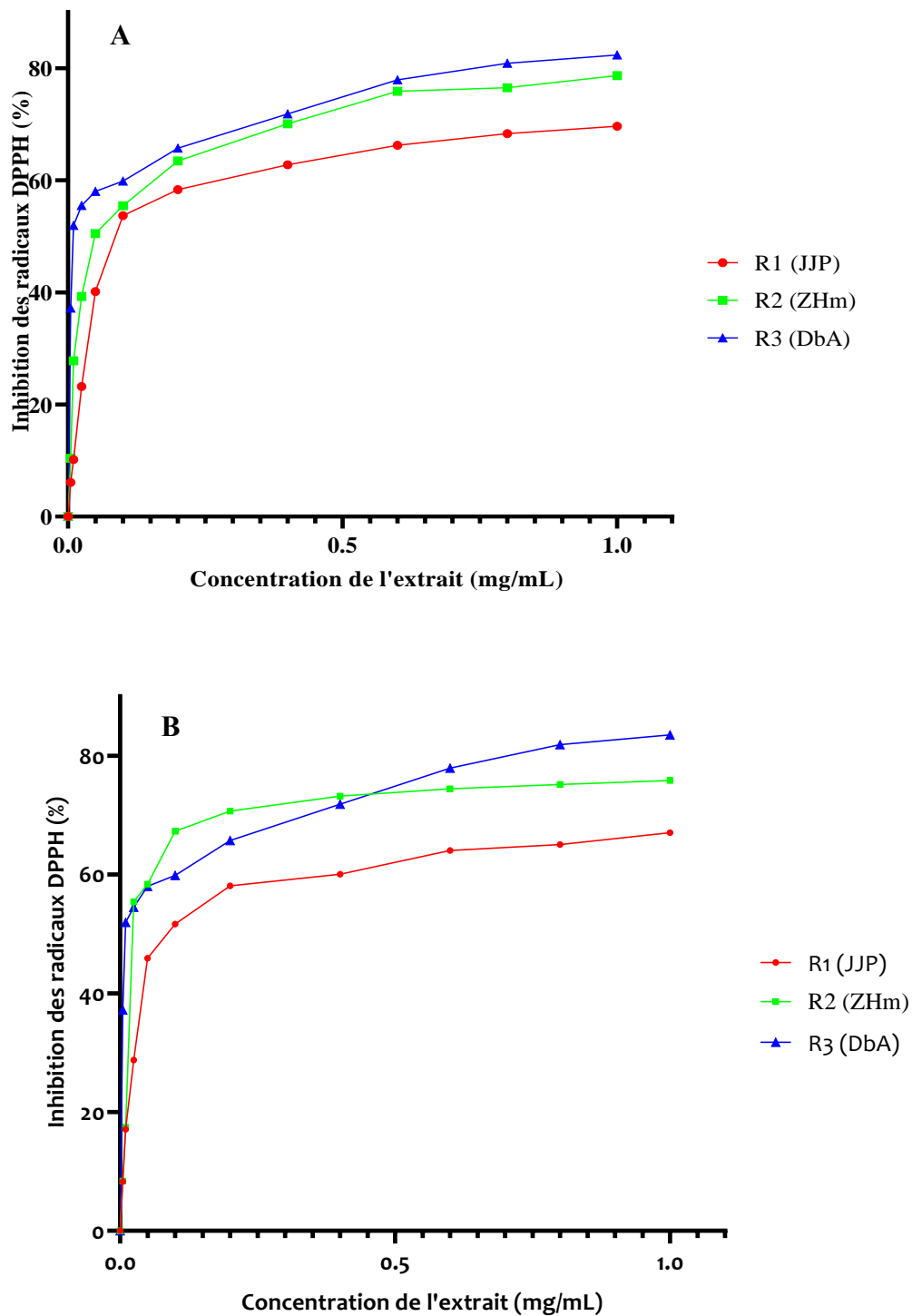


Figure 9 : Courbe d'inhibition du DPPH des différents extraits de plantes

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

R₁ (JJP): *Jatropha gossypifolia*, *Justicia secunda*, *Parquetina nigrescens* et *Afromonum melegueta*

R₂ (ZHm) : *Zanthoxylum leprieurii* *Harungara madagascariensis* et *Xylopia aethiopica*

R₃ (DbA) : *Distemonanthus benthamianus* et *Afromonum melegueta*

A) Inhibition du DPPH par l'extrait aqueux

B) Inhibition du DPPH par l'extrait hydroéthanolique

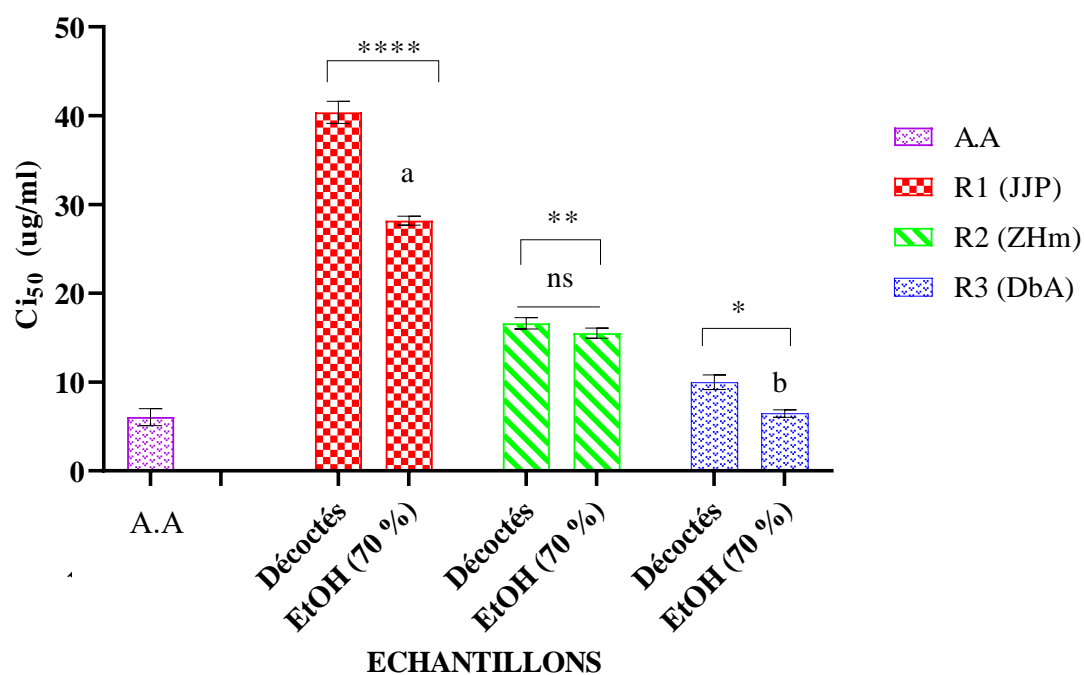


Figure 10 : Valeurs de CI₅₀ des extraits des trois recettes de plantes et de l'Acide Ascorbique.

R₁ (JJP): *Jatropha gossypifolia*, *Justicia secunda*, *Parquetina nigrescens* et *Afromonum melegueta*

R₂ (ZHm) : *Zanthoxylum leprieurii* *Harungara madagascariensis* et *Xylopiya aethiopica*

R₃ (DbA) : *Distemonanthus benthamianus* et *Afromonum melegueta*

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne ± écart-type

(*) (P < 0,05) représentent la différence significative entre l'Acide Ascorbique et la recette DbA

(**) (P < 0,01) représentent la différence significative entre l'Acide Ascorbique et la recette ZHm

(****) (P < 0,0001) représentent les différences significatives entre l'Acide Ascorbique et la recette JJP

(a) représentent la différence significative entre DJJP et EJJP

(b) représentent la différence significative entre DDbA et EDbA

(ns) : pas de différence significative entre les extraits de la recette ZHm

3-4-2- Pouvoir réducteur de l'ion ferrique en ion ferreux

La présence des composés réducteurs dans les extraits a provoqué la réduction de l'ion Fe^{3+} (complexé) en ion Fe^{2+} . Les résultats obtenus sont résumés sur la **figure 11**. Le pouvoir réducteur du fer est proportionnel à l'augmentation de la concentration de ces trois recettes.

Selon ces résultats, les meilleures activités ont été générés avec les décoctés des recettes ZHm et DbA. En effet, les densités optiques obtenues sont de 1,50 et 1,69 à la concentration de 1 mg/mL respectivement pour les recettes DZHm et DDbA. La densité optique de la recette DJJP est 0,07 à la concentration de 1 mg/mL.

Les recettes (ZHm) et (DbA) présentent une activité antioxydante semblable à celle de la molécule de référence Butyle hydroxy toluène (BHT) dont la DO est 1,28 à la concentration 1 mg/mL. Comparé au décocté de la recette JJP, les décoctés des recettes DbA et ZHm réduisent mieux le fer aux faibles concentrations.

L'observation de la **figure 11** montre que les extraits hydroéthanoliques des recettes EJJP, EZHm et EDbA ont tous réduit l'ion Fe^{3+} (complexé) en ion Fe^{2+} . A la concentration maximale de 0,5 mg/mL, les DO sont 0,300 ; 1,489 et 1,052 pour EJJP, EZHm et EDbA respectivement. Les recettes (ZHm) et (DbA) réduisent significativement ($P < 0,001$) le fer que la recette (JJP). Les recettes JJP, ZHm et DbA sont riches en composés phénoliques et exercent *in vitro* des activités antioxydantes variables.

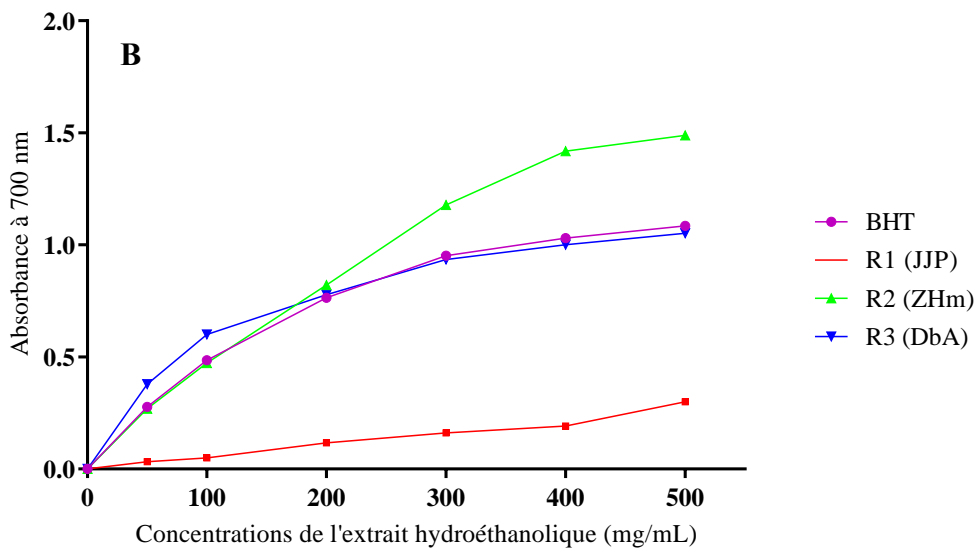
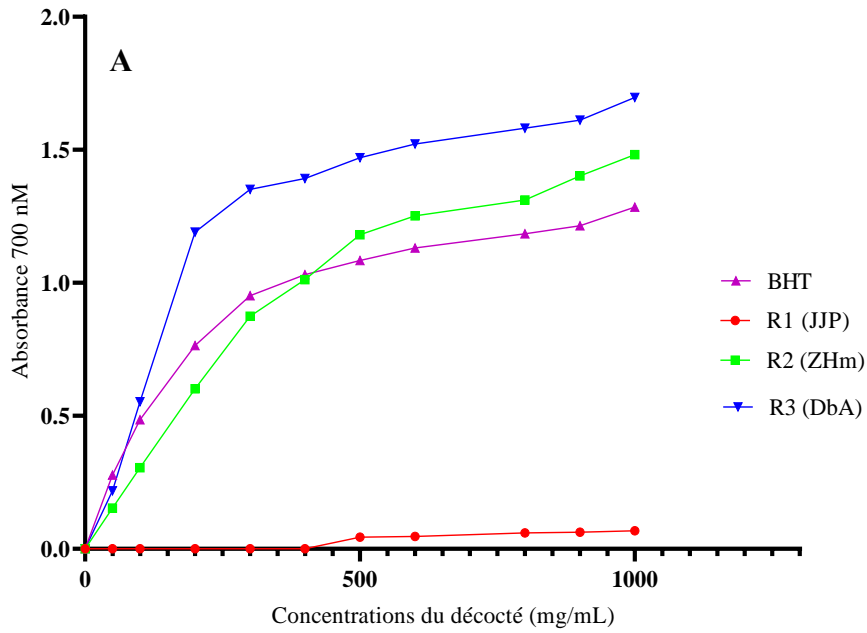


Figure 11 : Pouvoir réducteur des extraits de trois recettes de plantes et du BHT

R₁ (JJP): *Jatropha gossypifolia*, *Justicia secunda*, *Parquetina nigrescens* et *Afromonum melegueta*

R₂ (ZHm) : *Zanthoxylum leprieurii* *Harungara madagascariensis* et *Xylopia aethiopica*

R₃ (DbA) : *Distemonanthus benthamianus* et *Afromonum melegueta*

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

A) Pouvoir reducteur de l'extrait aqueux et du BHT

B) Pouvoir reducteur de l'extrait hydroéthanolique et du BHT

3-5- Toxicité des extraits

3-5-1- Toxicité aiguë des extraits issus de trois recettes

Cette étude permet de déterminer la classe toxicologique d'une substance et les doses à injecter aux animaux sans causer leur mort.

3-5-1-1- Effets des extraits aqueux des trois recettes sur la mortalité des rattes.

Aucun cas de mort n'a été enregistré aux différentes doses de 300 et 2000 mg/kg de poids corporel (PC) des extraits aqueux de ZHm et de DbA pendant les deux semaines d'observation (**Tableau VI**). On en déduit que la DL₅₀ de ZHm et DbA est supérieur à 2000 mg/kg Pc.

Par contre, l'administration de l'extrait aqueux de JJP aux doses de 300 et 2000 mg/kg pc a entraîné la mort des animaux. Les signes cliniques d'intoxication aiguë tels que le calme, les torsions abdominales et la respiration rapide ont été observés pendant les premières heures de la période d'étude.

3-5-1-2- Effets des extraits hydroéthanoliques des trois recettes sur la mortalité des rattes.

L'administration des extraits hydroéthanoliques de (EZHm) et (EDbA) aux doses de 300 et 2000 mg/kg pc a entraîné des troubles comportementaux tels que la somnolence et l'apathie qui ont été observées chez les rats femelles traités à la dose de 2000 mg/kg de PC de EZHm. Ces troubles n'ont duré qu'environ 30 min. Les animaux traités sont redevenus normales après les 30 min. Ces animaux étaient normaux jusqu'à la fin des 14 jours après l'administration du produit. Cependant, les doses uniques de 300 et 2000 mg/kg PC de EJJP administrée aux rats femelles ont causé leurs morts après 3 h (**Tableau VI**).

3-5-1-3- Effets des deux recettes sur le poids corporel des rats femelles.

Durant toute la durée de l'expérimentation, une augmentation générale non significative du poids corporel des rates a été notée chez les témoins et les traités avec les extraits des deux recettes de plantes (**Tableau VII**).

Il ressort de cette analyse que les extraits des deux recettes (ZHm et DbA) ne sont pas toxiques par voie orale et appartiennent à la catégorie 5 du Système de classification Globalement Harmonisé (SGH). Tandis que les extraits de JJP peuvent être classés dans la catégorie 1 du SGH.

Tableau VI : Mortalité des rates en fonction de la dose des extraits aqueux et hydroéthanoliques des trois recettes

Recettes		Aqueux		Hydroéthanolique	
		Lots		Lots	
		300 (mg/kg Pc)	2000 (mg/kg Pc)	300 (mg/kg Pc)	2000 (mg/kg Pc)
	Nombre de rates par lot	3	3	3	3
JJP	Mortalité	3	3	3	3
	Nombre de rates par lot	3	3	3	3
ZHm	Mortalité	0	0	0	0
	Nombre de rates par lot	3	3	3	3
DbA	Mortalité	0	0	0	0

JJP: *Jatropha gossypifolia*, *Justicia secunda*, *Parquetina nigrescens* et *Afromonum melegueta*

ZHm : *Zanthoxylum leprieurii* *Harungara madagascariensis* et *Xylopia aethiopica*

DbA: *Distemonanthus benthamianus* et *Afromonum melegueta*

Tableau VII : Evolution du poids moyen en gramme (g) des rates traitées avec les extraits aqueux et hydroéthanoliques des recettes

			J₀	J₇	J₁₄
Décoctés	300 mg/kg de P _c	ED	121,33±5,56	132±5,33	134,3 ±5,36
		DJJP	123,3 ± 0,33	Non observé	Non observé
		DZHm	120 ± 1,11	127±22	138,0±0,57
		DDbA	121,33±1,77	126,67±1,55	131,0±2,30
P-value p > 0,05			0,999	0,785	0,858
Décoctés	2000 mg/kg de P _c	DJJP	124,56 ± 1,41	Non observé	Non observé
		DZHm	120 ± 1,33	140,67±2,9	155,0±
		DDbA	121,67±1,11	135,67±3,8	144,3±
		P-value p > 0,05			0,998
Hydro éthanoliques	300 mg/kg de P _c	EJJP	123,6 ± 06,15	Non observé	Non observé
		EZHm	129,67±2,9	129,67±2,9	135,0±1,155
		EDbA	118,67±1,11	125,33±1,8	131,3±0,33
		P-value p > 0,05			0,864
Hydro éthanoliques	2000 mg/kg de P _c	EJJP	125,33 ± 1,55	Néant	Néant
		EZHm	123,33 ± 1,33	136,33±2,9	154,3±4,70
		EDbA	124 ±8,00	131,33±1,12	149,7±4,97
		P-value p > 0,05			0,964

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 3. (ns) non significative si p > 0,05

ED : Eau distillée

DJJP: Décocté du mélange de *J. gossypifolia*, *J. secunda*, *P. nigrescens* et *A. melegueta*

EJJP: Extrait hydroéthanolique du mélange de *J. gossypifolia*, *J. secunda*, *P. nigrescens* et *A. melegueta*

DZHm : Décocté du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

EZHm : Extrait hydroéthanolique du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

DDbA: Décocté du mélange de *D. benthamianus* et *A. melegueta*

EDbA: Extrait hydroéthanolique du mélange de *D. benthamianus* et *A. melegueta*

3-5-2- Toxicité subaiguë

La recette 2 (ZHm) composée de *Xylopiya aethiopica*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Harungara madagascariensis* a été retenue pour la suite des travaux à cause l'abondance des métabolites secondaires dans ses différents extraits, de ses activités anti-oxydantes et de sa biotolérance.

3-5-2-1- Comportement des animaux

Au cours du traitement, il n'a été observé aucune modification du comportement des rats traités par rapport aux témoins. Aucune mortalité n'a été enregistrée ni dans le lot des témoins ni dans les lots des rats traités.

3-5-2-2- Effet des extraits de plantes sur la masse corporelle

Durant les 28 jours de traitement, le poids des rats a augmenté progressivement en fonction du temps. Le gain de poids corporel chez les animaux traités avec les différentes doses de 200, 400 et 800 mg/kg de PC avec DZHm et EZHm était sensiblement le même et il n'y avait aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les rats traités et les rats témoins (**Figures 12 et 13**).

3-5-2-3- Effet de l'extrait sur le poids des organes

A la fin du traitement, le poids des organes prélevés chez les rats traités (rein, foie, cœur, rate et poumon) n'a pas présenté de différence significative ($p > 0,05$) par rapport à ceux des témoins (**Tableau VIII et IX**). Les différents extraits n'ont pas généré une augmentation du poids des organes.

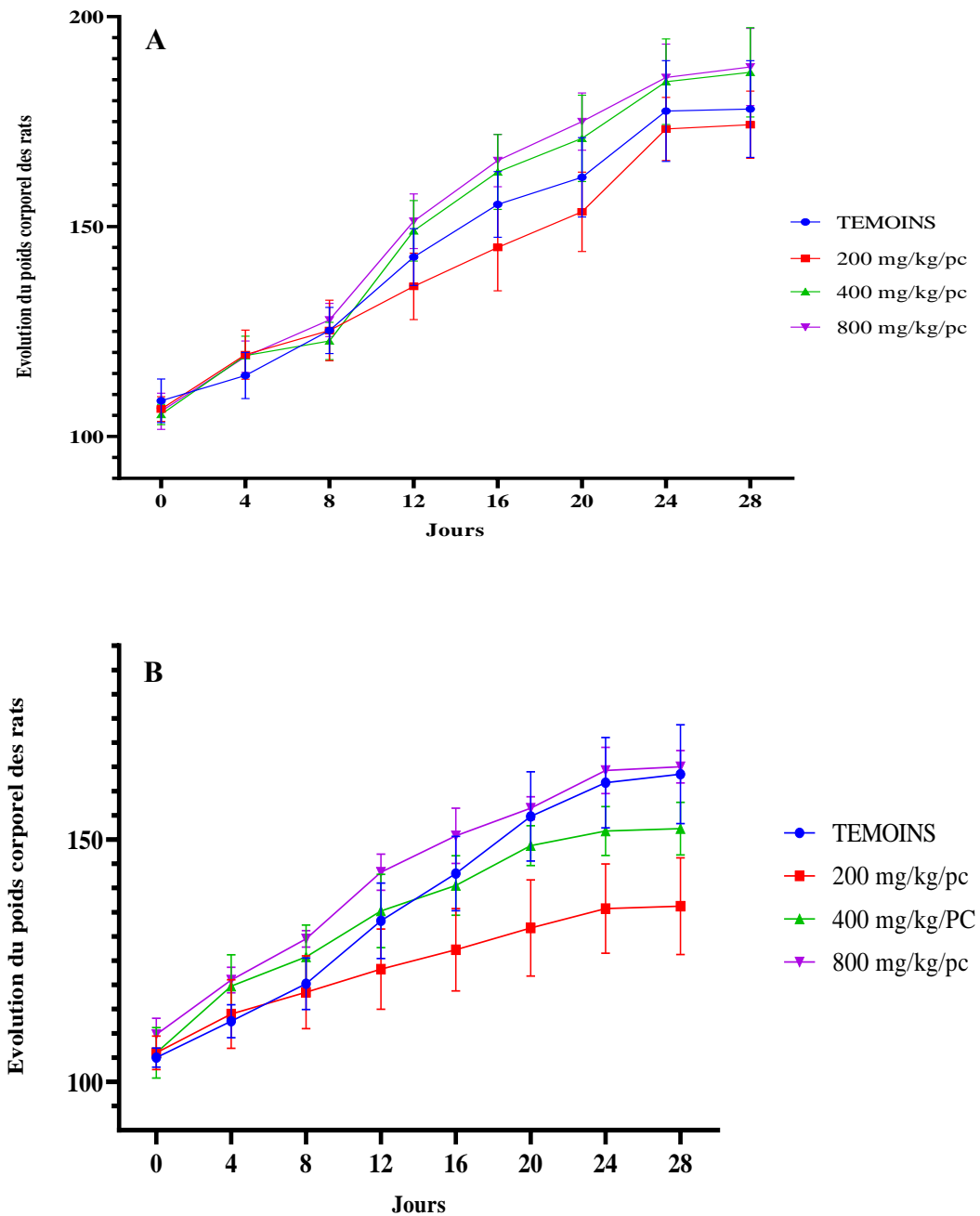


Figure 12 : Effet des différentes doses de l'extrait aqueux de ZHM sur de poids corporel des animaux

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

- A) Rats mâles
- B) Rats femelles

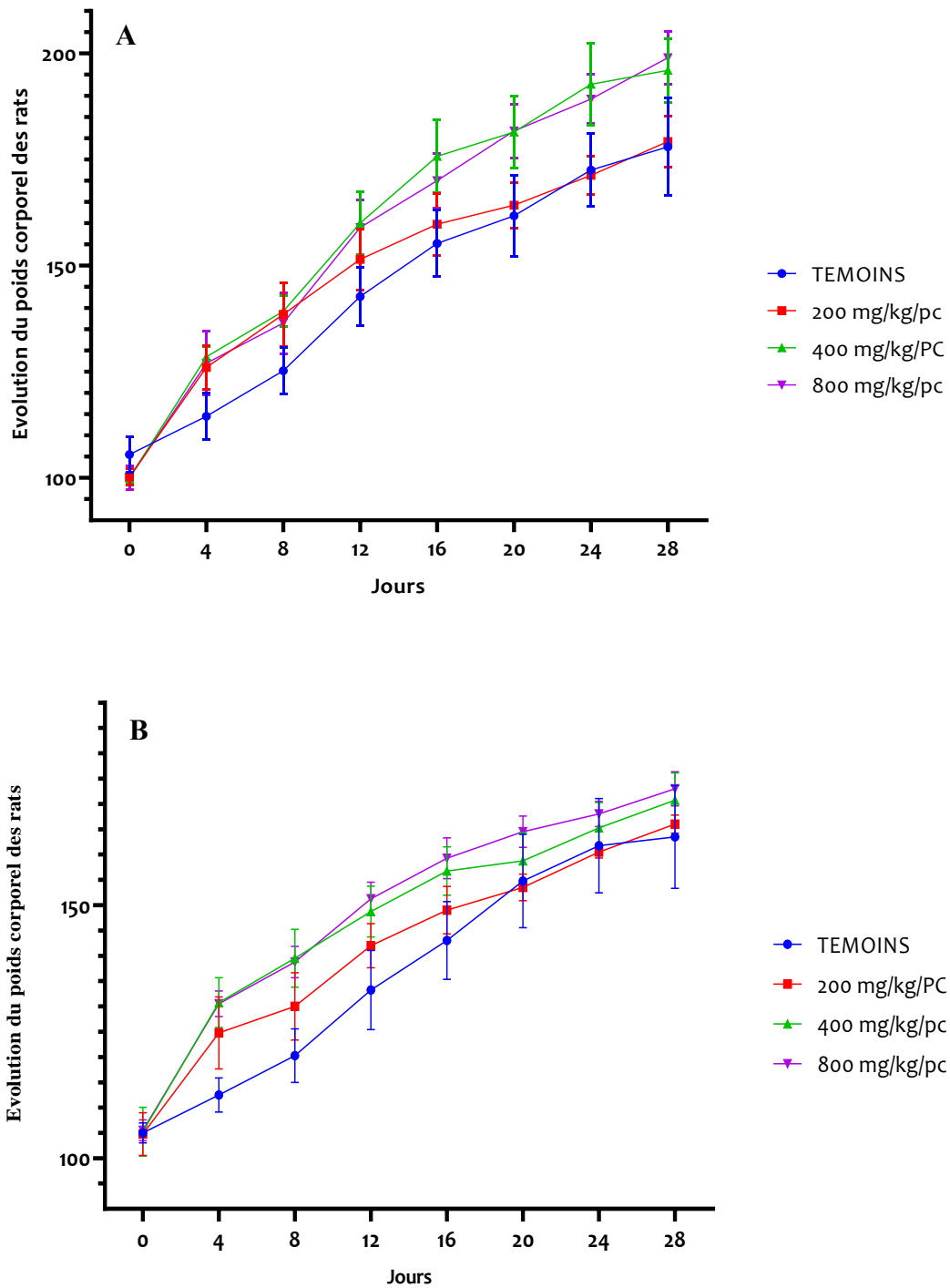


Figure 13 : Effet des différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm sur le gain de poids corporel les animaux

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

- A) Rats mâles
- B) Rats femelles

Tableau VIII : Effets des différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm sur le poids frais des organes des rats mâles et femelles après 28 jours de traitements

Traitement des animaux (mg/kg de Pc)		Poids relatifs des organes (g/100 g de PC)									
		Reins		Foie		Cœur		Rate		Poumons	
		Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value
TEMOINS	MALES	0,60±0,01		2,94±0,09		0,35±0,00		0,32±0,02		0,83±0,07	
	FEMELLES	0,55±0,02		2,91±0,15		0,37±0,00		0,27±0,04		0,80±0,04	
200	MALES	0,62±0,00	0,622	3,18±0,13	0,408	0,34±0,01	0,974	0,34±0,05	0,986	0,78±0,07	0,951
	FEMELLES	0,64±0,04	0,331	2,98±0,10	0,977	0,40±0,01	0,232	0,36±0,04	0,682	1,2±0,23	0,236
400	MALES	0,64±0,00	0,123	3,08±0,10	0,760	0,35±0,01	0,992	0,40±0,03	0,456	0,73±0,6	0,746
	FEMELLES	0,60±0,04	0,756	3,03±0,15	0,908	0,37±0,00	0,995	0,41±0,07	0,344	0,95±0,14	0,877
800	MALES	0,61±0,00	0,931	2,95±0,8	0,999	0,36±0,00	0,873	0,35±0,03	0,954	0,78±0,08	0,960
	FEMELLES	0,64±0,01	0,399	3,12±0,09	0,656	0,38±0,01	0,982	0,47±0,04	0,086	0,90±0,06	0,951

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 6. (ns) non significative si p > 0,05

MOY : Moyenne

Tableau IX : Effets des différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm sur le poids frais des organes des rats mâles et femelles après 28 jours de traitements

Traitement des animaux (mg/kg de Pc)		Poids relatifs des organes (g/100 g de PC)									
		Reins		Foie		Cœur		Rate		Poumons	
		Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value	Moy ± écart	P-value
TEMOINS	MALES	0,60±0,01		2,94±0,09		0,35±0,00		0,32±0,02		0,83±0,07	
	FEMELLES	0,55±0,02		2,91±0,15		0,37±0,00		0,27±0,04		0,80±0,04	
200	MALES	0,61±0,02	0,999	2,95±0,12	0,999	0,38±0,03	0,795	0,26±0,02	0,365	0,93±0,12	0,994
	FEMELLES	0,62±0,02	0,348	3,00±0,23	0,967	0,40±0,03	0,847	0,32±0,04	0,816	0,94±0,06	0,736
400	MALES	0,68±0,07	0,535	3,06±0,21	0,947	0,40±0,02	0,300	0,27±0,02	0,487	1,57±0,5	0,302
	FEMELLES	0,61±0,00	0,425	2,87±0,09	0,997	0,39±0,01	0,866	0,29±0,03	0,992	1,12±0,14	0,107
800	MALES	0,57±0,01	0,955	2,96±0,18	0,999	0,36±0,01	0,995	0,24±0,01	0,144	0,83±0,07	0,999
	FEMELLES	0,58±0,03	0,850	2,68±0,07	0,746	0,42±0,03	0,479	0,26±0,02	0,996	0,82±0,06	0,996

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 6. (ns) non significative si p > 0,05

MOY : Moyenne

3-5-2-4- Effet des extraits de plantes sur les paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques des rats (mâles et femelles) traités quotidiennement par voie orale aux différentes doses de DZHm et EZHm et du lot témoin sont consignés dans les **Tableau X et XI**. Ces paramètres hématologiques sont : le nombre de globules blancs (GB), le nombre de globules rouges (GR), le taux d'hémoglobine (Hb), le taux d'hématocrite (Hte), le volume globulaire moyen (VGM), la concentration moyenne en hémoglobine (CMH), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), le nombre de plaquettes sanguines (PLT) et le nombre de lymphocytes (LYM).

3-5-2-4-1- Effet de l'extrait aqueux (DZHm)

Durant l'expérimentation de 28 jours, les valeurs des paramètres hématologiques obtenus avec les rats témoins et les rats traités avec les différentes doses sont significativement différentes. Parmi ces résultats obtenus à la fin de la période de traitement des animaux, le nombre de GB et le taux Hb mesurés ont varié de façon significative en présence des doses de 200, 400 et 800 mg / kg pc de DZHm **Tableau X**.

Le nombre de globules blancs chez les femelles est passé de $12,24 \pm 0,01$ chez les rats témoins (non traités) à $16,54 \pm 0,15$; $18,48 \pm 0,16$ et de $19,29 \pm 0,37$ aux doses respectives de 200, 400 et 800 mg / kg pc de DZHm. Chez les mâles, cette variation a été de $11,25 \pm 0,56$; $15,92 \pm 1,95$; $16,49 \pm 3,97$ et $22,48 \pm 3,84$ aux doses respectives pour les rats témoins et les rats traités avec les doses de 200, 400 et 800 mg / kg pc de DZHm.

L'administration de cet extrait induit une augmentation significative du taux de Hb chez les rats aux doses de 200, 400 et 800 mg/ kg de PC, ces valeurs ont été respectivement de $14,03 \pm 0,23$; $14,30 \pm 0,24$ et $14,45 \pm 0,17$ comparées aux témoins femelles ($12,25 \pm 0,11 \cdot 10^9 / L$). Quant aux taux d'hémoglobine des mâles, il a été de $14,05 \pm 0,5$; $14,4 \pm 0,18$ et $14,33 \pm 0,19$ pour les rats traités avec 200, 400 et 800 mg/ kg de PC de DZHm respectivement tandis que les mâles témoins avaient un taux d'hémoglobine de $12,75 \pm 0,53$. Cet extrait a également généré une augmentation de la CCMH à $28,3 \pm 0,12$; $28,53 \pm 0,33$ et $28,7 \pm 0,17$ aux doses de 200, 400 et 800 mg/ kg de PC respectivement par rapport aux valeurs témoin ($27,23 \pm 0,08$).

3-5-2-4-2- Effet de l'extrait hydroéthanolique (EZHm)

Les valeurs des paramètres (Hb, Hte et CCMH) ont augmenté de façon significative par rapport aux rats témoins. Comparativement aux rats témoins ($12,75 \pm 0,45$), l'administration d'EZHm à la dose 800 mg/ kg de pc aux animaux augmente significativement le taux d'Hb ($p < 0,01$). Ce taux a été de $14,15 \pm 0,32$ et $14,40 \pm 0,4$ chez les rats mâles et femelles respectivement. A cette même

dose, le taux Hte passe à $48,16 \pm 1,07$ tandis que celui du témoin était de $43,15 \pm 0,88$.

Les doses de 200, 400 et 800 mg/ kg de PC d'EZHm reçues par les rats a augmenté significativement le taux de la CCMH ($29,6 \pm 0,18 \text{ } 10^9/\text{ L}$; $30,15 \pm 0,39 \text{ } 10^9/\text{ L}$ et $31,03 \pm 0,58 \text{ } 10^9/\text{ L}$) respectivement comparé aux témoins ($28,73 \pm 0,22 \text{ } 10^9/\text{ L}$) après 28 jours de traitement (**Tableau XI**).

3-5-2-5- Effet des extraits des plantes sur les paramètres biochimiques

3-5-2-5-1- Effet de l'extrait aqueux (DZHm)

L'administration quotidienne de DZHm aux rats mâles et femelles pendant 28 jours, par voie orale, a modifié les valeurs de certains paramètres biochimiques. Les mâles et femelles traités avec DZHm n'ont présenté aucun changement significatif ($P > 0,05$) du taux de l'urée, de la créatinine, de l'ASAT, de l'ALAT, de Triglycéride, de HDL, de cholestérol total sérique et de la glycémie par rapport aux rats témoins (**Tableau XII**).

3-5-2-5-2- Effet de l'extrait hydroéthanolique (EZHm)

L'administration quotidienne d'EZHm aux rats mâles et femelles pendant 28 jours, par voie orale, n'a pas modifié les valeurs des paramètres biochimiques. En effet le taux d'urée ; de la créatinine ; du cholestérol total sérique ; de la glycémie ; de l'ASAT ; de l'ALAT ; des Triglycérides, du HDL n'ont pas varié significativement par rapport aux rats témoins (**Tableau XIII**).

3-5-2-6- Effet des extraits des plantes sur la variation sanguine des ions (P, Ca et Mg)

Le résultat des analyses des électrolytes n'a révélé aucune variation significative ($p > 0,05$) chez les rats traités avec DZHm par rapport aux rats normaux (témoins). Par contre, les rats traités avec EZHm ont connu une baisse peu significative ($p < 0,05$) du taux de magnésium sanguin. Cette baisse du magnésium était de $2,22 \pm 0,07$; $2,16 \pm 0,05$ et de $1,88 \pm 0,29$ pour les doses de 200, 400 et 800 mg/Kg de PC respectivement comparé à celle des rats non traités qui était de $2,94 \pm 0,06$. Les résultats sont résumés dans le **tableau XIV**.

3-5-2-7- Etude histopathologique

L'observation des coupes histologiques réalisées sur le foie, le cœur et le rein n'a révélé aucun signe apparent d'inflammation, ni de nécrose cellulaire. En effet les doses de 200, 400 et 800 mg/Kg de pc des extraits aqueux (**Figures 14, 15 et 16**) et hydroéthanoliques (**Figures 17, 18 et 19**) n'ont pas généré des signes de toxicité sur les organes prélevés.

Tableau X : Effet des différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm sur les paramètres hématologiques des rats après 28 jours de traitement

Paramètres	Sexes	LOTS			
		Témoins (eau distillée)	200 (mg/kg.pc)	400 (mg/kg.pc)	800 (mg/kg.pc)
GB 10³/ mm³	Mâle	11,25±0,56	15,92±1,957**	16,49±3,97**	22,48±3,84***
	Femelle	12,24±2,49	16,51±0,28**	18,73±3,47**	19,04±0,99**
GR x10⁶/mm³	Mâle	7,95±0,26	8,09±0,24	8,15±0,2	8,52±0,06
	Femelle	7,39±0,43	8,02±0,30	7,57±0,23	7,55±0,2
Hb g / dl	Mâle	12,75±0,53	14,05±0,5**	14,4±0,18**	14,33±0,19**
	Femelle	12,25±0,11	14,03±0,23**	14,30± 0,24**	14,45±0,17**
Hte %	Mâle	48,3±1,87	47,4±1,87	46,7±0,8	49,48±0,44
	Femelle	44,4±1,57	48,73±1,02	45,15± 1,74	44,48±1,19
VGM FL / cell	Mâle	60,73±0,91	58,53±0,66	57,28±0,48	58,05±0,93
	Femelle	60,28±1,35	60,8±1,63	59,55± 1,02	58,98±0,80
TCMH	Mâle	16,9±0,29	16,85±0,43	16,4±0,23	16,83±0,3
	Femelle	17,3±0,44	17,28±0,43	17± 0,17	16,95±0,3
CCMH g / dl	Mâle	27,85±0,01	28,30±0,12	28,65±0,20	28,98±0,03
	Femelle	27,03±0,22	28,3±0,12	28,53± 0,33	27,7±0,17
PLT x10³ / mm³	Mâle	879±105,9	942±56,4	897,8±70,64	844±49,54
	Femelle	1022±20,1	939,5±23,61	896,6± 81,5	889±76,3
LYM %	Mâle	13,34±3,59	13,65±2,04	19,59±3,58	12,83±3,88
	Femelle	10,58±1,8	13,61±1,61	15,88± 2,75	13,84±0,33

Les données ont été exprimées par moyenne ± SEM; ns (Non significatif), p < 0,01: (**); p < 0,001 : (***). Globules blancs (x10³/ mm³); GB, Globules rouges (x10⁶/mm³); Hémoglobine (g / dl) ; Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g / dl); Plaquettes (x10³ / mm³) ; Lymphocyte(%); Hématocrite (%);Volume globulaire moyen (FL / cell).

Tableau XI : Effet des différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm sur les paramètres hématologiques des rats après 28 jours de traitement

Paramètres	Sexes	LOTS			
		Témoins (eau distillée)	200 (mg/kg.pc)	400 (mg/kg.pc)	800 (mg/kg.pc)
GB	Mâle	11,25±0,56	11,01±0,77	8,35±1,6	7,43±1,1
10³/ mm³	Femelle	12,24±2,49	7,83±3,59	10,13±2,35	9,04±1,13
GR	Mâle	7,95±0,26	8,83±0,36	6,93±0,5	7,81±0,53
x10⁶ /mm³	Femelle	7,39±0,43	6,75±0,94	7,3±0,3	7,24±0,17
Hb	Mâle	12,75±0,53	13,78±0,07	13,65±0,255	14,15±0,32 ^{**}
g / dl	Femelle	12,25±0,45	13,43±1,57	13,43±0,44	14,4±0,4 ^{**}
Hte	Mâle	48,3±1,87	44,5±1,05	45,43±0,2	48,15±1,07 [*]
%	Femelle	44,4±1,57	44,37±2,6	44,68±0,36	49,09±1,08 [*]
VGM	Mâle	60,73±0,91	56,8±1,16	55,3±0,42	56,93±0,76
FL / cell	Femelle	60,28±1,35	55,5±1,35	57,2±1,03	55,07±1,03
TCMH	Mâle	16,9±0,29	16,65±0,68	16,68±0,14	16,8±0,17
	Femelle	17,3±0,44	16,97±0,29	17,03±0,23	17,1±0,23
CCMH	Mâle	27,85±0,01	29,6±0,58 [*]	30,15±0,39 ^{**}	31,03±0,58 ^{**}
g / dl	Femelle	27,03±0,22	30,07±0,5	30,08±0,17	31,1±0,36
PLT	Mâle	879±105,9	678±148,7	512±166,2	769,5±63,55
x10³ / mm³	Femelle	1022±20,1	567±243,4	862,8±144,9	629±157
LYM	Mâle	13,34±3,59	9,54±0,6	6,73±1,5	6,11±0,95
%	Femme	10,58±1,88	4,461±3,2	6,73±2,7	8,03±0,9

Les données ont été exprimées par moyenne ± SEM; ns (Non significatif), p < 0,05: (*); p < 0,01 : (**).Globules blancs (x10³/ mm³); GB, Globules rouges (x10⁶ /mm³); Hémoglobine (g / dl) ; Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g / dl); Plaquettes (x10³ / mm³) ; Lymphocyte(%); Hématocrite (%);Volume globulaire moyen (FL / cell).

Tableau XII : Effet des différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm sur les paramètres biochimiques des rats après 28 jours de traitement

Lots	Glycémie (mmol/L)		Urée (mmol/L)		Créatinine (µmol/L)		ASAT (U/I)		ALAT (U/I)		Triglycérides (g/L)		HDL (g/L)		CHO (g/L)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Témoins (eau distillée)	0,74	0,74	0,31	0,39	3	4	246,4	191,2	45,25	30,63	0,82	1,02	42,63	58,7	0,57	0,71
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
200 mg/kg/pc	0,10	0,75	0,03	0,03	0,41	0,00	11,12	25,23	3,33	7,21	0,09	0,19	2,45	3,4	0,56	0,01
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
400 mg/kg/pc	0,79	0,79	0,24	0,41	2,75	4	163,7	221,7	37,58	33,27	0,69	0,9	45,95	45	0,67	0,65
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,04	0,02	0,02	0,04	0,25	0,41	44,85	22,8	4,47	1,29	0,09	0,07	1,8	4,65	0,02	0,01
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,88	0,86	0,30	0,37	2,75	3,75	205,6	202,1	42,48	31,18	0,9	0,69	43,93	45,53	0,62	0,58
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,05	0,06	0,03	0,02	0,25	0,25	16,47	19,71	2,58	3,39	0,04	0,09	3,77	3,1	55,9	0,03
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,82	0,78	0,25	0,31	3	3	236,9	244,2	43,1	37,63	0,89	0,93	40,25	49,22	0,6	0,65
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,03	0,06	0,01	0,03	0,0	0,0	18,49	38,76	2,53	3,09	0,04	0,12	2,37	5,19	0,04	0,08
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

Les données sont exprimées par moyenne \pm SEM., (n = 6) ; ns (Non significatif); ASAT : Aspartate aminotransférase (U / l) ; ALAT : Alanine aminotransférase (U / l) Urée (mg / l) ; CEAT, Créatine (mg/l) ; CHOL : Cholestérol (g / l); TG : Triglycérides (g / l) et HDL : Lipoprotéines de haute densité.

M : Mâle / **F** : Femelle

Tableau XIII : Effets des différentes doses de l'extrait hydroéthanolique 70 % de ZHm sur les paramètres biochimique des rats après 28 jours de traitement

Lots	Glycémie (mmol/L)		Urée (mmol/L)		Créatinine (µmol/L)		ASAT (U/l)		ALAT (U/l)		Triglycérides (g/L)		HDL (g/L)		CHO (g/L)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
TEMOIN	0,74±	0,75	0,31	0,39	3	4	246,4	191,2	45,2	30,6	0,82	1,02	42,63	58,7	0,57	0,71
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
200 mg/kg/pc	0,10	0,75	0,03	0,03	0,41	0,00	11,1	25,2	3,33	7,21	0,09	0,19	2,45	3,4	0,56	0,01
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
400 mg/kg/pc	0,87	0,84	0,25	0,31	3	3,5	212,6	220	38,9	27,6	0,89	1,33	35,93	46,75	0,58	0,6
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,66	0,09	0,01	0,03	0,01	0,02	7,22	30,1	1,4	1,87	0,09	0,87	5,08	3,04	0,05	0,04
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
400 mg/kg/pc	0,83	0,89	0,31	0,34	3,5	3,25	321,6	202,1	38,2	22,5	1,03	1,31	37,55	53,9	0,57	0,67
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,06	0,07	0,03	0,04	0,02	0,01	7,2	11,6	6,44	3,05	0,27	0,17	9,2	5,75	0,12	0,05
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
800 mg/kg/pc	0,74	0,75	0,29	0,29	3	4	215,2	203,7	48,9	37,	1,54	1,43	50,65	52,23	0,68	0,66
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,03	0,04	5,9	0,01	0,01	0,01	5,07	18,2	3,32	2,07	0,17	0,16	1,8	3,41	0,01	0,05

Les données sont exprimées par moyenne ± SEM., (n = 6) ; ns (Non significatif); ASAT : Aspartate aminotransférase (U / l) ; ALAT : Alanine aminotransférase (U / l) Urée (mg / l) ; CEAT, Créatine (mg/l) ; CHOL : Cholestérol (g / l); TG : Triglycérides (g / l) et HDL : Lipoprotéines de haute densité :

M : Mâle / **F** : Femelle

Tableau XIV : Effet des extraits des plantes sur la variation des ions sanguins

Extraits	Lots	P		Ca		Mg	
		M	F	M	F	M	F
	Témoins (eau distillée)	75,25 ± 3,5	70,65 ± 2,98	9,6 ± 0,31	10,25 ± 0,27	2,85 ± 0,11	2,95 ± 0,24
Etrait aqueux (DZHm)	200 mg/kg/pc	86,15 ± 8,9	68 ± 1,3	9,8 ± 0,56	9,45 ± 0,54	2,76 ± 0,72	2,65±0,11
	400 mg/kg/pc	76,53 ± 3,93	74,5 ± 5,88	9,75 ± 0,18	10,28 ± 0,32	2,245± 0,72	2,95±0,14
	800 mg/kg/pc	76,3 ± 2,91	76,6 ± 2,96	9,5 ± 0,16	9,87±0,22	2,99 ± 0,23	2,87±0,07
Etrait	200 mg/kg/pc	79,35 ± 3,43	64,1 ± 1,9	9,55 ± 0,3	10,1±0,10	2,2±0,07*	2,21±0,08*
Hydroéthanolique (EZHm)	400 mg/kg/pc	80,58 ± 6,27	71,1 ± 2,75	9,57 ± 0,28	10,15± 0,10	2,16 ± 0,05*	2,08 ± 0,05*
	800 mg/kg/pc	80,9 ± 1,96	80,1 ± 3,8	9,82 ± 0,17	9,47 ± 0,24	1,88 ± 0,29*	2,09± 0,11*

Les données ont été exprimées par moyenne ± SEM; ns (Non significatif), p < 0,05: (*). Phosphore (P) ; Calcium (Ca) ; magnésium (Mg)

M : Mâle / **F** : Femelle

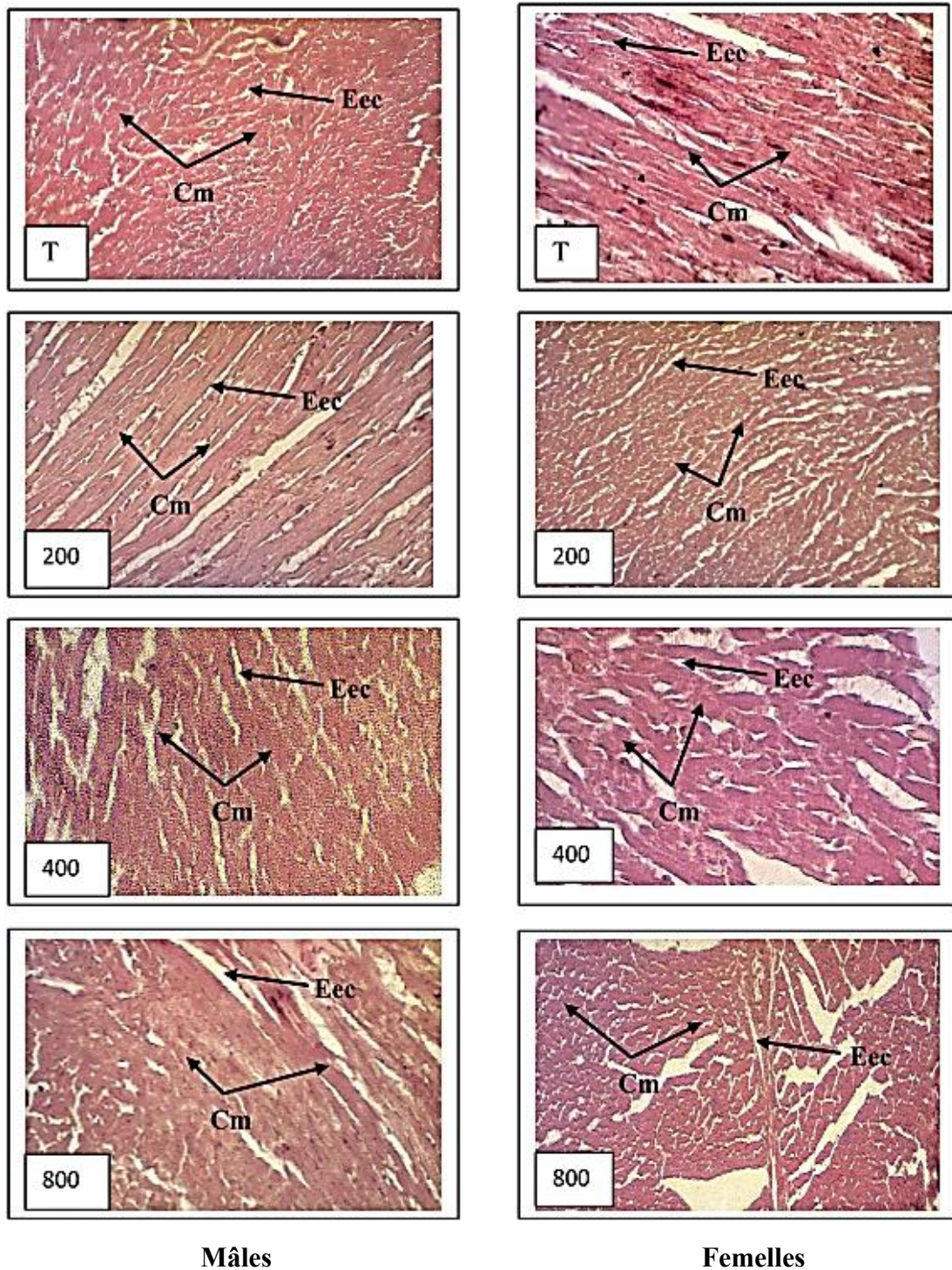


Figure 14 : Micrographie du cœur des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm

Cm : Cardiomyocytes ; **Eec :** Espace extracellulaire
 Coloration : Hématoxyline-éosine ; grossissement : x100

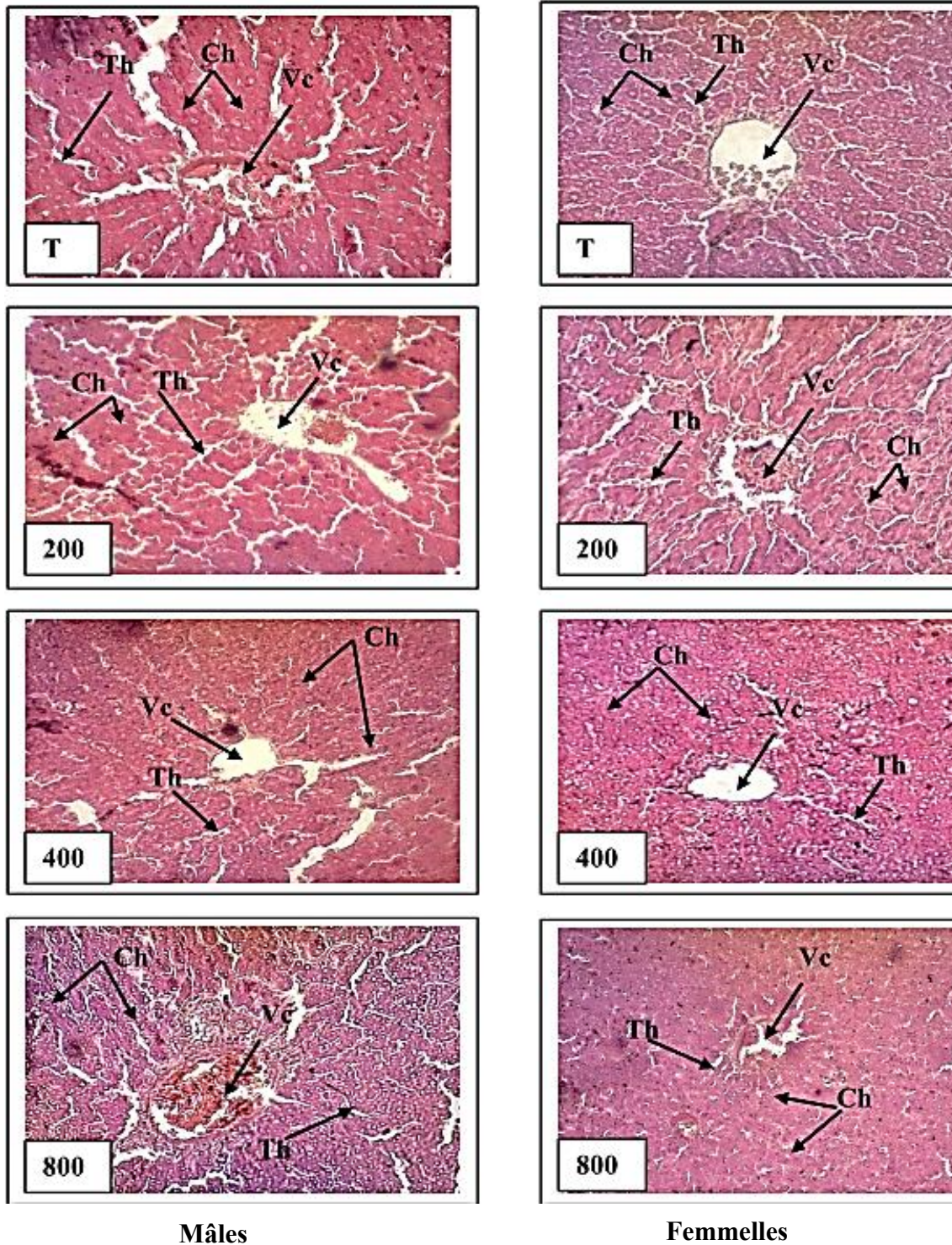
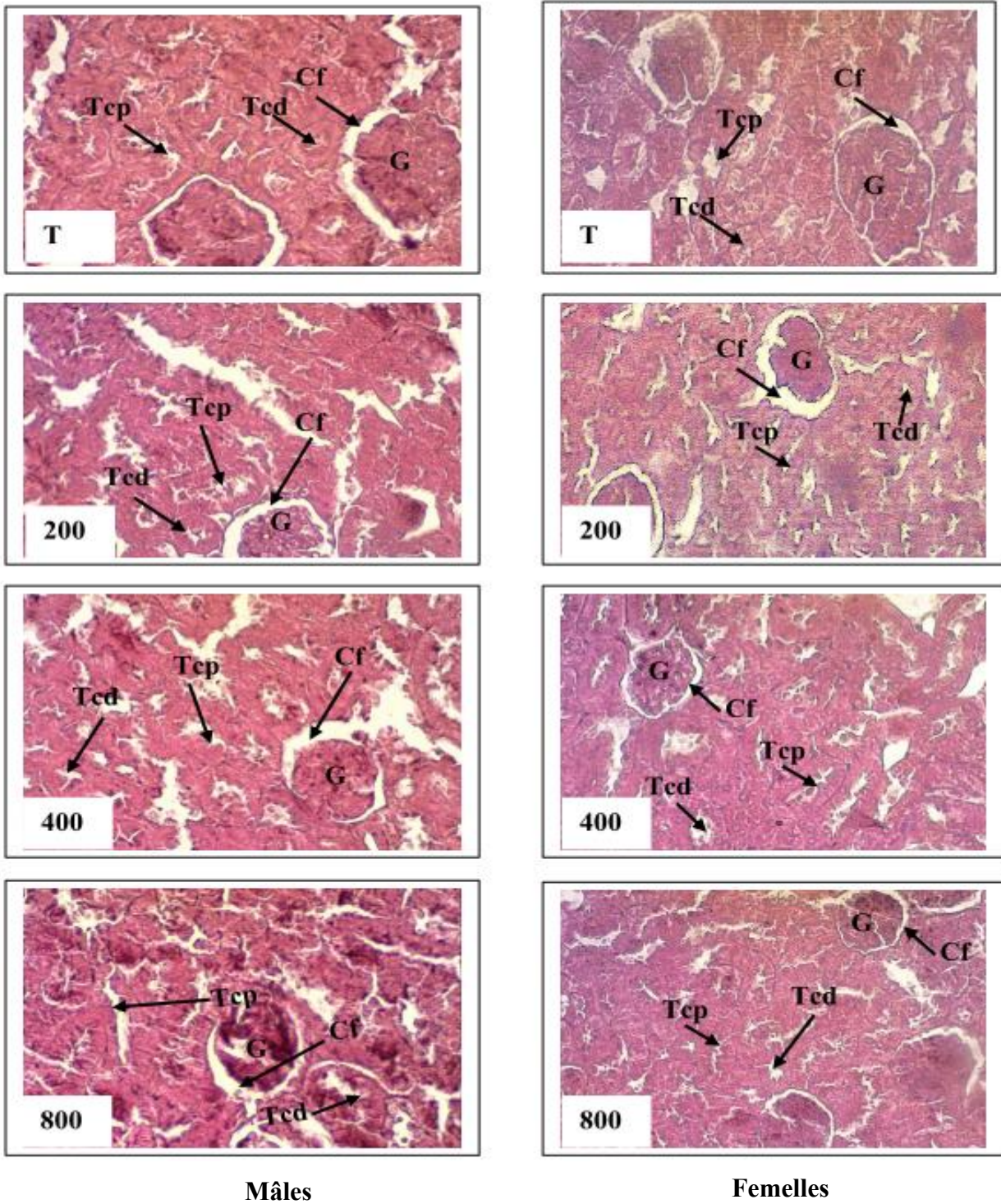


Figure 15 : Micrographie du foie des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux de ZHm

Ch : Cellules hépatiques ; **Th :** Travées d'hépatocytes ; **Vc :** Veine centro-lobulaire
 Coloration : Hématoxyline-éosine ; grossissement : x100



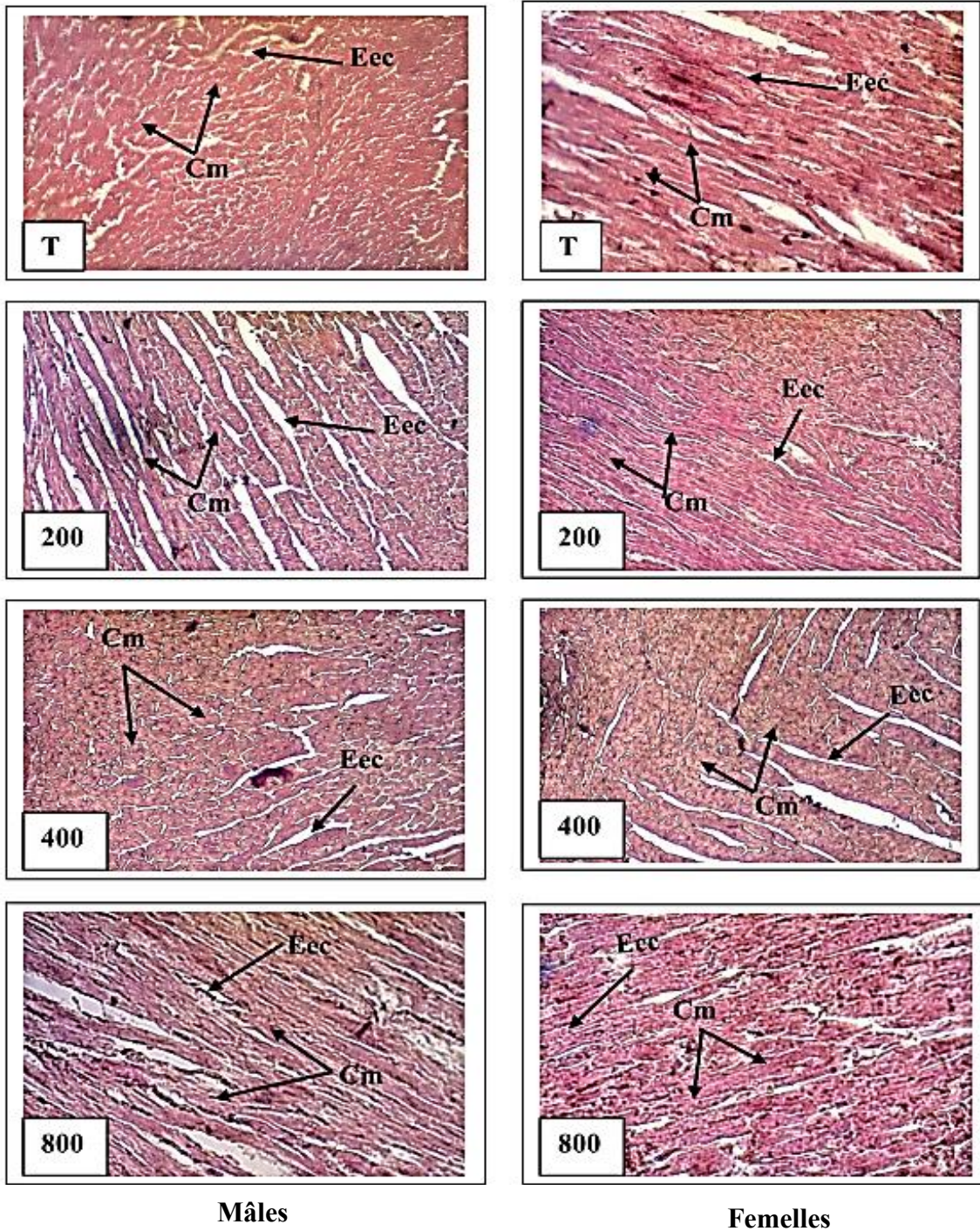
Mâles

Femelles

Figure 16 : Micrographie du rein des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux de ZHM

Cf : Chambre de filtration ; **G :** Glomérule ; **Tcd :** Tube contourné distal ; **Tep :** Tube contourné proximal

Coloration : hématoxyline-éosine ; grossissement : x100



Mâles

Femelles

Figure 17 : Micrographie du cœur des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm

Cm : Cardiomyocytes ; **Eec :** Espace extracellulaire
 Coloration : Hématoxyline-éosine ; grossissement : x100

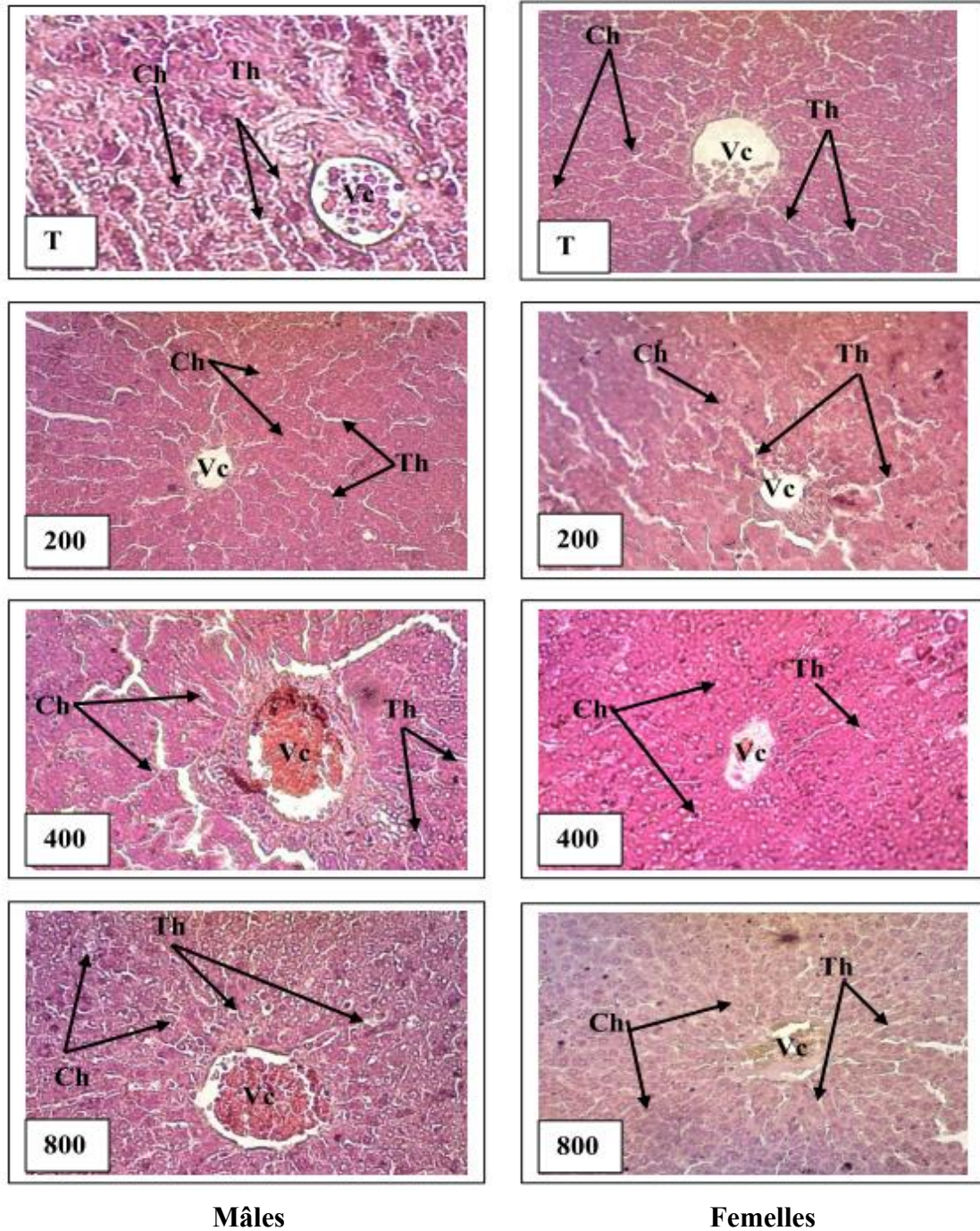
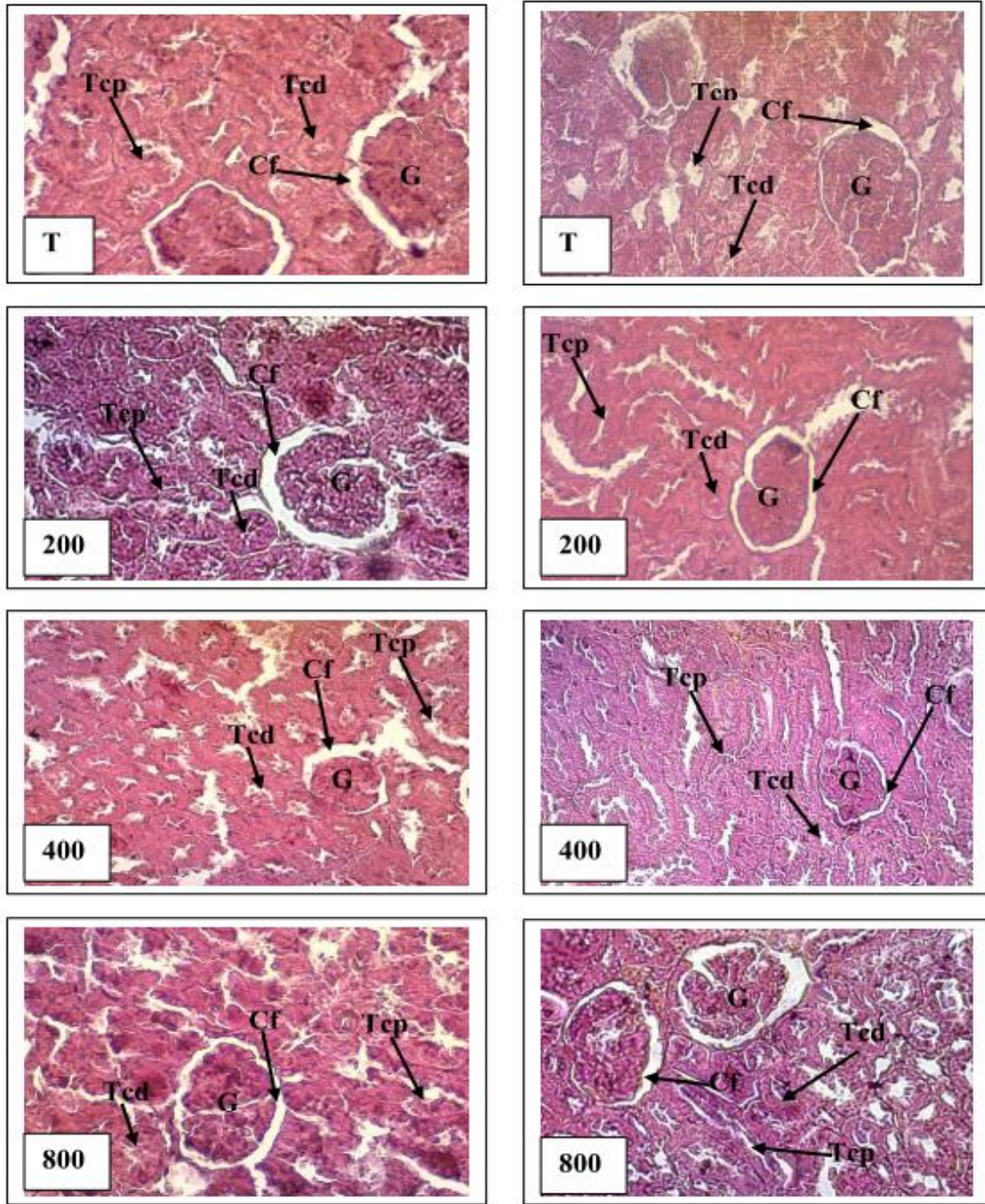


Figure 18 : Micrographie du foie des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm

Ch : Cellules hépatiques ; **Th** : Travées d'hépatocytes ; **Vc** : Veine centro-lobulaire
 Coloration : Hématoxyline-éosine ; grossissement : x100



Mâles

Femelles

Figure 19 : Micrographie du rein des rats témoins et rats traités avec les différentes doses de l'extrait hydroéthanolique de ZHm

Cf : Chambre de filtration ; **G** : Glomérule ; **Tcd** : Tube contourné distal ; **Tcp** : Tube contourné proximal

Coloration : hématoxyline-éosine ; grossissement : x100

3-6- Effet des extraits de plantes sur l'inhibition de la falciformation

La **figure 20** illustre les résultats de l'étude de l'effet du métabisulfite de sodium sur les hématies SS et de l'activité antifalcémiant du décocté et de la phénylalanine sur ces hématies.

➤ Effet du métabisulfite de sodium

Le traitement des érythrocytes HbS avec du métabisulfite de sodium (2 %, p/v) a entraîné une augmentation significative du taux de drépanocytes entre 0 et 120 min d'observation. Ce qui explique l'allure croissante de la courbe du taux de drépanocytes en fonction du temps. Le nombre moyen de drépanocytes est passé de 56,67 à 98,38 entre 30 et 120 min respectivement. Le taux maximum de drépanocytes a été de 98,33 %. La falciformation des érythrocytes est temps-dépendant. En effet, le taux de drépanocytes augmente dans le temps.

3-6-1- Effet de DZHm sur l'inhibition de la falciformation en présence du métabisulfite de sodium

➤ Effet des substances testées à 5 mg/mL

L'extrait DZHm et la phénylalanine ont des activités similaires. Entre 0 et 120 min d'observation, ces deux substances ont entraîné une baisse progressive du taux de drépanocytes.

Cette baisse du pourcentage des cellules falciformes est significative entre 0 et 120 min pour tous les extraits et la phénylalanine aux différentes concentrations. La courbe a une allure décroissante, contrairement à celle des érythrocytes traités avec 2 % de métabisulfite uniquement. Le nombre moyen de drépanocytes a été de 47,67, 43,33, 40,33 et 32,00 à 30, 60, 90 et 120 min respectivement, correspondant à une activité inhibitrice de DZHm au cours du temps de 15,88 %, 38,09 %, 54,68 % et 67,45 % à 30, 60, 90 et 120 min respectivement. Tandis que le nombre moyen de drépanocytes en présence de la phénylalanine était respectivement de 46, 42,33, 38, 30,67 soit un pourcentage d'inhibition de 25,29 %, 42,85 %, 58,05 % et 68,81 % à 30, 60, 90 et 120 min. Aucune différence significative (à $p > 0,05$) n'a été observée entre les activités de la phénylalanine et DZHm à la concentration de 5 mg/mL.

➤ Effet des substances testées à 10 mg/mL

A 10 mg/mL de DZHm, le nombre moyen de drépanocytes a été de 21,00, 18,54, 15,50 et 12,4 correspondant à une activité inhibitrice de 62,94, 73,51, 82,58 et 87,35 %. Et celle de la phénylalanine était de 56,47 %, 70 %, 79,16 % et 85,07 % pour un nombre moyen de drépanocytes de 24,67, 21, 18, 54 et 14,68 à 30, 60, 90 et 120 min respectivement.

➤ Comparaison entre les activités des substances testées aux doses 5 et 10 mg/mL

Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les activités des deux substances (phénylalanine et DZHm) testées à 5 mg/mL et à 10 mg/mL. Au bout de 30 min du test, la différence d'activité est de 31,18 % pour la phénylalanine et 47,06 % pour DZHm.

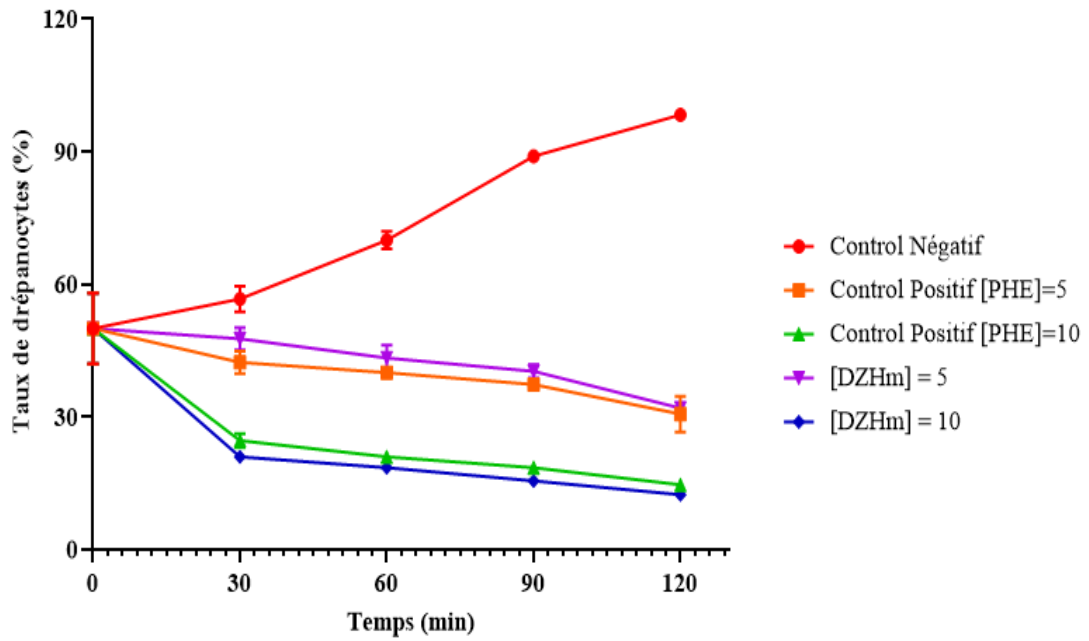


Figure 20 : Effet de DZHm et de la phénylalanine sur l'évolution du taux de drépanocytes en présence du métabisulfite de sodium en fonction du temps de contact

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

DZHm : Décocté du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

L'activité inhibitrice du DZHm à 10 mg/mL est plus élevée que celle du DZHm à 5 mg/mL à chaque 30 min pendant 120 min. Il ressort donc qu'à 10 mg/mL, les 2 substances sont nettement plus actives. L'augmentation de la concentration de l'extrait entraîne donc un meilleur effet d'où une diminution forte du taux de drépanocytes. L'activité inhibitrice du DZHm était concentration-dépendante.

3-6-2- Effet de EZHm sur l'inhibition de la falciformation en présence du métabisulfite de sodium

➤ Effet d'EZHm à 5 mg/mL

L'extrait EZHm et la phénylalanine ont des activités homologues. Entre 0 et 120 min d'observation, ces deux substances ont entraîné une baisse progressive du taux de drépanocytes.

Cette baisse du pourcentage des cellules falciformes est significative entre 0 et 120 min pour l'extrait hydro-éthanolique et la phénylalanine aux différentes concentrations testées.

Au bout de 30 min d'observation, le pourcentage d'inhibition atteint 31,17 % et augmente progressivement pour atteindre des valeurs de 50,47 %, 65,16 % et 75,18 % à 60, 90 et 120 min respectivement. Cela équivaut à un nombre de drépanocytes respectif de 39, 34, 67, 31 et 28,33 à 30, 60, 90 et 120 min.

➤ Effet d'EZHm à 10 mg/mL

Le pourcentage d'inhibition a été de 56,47 % pour la phénylalanine et 58,82 % pour EZHm au bout de 30 min. Cela correspond à un nombre de drépanocytes de 24,67 pour la phénylalanine et 23,33 pour EZHm. Après 30 min, le nombre de drépanocytes continue de baisser progressivement dans le temps.

De 60 à 120 min, le nombre de drépanocytes a été de 20, 17,33 et 12,5 soit des pourcentages d'inhibition respectifs de 71,42 %, 80,52 % et 87,28 %. Bien qu'il n'y ait pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les activités de la phénylalanine et EZHm, il faut noter que l'activité d'EZHm est supérieure à celle de la phénylalanine. Les activités inhibitrices de l'extrait hydro-éthanolique (EZHm) et de la phénylalanine sont temps-dépendant, car le taux de drépanocytes baisse progressivement dans le temps (**figure 21**).

Plus les deux concentrations de solution d'EZHm sont restées longtemps en contact avec les érythrocytes SS, plus l'activité inhibitrice de la falciformation était élevée jusqu'à 120 min. De plus, la valeur d'inhibition d'EZHm à 10 mg/mL (87,28 %) était supérieure à celle d'EZHm à 5mg/mL (71,18 %). L'augmentation de la concentration de l'extrait a conduit à un meilleur effet inhibiteur.

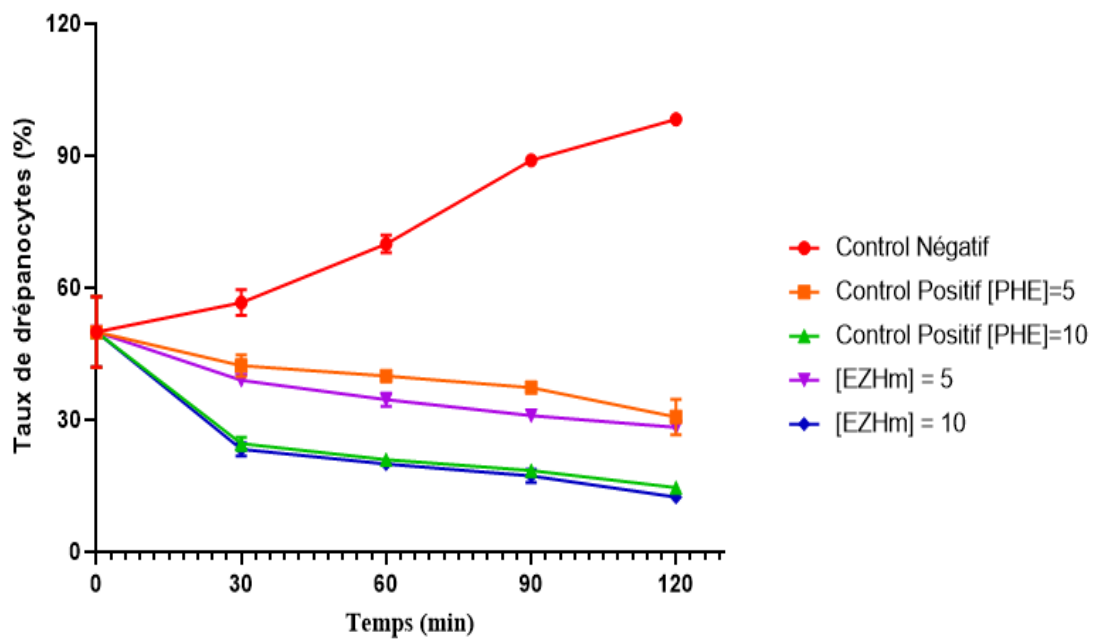


Figure 21 : Effet d'EZHm et de la phénylalanine sur l'évolution du taux de drépanocytes en présence du métabisulfite de sodium en fonction du temps de contact

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

EZHm : Extrait hydroéthanolique du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

➤ **Comparaison entre les activités des substances testées**

Les résultats de l'évaluation de l'activité antifalcémiant des différents extraits de ZHm et la phénylalanine montrent que les extraits ont une activité inhibitrice sur les globules rouges falciformes en présence du métabisulfite de sodium. L'analyse des résultats montre que toutes les substances testées ont significativement baissé (à $p < 0,001$) le nombre de drépanocytes à toutes les concentrations testées. Après 120 min les pourcentages d'inhibition de la falciformation du décocté (DZHm), de l'extrait hydro-éthanolique et de la phénylalanine à la concentration 10 mg/mL ont été de 87,35 % pour DZHm, 87,28 % l'extrait hydro-éthanolique contre 85,07 % pour la phénylalanine. Quant à la concentration de 5 mg/mL, le pourcentage d'inhibition correspondait à 67,45 %, 71,18 % et 68,81 % respectivement. Il ressort de ces résultats que les activités inhibitrices des substances testées sont temps-dépendant et concentrations-dépendante, car le taux de drépanocytes baisse progressivement dans le temps en fonction de la concentration.

3-7- Effet des extraits de plantes sur la fragilité corpusculaire moyenne des globules rouges SS

Les courbes du pourcentage d'hémolyse en fonction des concentrations salines en présence des extraits ont été résumées par la **figure 22**. Pour une meilleure compréhension de l'interprétation des résultats, les deux extraits ont été mis dans le même graphique en fonction des concentrations.

➤ **Effets des concentrations croissantes de NaCl sur les érythrocytes SS**

Dans l'ensemble, toutes les courbes ont des allures progressivement décroissantes, montrant que le nombre de cellules lysées diminue progressivement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. En présence de NaCl seul, le taux de cellules lysées est de 100 % en milieu très hypotonique (1 mg/mL). En fin d'observations, ce taux est de 27 % en situation d'isotonies. Cela montre que, plus la concentration de NaCl diminue, plus l'hémolyse est favorisée.

➤ **Effets de la phénylalanine sur les érythrocytes SS**

La présence de la phénylalanine dans le milieu réactionnel composé de NaCl aux concentrations croissantes (1, 2, 3, 4, 5, 5,5, 6, 7 et 9 mg/mL), limite le taux de cellules lysées à 87 %, ce qui équivaut à une inhibition de 13 % des érythrocytes SS en milieu très hypotonique (1 mg/mL). A 2 % de NaCl, on observe une forte inhibition de l'hémolyse à 26,66 % des érythrocytes SS. Cette inhibition est progressivement croissante jusqu'à atteindre la zone d'isotonie (0,9 % NaCl) **ou** le taux d'inhibition atteint 100 %. Le taux de cellules hémolysées est alors nul. Aux concentrations de 0,625 et 1,25 mg/mL de la phénylalanine, le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse était respectivement de $42,91 \pm 0,31$ et $9,09 \pm 1$ à 5 % de NaCl. La phénylalanine est donc capable de protéger les globules rouges des lyses à toutes les concentrations testées, cette activité inhibitrice a été de 32 % en fin de période d'expérimentation.

➤ Effets des extraits sur les érythrocytes SS

L'analyse des résultats montre qu'en présence de l'extrait aqueux aux concentrations de 0,625 et 1,25 un effet inhibiteur de l'hémolyse a été observé soit $69,52 \pm 1,90$ % et $54,29 \pm 1,35$ % pour DZHm à 3 mg/mL de NaCl. A cette même concentration de la solution de NaCl, on note également un effet inhibiteur de l'extrait hydroéthanolique aux concentrations de 0,625 et 1,25 mg/mL allant de $52,7 \pm 0,94$ % à $40,82 \pm 2,35$ % respectivement. À la concentration 3 mg/mL de NaCl, une baisse hautement significative ($p < 0,0001$) du pourcentage d'hémolyse a été observée avec les concentrations des extraits de ZHm comparée à celle du contrôle NaCl ($76,09 \pm 0,65$ %).

À la concentration 5 mg/mL de NaCl, les différents extraits de ZHm diminuent significativement ($p < 0,001$) le pourcentage d'hémolyse comparé au contrôle NaCl. A la concentration 0,625 de DZHm et d'EZHm, cette baisse a été respectivement de $36,36 \pm 2,09$ et de $34,29 \pm 2,08$; tandis qu'à la concentration 1,25 mg/mL d'extraits testés, cette baisse était respectivement de $35,15 \pm 5,28$ % et $21,67 \pm 4,41$ % pour DZHm et EZHm. Les différentes concentrations (0,625 et 1,25 mg/mL) de DZHm et d'EZHm ont produit une inhibition de l'hémolyse des globules rouges HbSS, même aux plus faibles concentrations allant de 1 à 5 mg/mL de NaCl.

En milieu isotonique (9 mg/mL de NaCl), les résultats montrent également une baisse significative ($p < 0,0001$) de l'hémolyse aux concentrations de 0,625 et 1,25 mg/mL pour tous les extraits testés et la Phénylalanine. Cette baisse était de $12,63 \pm 1,33$ % et de $4,61 \pm 0,76$ % pour DZHm ; $0,00 \pm 4,44$ % et $-31,67 \pm 0,89$ % pour EZHm puis de $-3,84 \pm 2,22$ % et $-7,69 \pm 1,15$ pour la phénylalanine. L'allure des différentes courbes de l'hémolyse obtenue sur le sang SS (**Figure 22**) montre que l'inhibition de l'hémolyse a été remarquée pour toutes les concentrations des substances testés d'une manière dose-dépendante.

La fragilité corpusculaire moyenne (FCM) qui est la concentration de la solution saline causant 50 % d'hémolyse des érythrocytes est un paramètre déterminé graphiquement à partir de la courbe représentée par le pourcentage d'hémolyse en fonction de la concentration de NaCl (mg/mL). La détermination graphique des valeurs de CI_{50} de chaque substance testée montre que la phénylalanine et les extraits de ZHm inhibent l'hémolyse des érythrocytes SS induite par le NaCl aux plus petites concentrations.

En effet, les valeurs des CI_{50} de DZHm et EZHm à la concentration 0,625 mg/mL étaient de 3,23 et 3,9. Ces valeurs étaient relativement supérieures à celles des CI_{50} de DZHm et de l'EZHm à la concentration 1,25 mg/ml, qui étaient respectivement de 2,43 et de 2,39. L'effet protecteur contre l'hémolyse des érythrocytes HbSS des deux extraits était meilleur, lorsque la concentration de ceux-ci augmentait. Il n'y avait pas de différence significative ($p > 0,05$) entre l'activité inhibitrice des deux

extraits aux concentrations 0,625 et 1,25 mg/mL par rapport à la phénylalanine dont les valeurs des CI_{50} ont été de 4 et 3,30 aux concentrations testées.

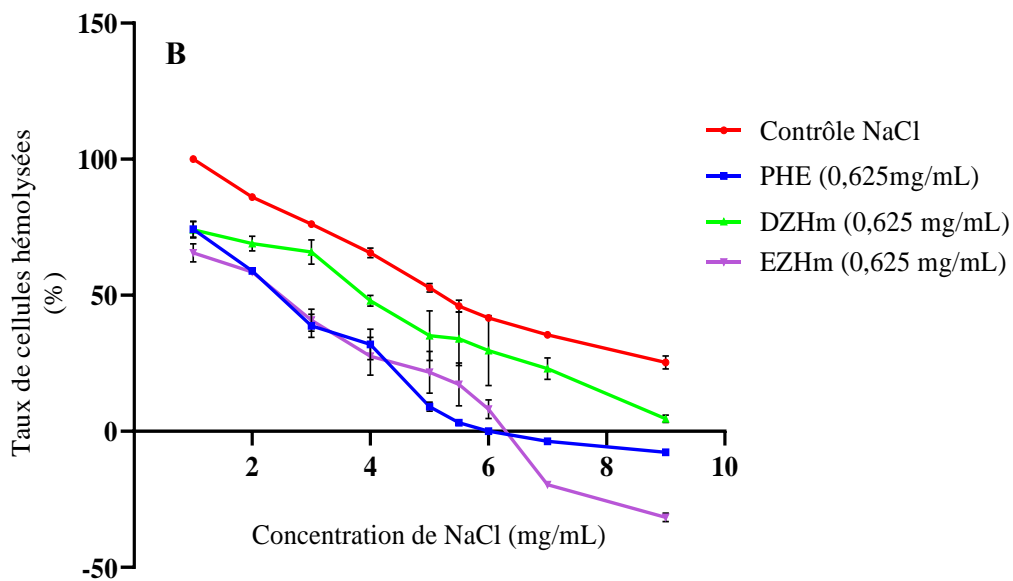
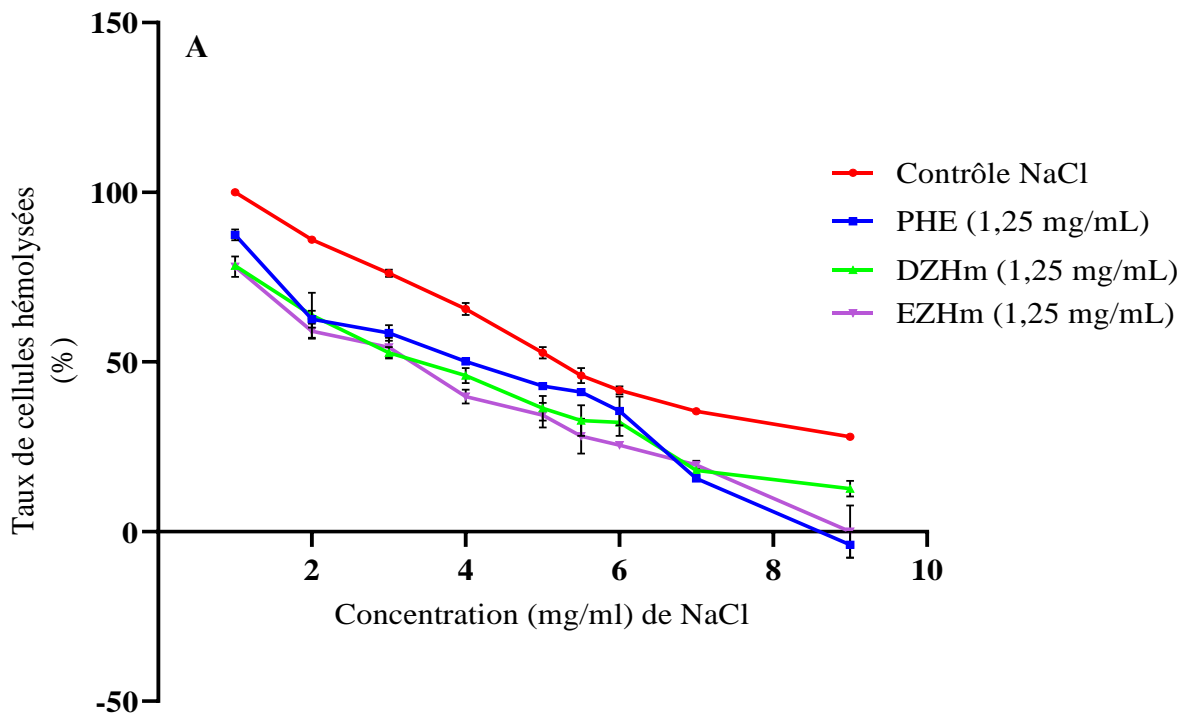


Figure 22: Evolution du taux de cellules hémolysées en présence des concentrations uniques des extraits et la phénylalanine en présence des concentrations croissantes de NaCl

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

A) Effet protecteur des extraits et de phénylalanine à la concentration 1,25 mg/mL

B) Effet protecteur des extraits et de la phénylalanine à la concentration 0,625 mg/mL

3-8- Potentiel antianémique des extraits de la recette ZHm

3-8-1- Effet des extraits de ZHm sur les paramètres hématologiques

L'administration de la phénylhydrazine (PHZ) sur une période de deux jours chez les animaux provoque une diminution significative ($p < 0,05$) du nombre d'érythrocytes (globules rouges) chez les sept groupes d'animaux. Le taux d'hémoglobine des animaux traités était de 7,23 g/dL, cette valeur est deux fois moindre que celle des rats normaux (13,37 g/dL) (**Figure 23**). Quant à la variation du nombre de globules rouges, les valeurs passent de $7,23 \times 10^6/\mu\text{L}$ pour les rats normaux à $3,85 \times 10^6/\mu\text{L}$ pour les rats ayant reçu la phénylhydrazine (**Figure 24**) et le taux d'hématocrite passe à 23,1 %, tandis que celui des rats normaux est de 43,12 % (**Figure 25**). La phénylhydrazine (PHZ) diminue à la fois le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et le taux d'hématocrite.

Effet de DZHm sur les paramètres hématologiques

Comparativement aux témoins non traités, l'administration des différents extraits de ZHm et la vitamine B12 a induit une augmentation significative du taux d'hémoglobine (Hb), du nombre de globule rouge (GR) et du taux d'hématocrite (Hte) à partir du 7^e jour de traitement. En effet, le taux d'hémoglobine des rats non traités était 9 g/dL, ceux des rats traités ont été de 11,43 g/dL pour les rats ayant reçu la Vit B12, 10,53 g/dL et 11,4 g/dL pour les rats ayant reçu l'extrait aqueux aux doses de 400 et 800 mg /kg de pc respectivement. Il n'y a pas de différence significative entre le taux d'hémoglobine des rats traités avec la Vit B12 et ceux des rats traités avec les différentes doses de l'extrait aqueux (**Figure 23**).

En ce qui concerne le nombre de globules rouges, une différence significative ($p < 0,0001$) a été observée au 7^e jour entre le nombre des témoins anémiés et ceux des rats traités avec les extraits. Le nombre de globules rouges a été de $4,46 \times 10^6/\mu\text{L}$; $5,74 \times 10^6/\mu\text{L}$ pour les rats anémiés, les rats ayant reçu la Vit B12 et ceux des rats traités avec l'extrait aqueux aux doses de 400 et 800 mg /kg de pc respectivement ont été de $5,44 \times 10^6/\mu\text{L}$ et $5,52 \times 10^6/\text{ml}$ (**Figure 24**).

Quant aux valeurs du taux d'hématocrite, elles étaient de 26,93% ; 38,7% ; 36,57% et 38,07% pour les témoins anémiés, les rats traités avec la Vit B12 et l'extrait aqueux aux doses de 400 et 800 mg /kg de pc respectivement (**Figure 25**). Le traitement des rats avec les différentes substances a généré une augmentation significative ($p < 0,01$) du taux d'hématocrite des rats traités après 7 jours.

De façon générale, tous les rats traités avec les extraits et la vitamine B12 ont connu progressivement un rétablissement des paramètres hématologiques jusqu'au 21^{ème} .

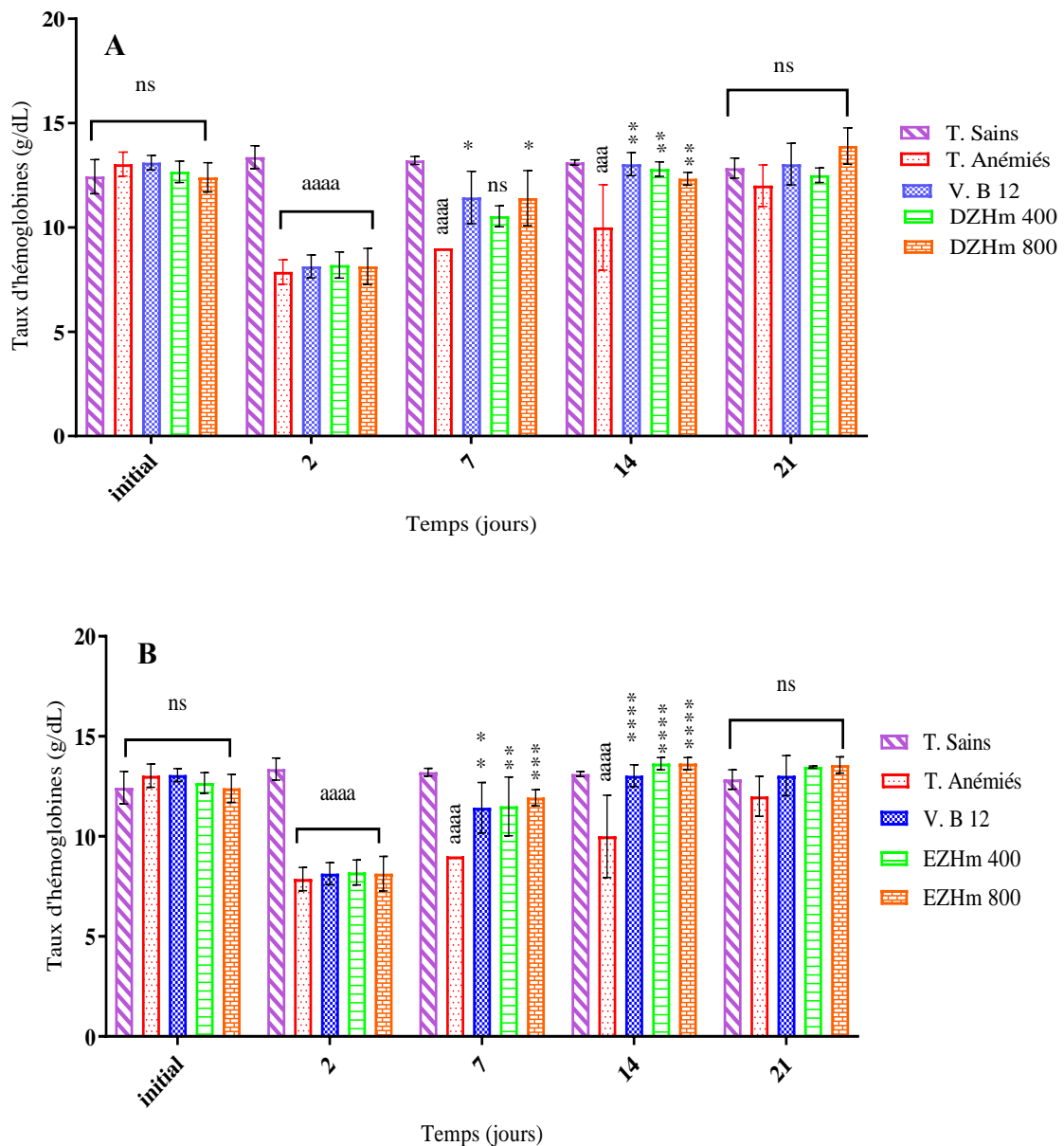


Figure 23 : Effet des extraits de ZHm sur le taux d'hémoglobine avant et après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez le rat

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

(^{aaaa}) ($p < 0,0001$) représente les différences significatives entre les témoins sains et les rats anémiés

(*) ($p < 0,05$) ; (**) ($p < 0,01$) ; (***) ($p < 0,001$) ; (****) ($p < 0,0001$) représentent les différences significatives entre rats anémiés et les rats traités. (ns) aucune différence n'a été observé entre les rats traités et les rats non traités

(T) : Témoin / (V B) : Vitamine B

DZHm / EZHm : Décocté / Extrait hydroéthanolique du mélange de *Z. lepreurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

A) Evolution du taux d'hémoglobine des rats traités avec l'extrait aqueux

B) Evolution du taux d'hémoglobine des rats traités avec l'extrait hydroéthanolique

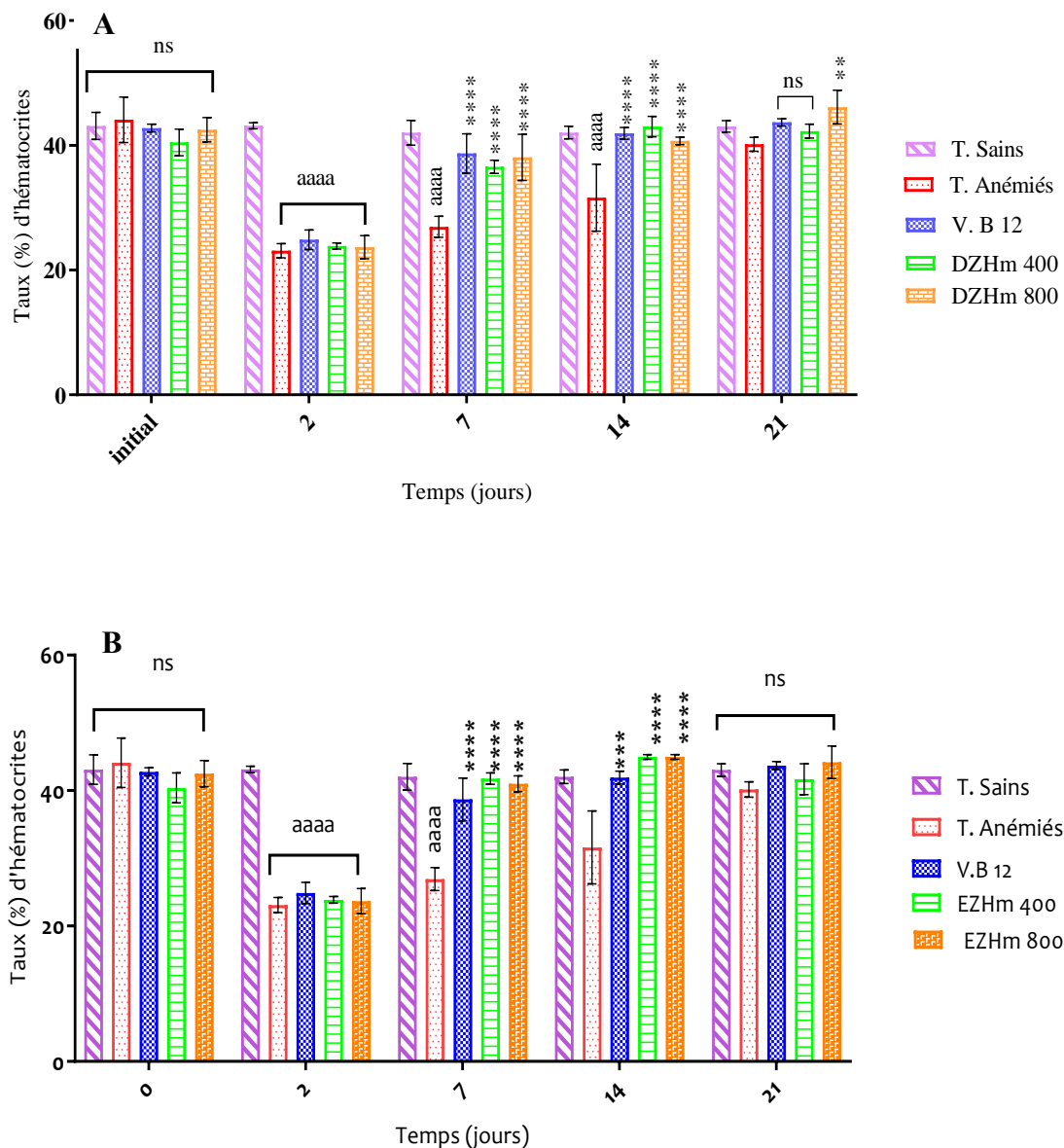


Figure 25 : Effet des extraits de ZHm sur le taux d'hématocrites avant et après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez le rat

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

(^{aaaa}) ($p < 0,0001$) représente les différences significatives entre les témoins sains et les rats anémiés

(*) ($p < 0,05$); (**) ($p < 0,01$); (***) ($p < 0,001$); (****) ($p < 0,0001$) représentent les différences significatives entre rats anémiés et les rats traités

(T) : Témoin / (V B) : Vitamine B

DZHm / EZHM : Décocté / Extrait hydroéthanolique du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

A) sTaux d'hématocrite des rats traités avec l'extrait aqueux

B) Taux d'hématocrite des rats traités avec l'extrait hydroéthanolique

Effet d'EZHm sur les paramètres hématologiques

Avec l'extrait hydro-éthanolique, une différence significative ($p < 0,01$) du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine a été observé au 7^e jour du traitement entre les rats témoins non traités et les rats traités. Le taux d'hémoglobine a été de 11,50 g/dL et 11,93 g/dL pour les rats traités aux doses de 400 et 800 mg /kg pc de l'extrait hydro-éthanolique respectivement. Et le nombre de globules rouges a été de $5,71.10^6/\mu\text{L}$ et $5,60.10^6/\mu\text{L}$ respectivement pour les rats traités aux doses de 400 et 800 mg /kg pc. Pour ce qui est du taux d'hématocrite, les valeurs ont été de 41,77 % et 41 % pour les rats traités aux doses de 400 et 800 mg /kg pc respectivement (**Figures 23, 24 et 25**). Au bout du 7^{ème} jour de traitement, les résultats révèlent que l'administration des extraits aqueux (DZHm) et hydro-éthanoliques (EZHm) aux différentes doses testées permet une récupération rapide des paramètres hématologiques chez les rats traités comparés à ceux des rats témoins.

3-8-2- Effet des extraits aqueux et hydro-éthanolique de ZHm sur le poids des rats

La **figure 26** montre la variation du poids des rats avant induction de l'anémie (J0), après induction de l'anémie avec PHZ (J2) et aux 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} semaines de traitement. Il y a eu une perte de poids chez les rats des six lots traités par la phénylhydrazine au jour J2 (4,88 %). Une augmentation progressive du poids est observée après traitement des rats avec la Vit B12, l'extrait aqueux et l'extrait hydro-éthanolique de ZHm.

La progression du gain de poids est plus forte entre le 2^{ème} et le 4^{ème} jour. Dans l'ensemble, tous les rats ont eu une augmentation progressive de leur poids. Cependant, les rats traités à la vitamine B12 et les extraits ont connu les plus forts gains de poids.

La dose de 400 mg/kg/Pc de l'extrait a induit la plus forte augmentation du gain de poids. De façon générale, la dose de 400 mg/kg/Pc de DZHm a été plus efficace dans l'augmentation du gain de poids.

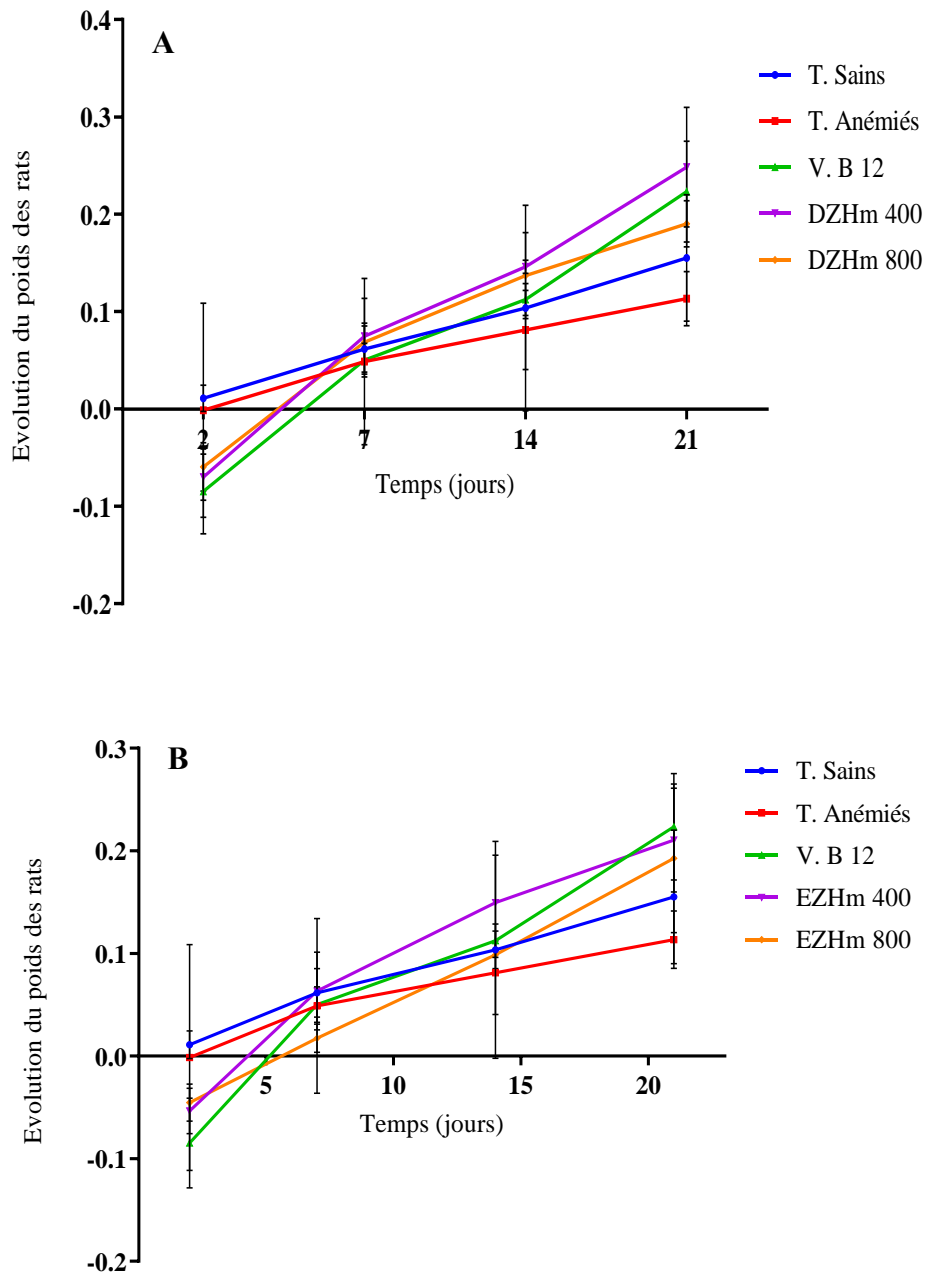


Figure 26 : Effet des extraits de ZHm sur le poids corporel des rats avant et après induction de l'anémie par la phénylhydrazine chez les rats

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

(T) : Témoin / (V B) : Vitamine B

DZHm / EZHm : Décocté / Extrait hydroéthanolique du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

A) Evolution du poids des rats traités avec l'extrait aqueux

B) Evolution du poids des rats traités avec l'extrait hydroéthanolique

3-9- Pouvoir analgésique des extraits de la recette ZHm

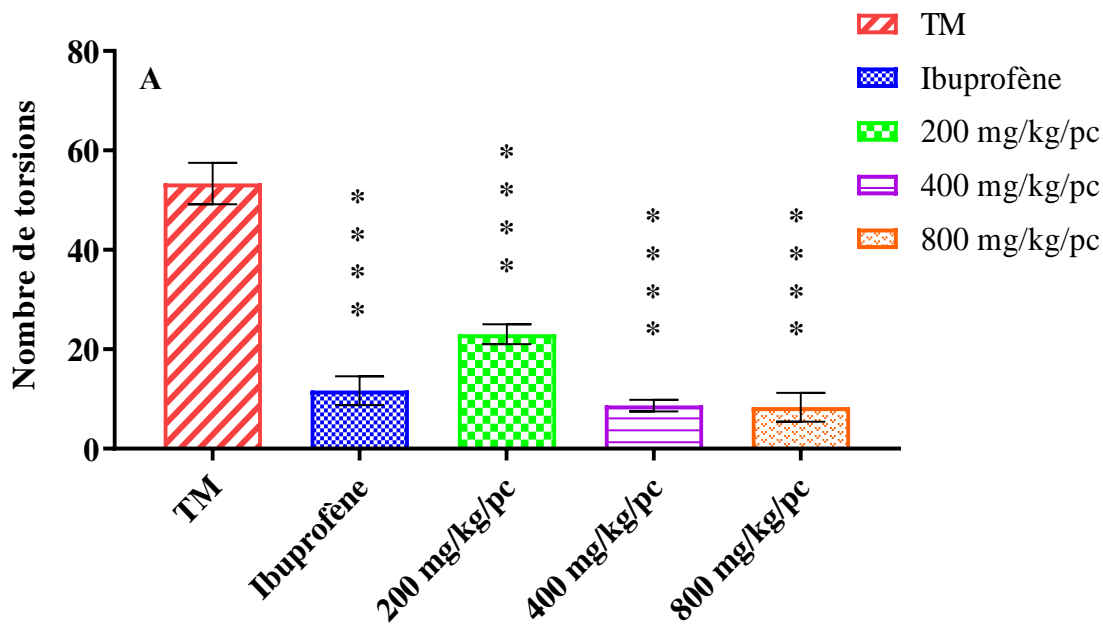
3-9-1- Effet analgésique de DZHm sur les contorsions

L'activité analgésique a été évaluée selon le test à l'acide acétique (stimulus chimique). La **figure 27** résume la réponse des rats aux douleurs induites par l'acide acétique à 1 %. Durant les 20 min après l'injection de la solution d'acide acétique à 1%, le nombre de crampes abdominales observé chez les rats témoins était de $53,33 \pm 2,40$. Pour les autres substances testées après l'injection de l'acide acétique, le nombre de torsions a été de $11,67 \pm 1,66$; $18,33 \pm 1,66$; $8,66 \pm 3,18$ et $8,33 \pm 1,66$ pour l'Ibuprofène et pour DZHm aux doses respectives de 200, 400 et 800 mg/kg/pc. Le traitement avec l'Ibuprofène a réduit de manière significative le nombre de torsions avec un pourcentage d'inhibition de $78,3 \pm 2,09$. Quant aux rats traités avec les doses de 200, 400 et 800 mg/kg/pc de DZHm, le pourcentage d'inhibition a été de $56,89 \pm 0,64$; $83,28 \pm 6,69$ et de $84,51 \pm 2,80$ respectivement. L'action analgésique de DZHm aux doses de 400 et 800 mg/kg est similaire à celle de l'Ibuprofène à la dose de 100 mg/kg (**Figure 28**).

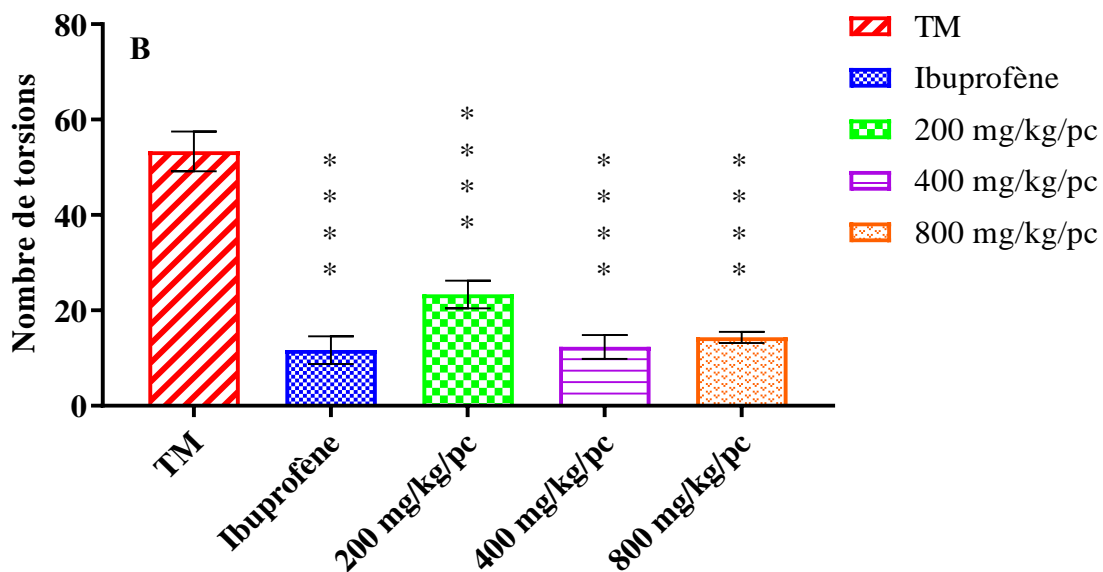
3-9-2- Effet analgésique d'EZHm sur les contorsions

Les résultats de cette étude sont résumés par les **figures 27 et 28**. Le nombre moyen de contorsions des rats témoins non traités est de $53,33 \pm 2,40$ suite à l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique. De façon générale, le nombre de contorsions chez les rats traités avec Ibuprofène et EZHm ont diminué par rapport à celui des rats témoins. En présence d'Ibuprofène (100 mg/kg), le nombre d'étirements des rats a été de $11,67 \pm 1,66$ pendant les 20 min d'observation, ce qui correspond à un pourcentage de protection de 78,3 % par rapport aux rats témoins. En ce qui concerne les rats traités avec 200, 400 et 800 mg/kg/pc de EZHm, le nombre moyen d'étirements était de $23,33 \pm 1,66$; $12,33 \pm 1,45$ et $14,33 \pm 0,66$ soit un pourcentage d'inhibition de 55,81 % ; 77,02 % ; 73,06 % respectivement.

L'effet analgésique de DZHm et EZHm est comparable à celui de l'Ibuprofène aux doses de 400 et 800 mg/kg/pc. La réduction du nombre de contorsions est dose-dépendant pour les deux extraits.



A) Nombre de torsions des rats traités avec l'Ibuprofène et les différentes doses de DZHm



B) Nombre de torsions des rats traités avec l'Ibuprofène et les différentes doses d'EZHm

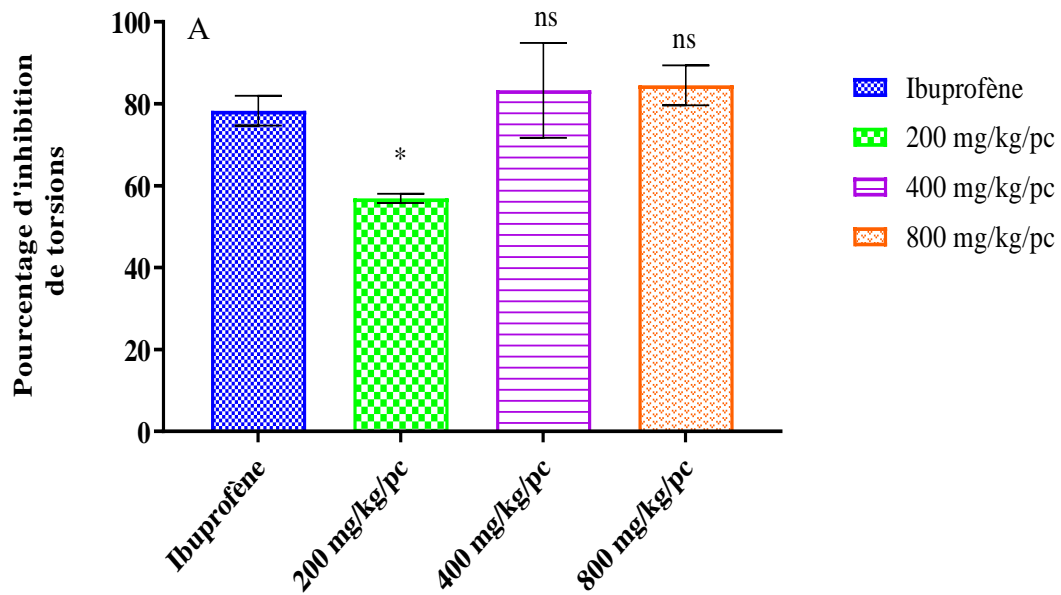
Figure 27 : Nombre de torsion en présence de l'Ibuprofène et les différentes doses des extraits de la recette ZHm

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

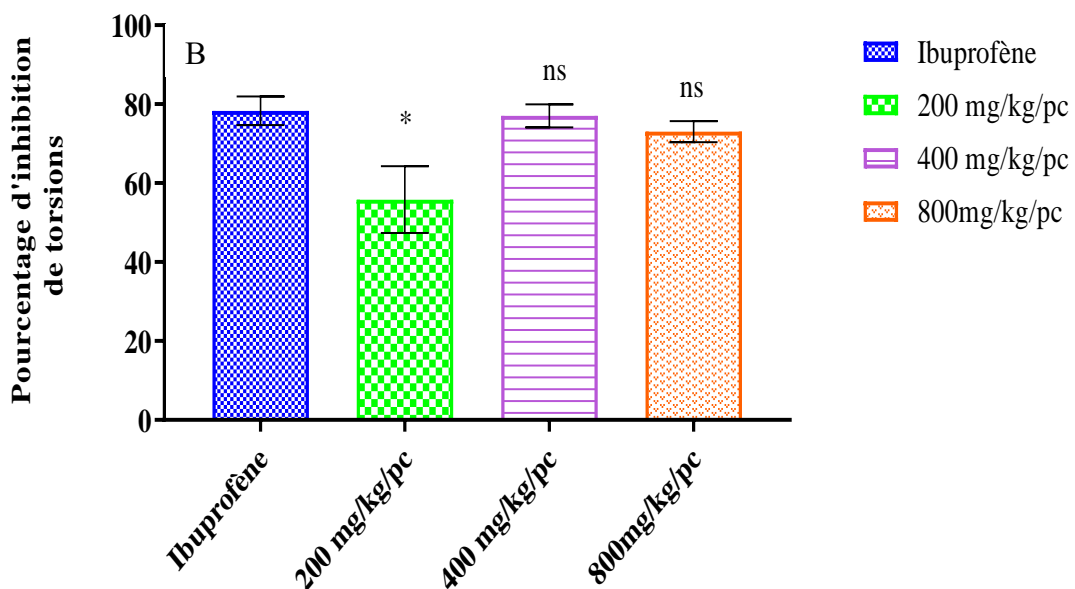
(****) $P < 0,0001$ représente la différence significative du nombre de torsion entre les témoins non traités et les rats traités avec les extraits ZHm

(TM) : Témoins malades

ZHm : Mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*



A) Pourcentage d'inhibition des rats traités avec l'Ibuprofène et les différentes doses de DZHm



B) Pourcentage d'inhibition des rats traités avec l'Ibuprofène et les différentes doses d'EZHm

Figure 28 : Effet inhibiteur de la douleur des rats traités avec de l'Ibuprofène et les extraits de ZHm après injection de l'acide acétique

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

* $P < 0,05$ représente la différence significative du pourcentage d'inhibition de l'Ibuprofène et des extraits de ZHm

(TM) : Témoin malade

ZHm : Mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

3-10- Potentiel anti-inflammatoire des extraits de la recette ZHm

3-10-1- Effet des extraits sur l'inflammation aiguë

Les résultats obtenus montrent que tous les rats ayant reçu la Carragénine ont développé un œdème de la patte. Le volume de l'œdème de la patte a varié avec le temps.

Pour les animaux ayant reçu le NaCl (9 %), l'œdème a augmenté pour atteindre un pic caractéristique d'une réaction inflammatoire à la 4^e heure avec un maximum de $56,66 \pm 4,33$ %. Ensuite, l'œdème a diminué à la 5^e et 6^e heure avec un pourcentage de 45,87 % sans atteindre le volume initial (état normal). Une réduction significative ($p < 0,01$) de l'œdème par les extraits de plantes et de manière dose-dépendante a été observée après 3 heures (**Figures 29**). La molécule de référence a également réduit de manière significative l'œdème induit par la Carragénine.

L'administration orale de l'extrait aqueux (DZHm) aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg pc a réduit l'œdème de manière significative ($p < 0,01$) par rapport à celui des rats non traités 3, 4, 5 et 6 heures après l'injection de la Carragénine. Le pourcentage d'inhibition de DZHm aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg Pc à la 4^e heure a été respectivement de 31,76 %, 52,45 % et 62,25 % tandis que celui du Diclofenac était de 62,91 %. Au bout de la 6^e heures d'expérience, les résultats montrent que le Diclofenac à la dose de 10 mg/kg présentait une meilleure activité anti-inflammatoire, avec un pourcentage d'inhibition de 82,82 % et ceux de l'extrait aqueux étaient de 28,44 % ; 45,44 % et 60,55 % aux différentes doses testées (**figures 29 et 30**). La réduction de l'œdème par l'extrait aqueux de ZHm à la dose de 800 mg/kg a été similaire à celle du Diclofenac à la 4^e heure d'observation.

L'extrait hydroéthanolique (EZHm) aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg de Pc a également réduit de manière significative ($p < 0,01$) l'œdème des rats traités par rapport aux rats non traités à partir de la 4^e, 5^e et 6^e heures après l'injection de la Carragénine. Comparé au pourcentage d'inhibition du Diclofenac qui a été de 62,91 % à la 4^e heure et 82,82 % à la 6^e heure, les pourcentages d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique de ZHm ont été de 28,43 %, 53,97 et 56,08 % à la 4^e heure puis de 28,26 %, de 50,45 et de 53,27 % à la 6^e heure respectivement pour les doses de 200, 400 et 800 mg/kg Pc (**figures 29 et 30**).

Pendant les six heures de l'expérience, les extraits aqueux et hydroéthanolique de ZHm ont inhibé significativement l'œdème de la patte des rats à partir de la 4^e heure à la dose de 800 mg/kg, par rapport aux rats non traités. Le pouvoir inhibiteur des extraits de ZHm est plus accentué avec l'extrait aqueux après la 4^e heure.

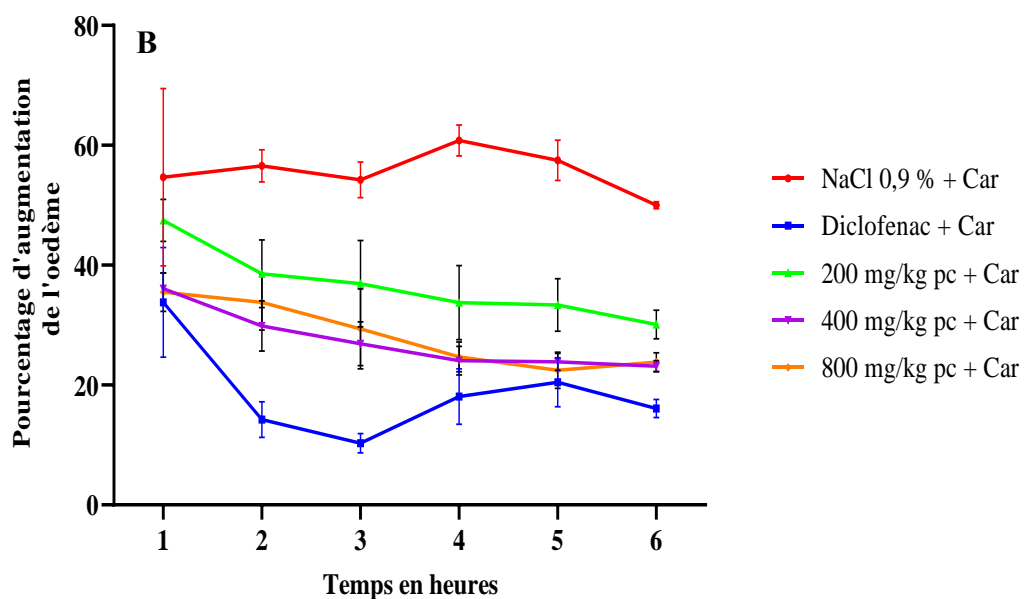
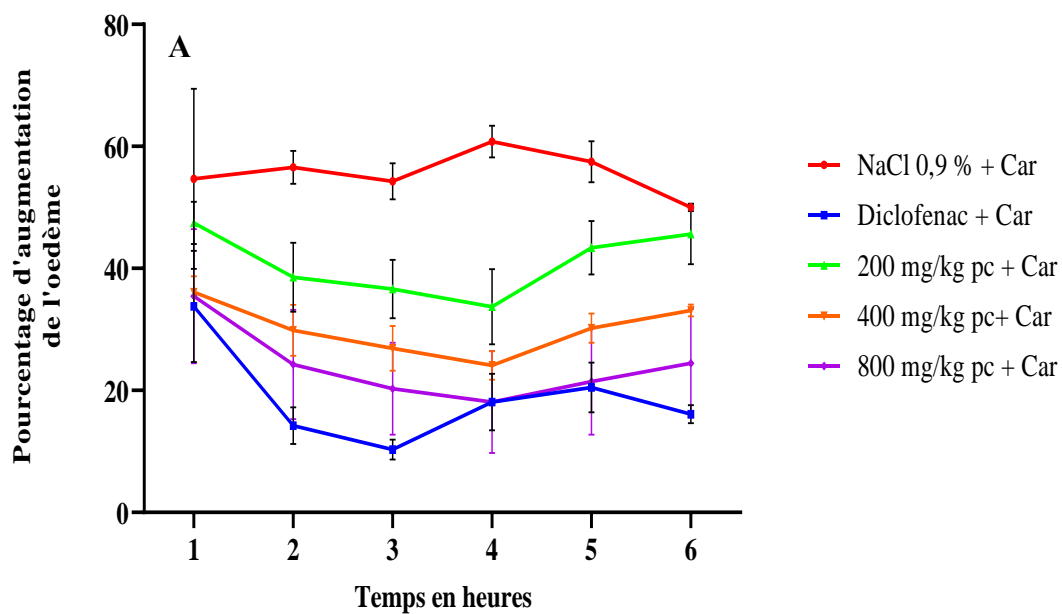


Figure 29 : Variation du pourcentage d'augmentation de l'œdème des rats traités avec les extraits de la recette ZHm et du Diclofenac

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

(Car) : Carragénine

A) Effet de DZHm et du Diclofenac sur le pourcentage d'augmentation de l'œdème

B) Effet d'EZHm et du Diclofenac sur le pourcentage d'augmentation de l'œdème

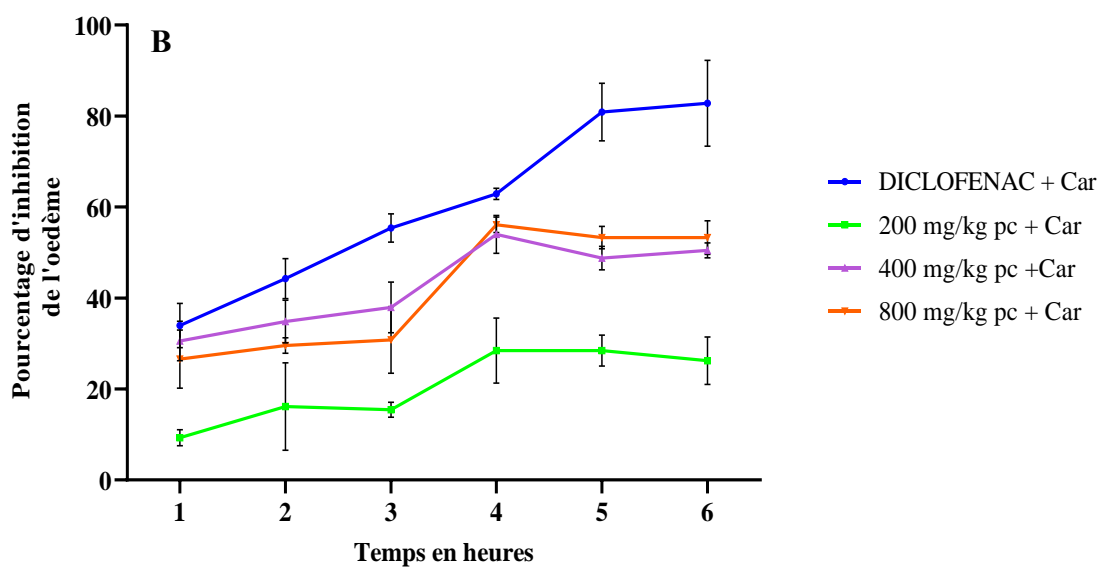
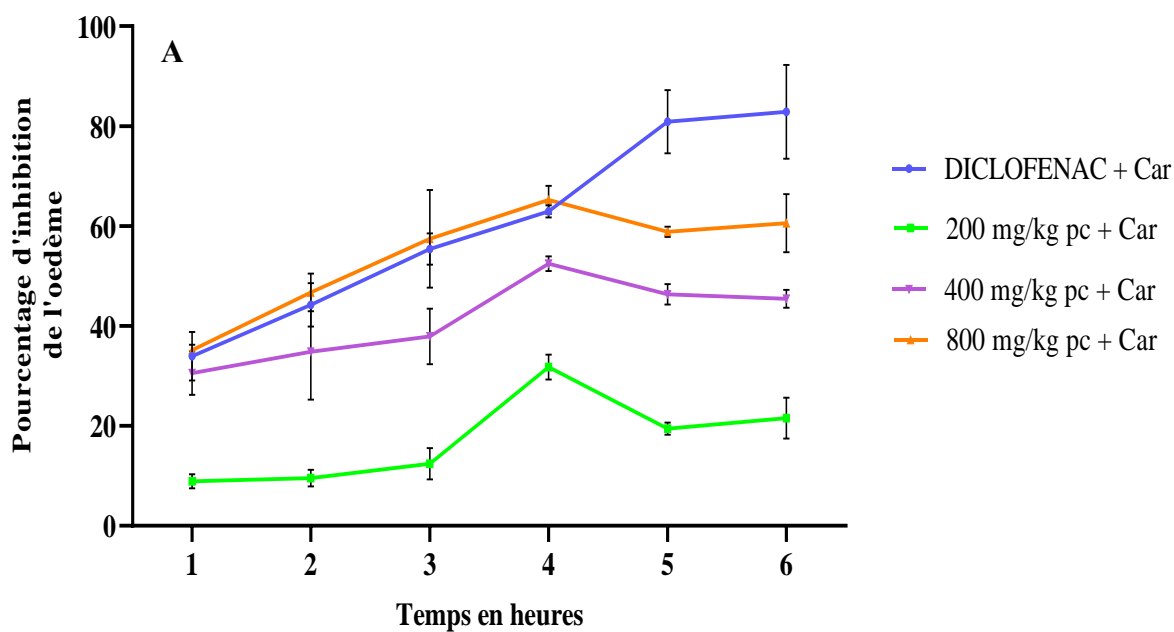


Figure 30 : Variation du pourcentage d'inhibition de l'œdème des rats traités avec les extraits de la recette ZHm et le Diclofenac

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

(Car) : Carragénine

ZHm : Mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

- A) Effet de DZHm et du Diclofenac sur le pourcentage d'inhibition de l'œdème
- B) Effet d'EZHm et du Diclofenac sur le pourcentage d'inhibition de l'œdème

3-10-2- Effet des extraits de ZHm sur l'inflammation chronique

3-10-2-1- Effet des extraits sur la masse corporelle

Durant les 21 jours de traitement, le poids des rats a augmenté progressivement en fonction du temps. Vingt-quatre (24) heures après l'injection de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA), le poids des rats de tous les lots expérimentaux a connu une baisse non significative. Le gain de poids corporel chez tous les animaux traités avec les extraits de ZHm était sensiblement le même et il n'y avait aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les rats traités et les témoins malades (**Figure 31**).

3-10-2-2- Effet des extraits sur l'œdème de la patte

Chez tous les lots qui ont subi l'injection de l'Adjuvant Complet de Freund (CFA), les signes de l'inflammation sont apparus dès le premier jour de l'injection. Le volume de la patte des rats a augmenté dans tous les lots expérimentaux avec des diamètres allant de 4,57 à 4,98 mm. Les œdèmes ont également augmenté après les différents traitements. Ces signes ont atteint leur niveau maximal le 4^{ème} jour avec les épaisseurs de $6,1 \pm 0,29$ mm, $5,36 \pm 0,15$ mm, $5,55 \pm 0,15$ mm, $5,68 \pm 0,23$ mm, $5,70 \pm 0,08$ mm et $5,61 \pm 0,14$ mm respectivement pour les lots témoins œdémateux, Diclofénac, 200, 400 et 800 mg/kg Pc. Le pourcentage d'augmentation des œdèmes correspond respectivement à 125,7 %, 93,92 %, 100,4 %, 107,9 %, 95,3 % et 93,58 % **figure 32**.

Les lots traités ont présenté des signes d'inflammations modérés par rapport aux témoins arthrites. Les résultats montrent une réduction du volume de la patte œdémateuse des rats traités par l'extrait et les molécules de référence à partir du 4^{ème} jour du traitement jusqu'à la fin de l'expérimentation avec le Diclofénac et DZHm. Les pourcentages d'inhibition des rats traités avec le Diclofénac et DZHm aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg Pc ont été respectivement de 38,17 %, 21,09 %, 31,73 % et 28,41 %. Cette inhibition a été progressive jusqu'au 20^e jour pour atteindre les taux d'inhibition respectifs de 54,87 %, 47,07 %, 55,81 % et 56,88 %. De façon générale, toutes les substances testées ont inhibé les œdèmes des rats de manière dose-dépendante. Les doses de 400 et 800 mg/kg/pc ont eu une activité anti-inflammatoire semblable à celle du Diclofénac (**Figure 33**).

Quant aux rats traités avec l'extrait hydroéthanolique (EZHm), l'analyse des résultats montre que l'extrait a progressivement inhibé les œdèmes de façon dose dépendante. Au 4^{ème} jour du traitement, le taux d'inhibition a été de 10,86 %, 40,39 % et 36,96 % ; puis au 20^e jour, il a été de 17,75 %, 49,58 % et 52,47 % aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg Pc respectivement.

L'analyse des résultats révèle que l'activité maximale des extraits de ZHm a été observée au 12^e jour du traitement. A la fin du traitement, la dose de 800 mg/kg de pc d'EZHm (52,47 %) et de DZHm (56,88 %) a généré une activité semblable à celle du Diclofénac (54,87 %) (**Figure 33**).

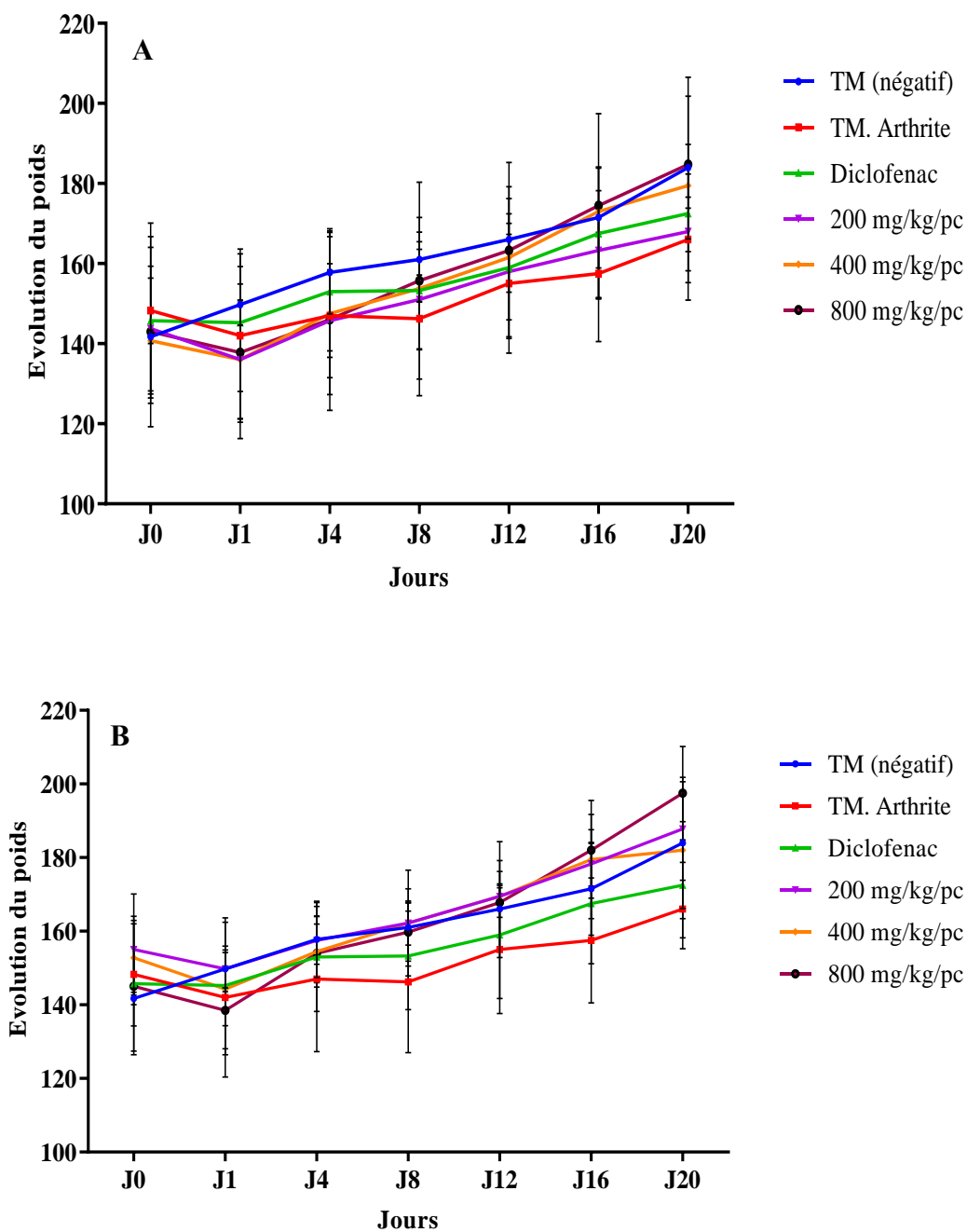


Figure 31 : Variation du poids des rats avec les extraits de ZHm et du Diclofenac

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

(**TM**) : Témoin malade

ZHm : Mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

A) Effet de DZHM et du Diclofenac sur l'évolution du poids

B) Effet d'EZH et du Diclofenac sur l'évolution du poids

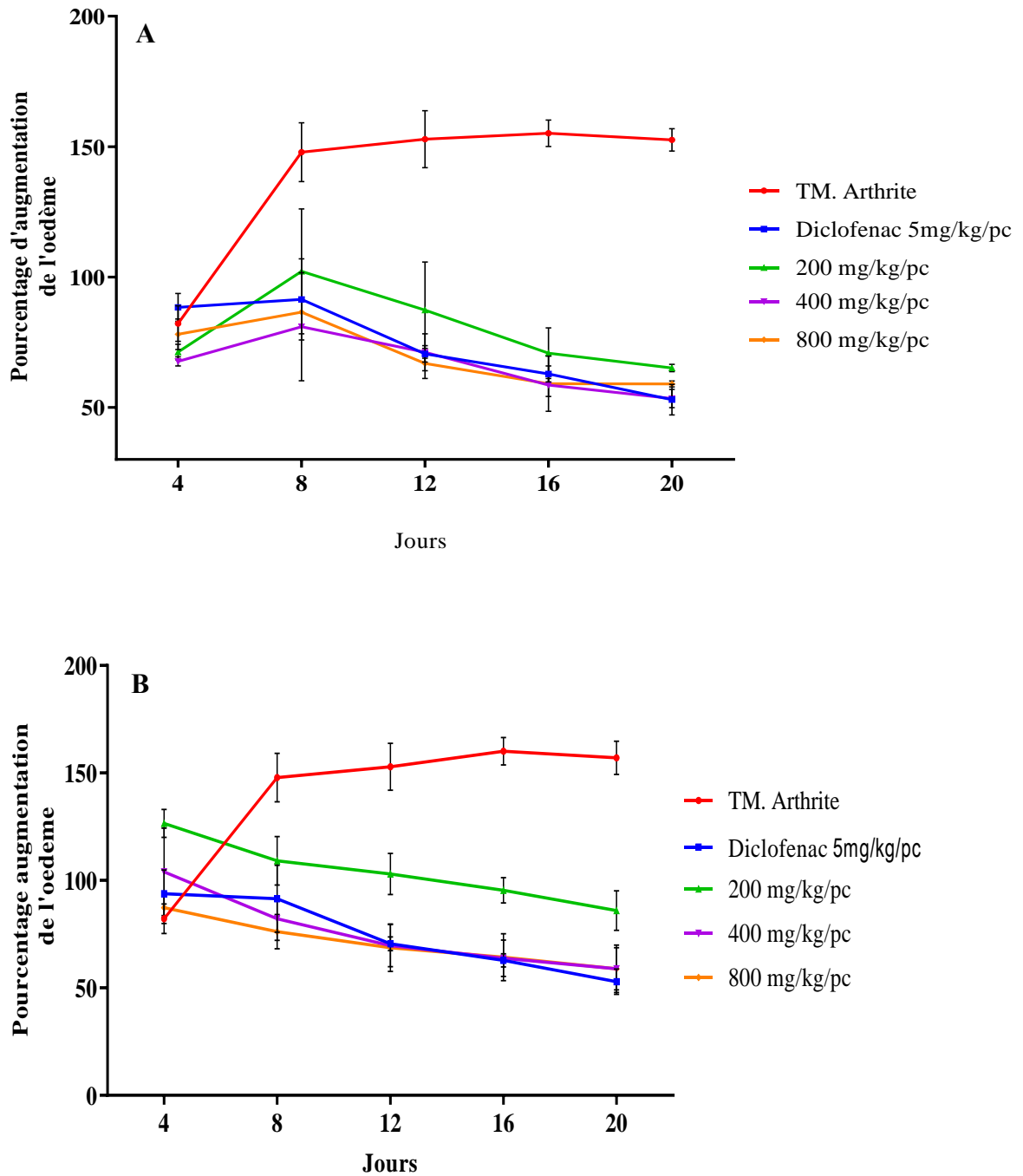


Figure 32 : Variation du diamètre de l'œdème des rats avec les extraits de ZHm

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

ZHm : Mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

A) Effet de DZHM et du Diclofenac sur le diamètre de l'œdème

B) Effet d'EZHm et du Diclofenac sur le diamètre de l'œdème

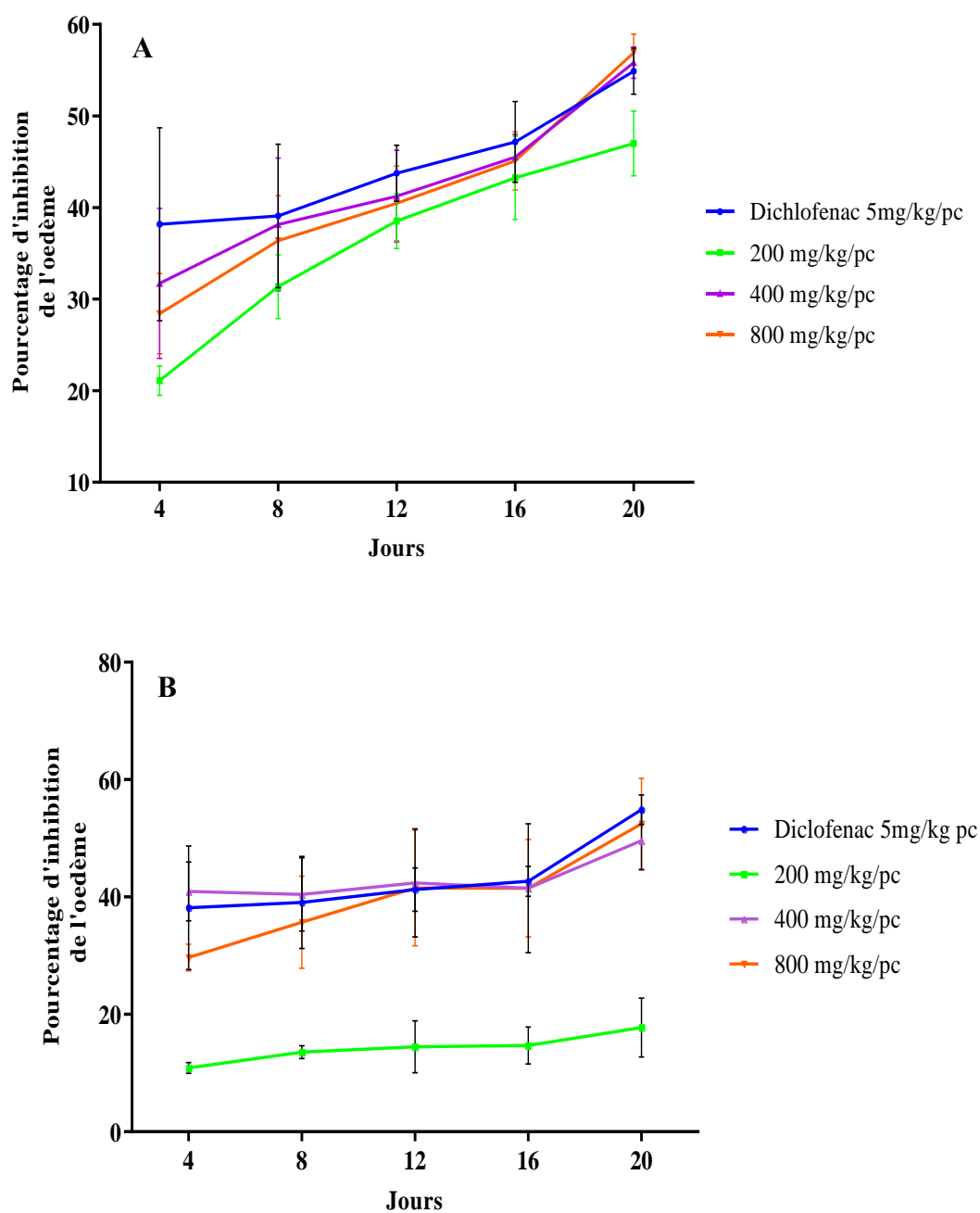


Figure 33 : Variation du pourcentage d'inhibition de l'œdème des rats avec les extraits de ZHm

Les valeurs sont présentées sous la forme de moyenne \pm écart-type

ZHm : Mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

A) Effet de DZHM et du Diclofenac sur l'inhibition de l'œdème

B) Effet d'EZHm et du Diclofenac sur l'inhibition de l'œdème

3-10-2-3- Effet des extraits sur les paramètres hématologiques

L'analyse des résultats montre une modification des paramètres hématologiques des rats témoins, des rats non traités et des rats traités pendant 20 jours d'expérience. L'inflammation chronique réalisée avec le CFA a provoqué une augmentation des globules blancs (GB), de plaquettes sanguines et du fibrinogène, puis une diminution des globules rouges (GR), de l'hémoglobine (Hb) et de l'hématocrite (Hte) chez les rats traités le avec CFA par rapport aux rats du témoin sains.

Une augmentation non significative ($p > 0,05$) des globules blancs a été observée entre les témoins sains ($15,58 \times 10^3 /\mu\text{L}$) et les rats non traités ($21,12 \times 10^3 /\mu\text{L}$). Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre les plaquettes sanguines des rats témoins sains et ceux des rats non traités. On a noté une augmentation significative ($p < 0,001$) du taux de fibrinogène au niveau des rats non traités (3,5 g/L) et des rats contrôle (2 g/L). Bien que le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et le taux d'hématocrite aient baissé, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre les rats témoins sains et les rats non traités.

L'administration quotidienne de DZHm aux rats aux doses de 200, 400 et 800 mg /kg de pc pendant 20 jours a provoqué une diminution du nombre de globules blancs et le taux de fibrinogène chez ceux-ci. Cette baisse du nombre de globules blancs a été respectivement de $12,45 \times 10^3 \mu\text{L}$; $14,01 \times 10^3 \mu\text{L}$; $12,12 \times 10^3 \mu\text{L}$ et $12,76 \times 10^3 \mu\text{L}$ chez les rats traités avec le Diclofenac ainsi que ceux des rats traités avec les doses de 200, 400 et 800 de DZHm, tandis que le nombre de globules blancs des rats témoins était de $21,12 \times 10^3 \mu\text{L}$. Quant au taux de fibrinogène, il a été de 3,5 g/L et 2,52 g/L pour les rats non traités (CFA) et les rats traités avec le Diclofenac puis respectivement de 2,3 g/L ; 1,65 g/L et 2 g/L pour ceux traités avec 200 ; 400 et 800 mg /kg.pc de DZHm.

L'administration de DZHm a induit une augmentation significative ($P < 0,05$) du taux d'hémoglobine et du nombre de globules rouges des rats traités. Le taux d'hémoglobine des rats non traités (CFA) était de 12,03 g/dL et celui des rats traités a été de 12,63 g/dL pour le Diclofenac, 12,85 g/dL ; 13,88 et 14,13 g/dL pour les rats traités avec DZHm aux doses de 200, 400 et 800 mg /kg de pc respectivement. L'administration de DZHm a également généré une augmentation significative ($P < 0,05$) ; ($P < 0,01$) du nombre de globules rouges des rats traités avec l'extrait aux doses respectives de 400 et 800 mg /kg de pc comparativement aux rats témoins non traités. Cependant, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre le nombre de globules rouges des rats non traités et celui des rats traités avec le Diclofenac et l'extrait aqueux à 200 mg /kg de pc.

Comparativement au taux d'hématocrite des rats non traités, celui des rats traités a augmenté de façon non significative ($p > 0,05$). L'analyse des résultats montre une baisse non significative ($p > 0,05$) entre le nombre de plaquettes sanguines des rats non traités et celui des rats traités avec le Diclofenac et DZHm aux doses de 200 et 400 mg /kg de pc. Cependant, une baisse

significative ($P < 0,05$) de ce paramètre a été observée avec les rats traités avec DZHm à la dose de 800 mg /kg de pc (**Tableau XV**).

En ce qui concerne les rats traités avec l'extrait hydro-éthanolique de la recette ZHm, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée au niveau du nombre de globules rouges, du taux d'hémoglobine, du taux d'hématocrite et du nombre de plaquettes sanguines. Cependant, le taux de fibrinogène a baissé significativement ($p < 0,01$), ($p < 0,0001$) et ($p < 0,001$) chez les rats traités aux doses de 200, 400 et 800 mg /kg de pc de d'extrait respectivement et comparativement à celui des rats non traités. Ces valeurs étaient de 2,7 g/L ; 1,75 g/L et 2,07 g/L pour les rats traités respectivement avec EZHm aux doses de 200, 400 et 800 mg /kg de pc. A la dose de 800 mg /kg de pc, cet extrait a baissé très significativement ($p < 0,001$) le nombre de globules blancs chez les rats ($11,17 \pm 0,62$) (**Tableau XVI**).

Tableau XV : Effet des différentes doses de DZHm et du Diclofenac sur les paramètres hématologiques des rats arthritiques après 21 jours de traitement

Paramètres	Témoins sains	Témoins non traités	Diclofenac 5 mg/kg PC	200 mg/Kg/ PC	400 mg/Kg/ PC	800 mg/Kg/ PC
Globules blancs 10 ³ /μL	15,58± 2,05	21,12± 0,68	12,45 ± 1,68 ^b	14,01 ± 1,59 ^a	12,76 ± 0,66 ^b	12,12 ± 2,54 ^b
Globules rouges 10 ⁶ /μL	7,59±0,12	6,67 ± 0,4	7,67±0,37 ^a	6,78±0,21	8,28±0,16 ^b	8,10±0,3 ^a
Hémoglobine g/dL	12,6±1,02	12,03±1,01	12,63±0,44	12,75±0,35	13,88±0,41 ^a	14,13±0,22 ^a
Hématocrites (%)	44,18±4,8	39,9±3,7	46,8±2,02	43,1±1,33	45,68±0,52	47,38±1,71
Plaquettes	774,5±24,5	988,8±11,4	850 ±11,42	913,3±21,2	730,5 ± 26,73 ^a	774,1 ± 24,81
Fibrinogène (g/L)	2±0,2	3,5±0,14	2±0,7 ^b	2,3±0,07 ^b	1,62±0,16 ^d	1,65±0,12 ^d

Les données ont été exprimées par moyenne ± SEM.

- non significative (ns) : $p > 0,05$;
- peu significative (a) : $p < 0,05$;
- significative (b) : $p < 0,01$;
- très significative (c) : $p < 0,001$;
- hautement significative (d) : $p < 0,0001$.

DZHm : Décocté du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*

Tableau XVI : Effet des différentes doses d'EZHm et du Diclofenac sur les paramètres hématologiques des rats arthritiques après 21 jours de traitement

Paramètres	Témoins sains	Témoins non traités	Diclofenac 5 mg/kg PC	200 mg/Kg/ PC	400 mg/Kg/ PC	800 mg/Kg/ PC
Globules blancs 10 ³ /μL	15,58± 2,05	21,12± 0,68	12,45 ± 1,68 ^a	16,08 ± 3,66	15,34±1,55	11,17±0,62 ^c
Globules rouges 10 ⁶ /μL	7,59±0,12	6,67 ± 0,4	7,67±0,37	7,10±0,6	8,01±0,22	7,76±0,25
Hémoglobine g/dL	12,6±1,02	12,03±1,01	12,63±0,44	12,48±0,19	13,15±0,23	13,23±0,3
Hématocrites (%)	44,18±4,8	39,9±3,7	46,8±2,02	41,05±1,3	44,25±1,39	44,35±1,42
Plaquettes	774,5±24,51	988,8±11,42	850 ±11,42	933,8±25,2	856,5±18,8	845,8±16,7 ^a
Fibrinogène (g/L)	2±0,2	3,5±0,14	2±0,7 ^b	2,47±0,07 ^b	1,75±0,12 ^d	2,07±0,3 ^c

Les données ont été exprimées par moyenne ± SEM. Les différences significatives ont été exprimées entre les rats non traités et les rats traités avec les différentes substances.

-non significative (ns) : $p > 0,05$;

- peu significative (a) : $p < 0,05$;

- significative (b) : $p < 0,01$;

- très significative (c) : $p < 0,001$;

- hautement significative (d) : $p < 0,0001$

EZHm : Extrait hydroéthanolique du mélange de *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*



3-2-DISCUSSION

Cette étude a porté sur le potentiel anti-drépanocytaire et l'innocuité de la combinaison de quelques plantes utilisées pour la prise en charge de la drépanocytose à l'Est de la Côte d'Ivoire. A cet effet, l'enquête ethnobotanique, la recherche des différents groupes chimiques, l'étude de la toxicité, l'évaluation des activités antifalcémiantes, anti-hémolytiques, antianémiques, anti-inflammatoires et analgésiques des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des trois recettes de plantes ont été réalisés.

L'enquête ethnobotanique réalisée sur le terrain a permis d'interroger neuf tradipraticiens des départements d'Abengourou et d'Agniblékrou. Ces guérisseurs traditionnels étaient à 90 % des femmes. Ce pourcentage élevé montre que les femmes s'intéressent plus à cet art médical et il va dans le même sens que les travaux menés en Côte d'Ivoire par **N'Guessan *et al.* (2010)** et **Béné *et al.* (2016)**. Ces auteurs ont montré que les femmes étaient représentées à 62,50 % et 66,7 % respectivement. De même, ce pourcentage élevé de femmes se rapproche des résultats du travail de **Fah *et al.* (2013)** qui ont montré qu'au Bénin, les femmes herboristes sont plus nombreuses à 95,24 % que les hommes représentés à 4,76 %.

L'analyse des résultats de notre enquête révèle aussi que les tradithérapeutes de plus de 50 ans sont majoritaires. Ce constat vient en bonne partie du fait que le savoir ancestral se transmet oralement de génération en génération. Selon **Orch *et al.* (2015)**, la transmission de cette connaissance est en voie de disparition actuellement, car les jeunes portent peu d'intérêt à la connaissance des bienfaits des plantes et s'intéressent de plus en plus aux activités rémunératives en ville.

En ce qui concerne le niveau scolaire, les résultats de cette étude font ressortir que 83 % des personnes interrogées n'ont pas été scolarisées, seulement 17 % ont reçu une éducation scolaire. Ce profil des tradithérapeutes est similaire à celui trouvé par **Gbekley *et al.* (2015)** et **Béné *et al.* (2016)** lors de leurs travaux, confirmant que la pratique de la médecine traditionnelle est l'apanage des personnes âgées et peu lettrées.

Aussi, l'analyse des données révèle que 26 espèces végétales sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter l'anémie falciforme. Ces espèces de plantes appartiennent au total à 16 familles. Parmi elles, les Apocynaceae, les Fabaceae, les Rutaceae, les Annonaceae, les Bignoniaceae, les Rubiaceae et les Zingiberaceae ont été les plus représentées. Les espèces les plus utilisées par les guérisseurs traditionnels sont *Afromonum melegueta* (17,94 %), *Xylopiya aethiopica* (15,380 %), *Ceiba pentandra* (4,8 %) et *Nauclea latifolia* (4,8 %). Par ailleurs, le nombre de plantes découvert dans cette étude est plus élevé que celui de **Ouattara *et al.* (2016)**, qui n'ont recensé que 3 espèces de plantes anti-drépanocytaires du nord-ouest de la Côte d'Ivoire. Parmi ces 3 espèces végétales, deux plantes : *Khaya senegalensis* et *Zanthoxylum zanthoxyloides* ont été mentionnées dans la présente

étude.

Ce résultat est différent de celui de **N'Guessan *et al.* (2009)** qui n'ont trouvé aucune plante anti-drépanocytaire lors de leur étude réalisée à Agboville (Côte d'Ivoire). Cette variabilité des résultats serait due à la spécificité de notre étude ethnobotanique qui était axée sur la recherche de plantes à activité anti-drépanocytaire.

Par ailleurs, en ce qui concerne la spécificité, 11 recettes ont été recensées lors de cette étude. Quatre-vingt-onze pourcent (91 %) de ces recettes étaient polyspécifiques et 9 % monospécifiques, ce qui concorde avec les travaux de **Kipré *et al.* (2017)**. Ces auteurs ont montré que sur 50 recettes obtenues lors de leur enquête ethnopharmacologique sur les plantes antipaludiques, 62 % des recettes étaient polyspécifiques et 38% monospécifiques. Contrairement aux travaux de **Monnet (2013)**, **Bla *et al.* (2015)** et **Béné *et al.* (2016)** qui n'ont trouvé que des recettes mono-spécifiques lors de leurs enquêtes ethnobotaniques. Cette prépondérance des recettes mono-spécifiques n'est pas forcément un avantage quand on sait que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) préconise désormais les associations médicamenteuses dans le traitement de plusieurs maladies (**OMS, 2006**). Il convient de noter que l'association des plantes a l'avantage de combiner des plantes ayant des vertus diverses. Compte tenu de la variabilité de l'expression de la drépanocytose, pendant que les métabolites de certaines plantes inhiberaient la falciformation, d'autres agiraient contre l'anémie, les crises vaso occlusives, la fatigue générale et la fièvre.

Au niveau des organes de plantes utilisées pour la préparation des recettes, l'analyse des résultats montre que l'écorce a été l'organe de la plante le plus utilisé. Cette assertion a été confirmée dans les travaux de **Evenamedé *et al.* (2017)** et **Fanou *et al.* (2021)** qui ont montré à travers une étude chimique que les écorces concentreraient mieux les métabolites secondaires que les feuilles. Par contre les études de **Monnet (2013)**, **Bla *et al.* (2015)**, **Gbadamosi, (2015)**, **Amujoyegbe *et al.* (2016)** et **Béné *et al.* (2016)** ont quant à elles montré que les feuilles étaient la partie de la plante la plus utilisée. L'utilisation fréquente des feuilles se justifierait par l'aisance, la rapidité de la récolte et la conservation de la plante (**Mangambu *et al.*, 2014**). Selon **Nacoulma- Ouedraogo, (1996)** et **Ngbolua *et al.* (2019)**, l'intérêt porté aux feuilles et aux écorces trouve une explication dans le fait que ces organes végétaux sont le siège par excellence de la biosynthèse et même du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés pharmaco-biologiques des plantes.

La décoction (90 %) et la voie orale (54 %) sont principalement utilisées. Ces résultats concordent avec ceux de **N'Guessan (2008)**, **Monnet (2013)**, **Bla *et al.* (2015)**, **Gbadamosi, (2015)**, **Amujoyegbe *et al.* (2016)** et **Béné *et al.* (2016)**. Ces auteurs ont montré que la décoction était appliquée dans 90 % des cas. Selon **Salhi *et al.* (2010)**, la décoction permettrait de mieux concentrer les principes actifs et atténuerait ou annulerait l'effet toxique de certaines recettes de plantes. Trois

modes d'administration des préparations médicamenteuses ont été listés. La voie orale à 54 % a été la voie la plus utilisée, la voie rectale à 32 % et la voie cutanée à 14 %. Selon **Tra Bi et al. (2008)**, ces deux voies (orale et rectale) sont les plus sollicitées pour faciliter l'assimilation des préparations médicamenteuses par l'organisme. D'après **Bla et al. (2015)**, le décocté contenant des principes bioactifs ingérés par voie orale demande un processus métabolique beaucoup plus rapide et plus efficace que les autres techniques.

En ce qui concerne la nature chimique des métabolites, l'analyse des résultats du tri phytochimique révèle que les extraits aqueux et hydroéthanolique des trois recettes de plantes renferme des alcaloïdes, des tanins catéchiques, des flavonoïdes, des polyphénols, des stérols et des terpènes. Contrairement aux extraits des recettes JJP et DbA, les substances quinoniques ont été retrouvées dans les extraits de la recette ZHm. Les résultats ont révélé aussi que les tanins galliques étaient absents dans tous les extraits des différentes recettes de plantes.

A ce jour, aucune équipe n'a travaillé sur les combinaisons de plantes choisies telles que présentée dans cette étude. Par contre, les plantes prises individuellement ont fait objet de nombreuses études. Selon les résultats des travaux de **Gbenou et al. (2006)** et **Mpiana et al. (2010)**, l'extrait hydroalcoolique de *J. secunda* contient des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des anthocyanes et des leucoanthocyanes. **Imaga et al. (2010)** et **Ayoola et al. (2011)** ont confirmé la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des glycosides, des glycosides cardiaques, des tanins, des saponines, des anthraquinones et des terpenoïdes dans les extraits aqueux, hydro-éthanolique et méthanolique des feuilles de *P. nigrescens*. Ces mêmes composés ont été retrouvés dans les extraits hydro-éthanolique et aqueux de *P. nigrescens* par **Hoekou et al. (2016)**, **Omoboyowa et al. (2016)** et **Sopeyin et Ajavi (2016)**. En ce qui concerne les résultats du criblage chimique des feuilles de *J. grossypifolia* et des graines de *A. melegueta* réalisé par **Biswanath et al. (1996)**, **Abiodun et al. (2011)** et **Gédéon et al. (2017)** ont révélé la présence des saponines, d'alcaloïdes, de tanins, de stéroïdes, d'huiles volatiles, de flavonoïdes et de glycosides cardiaques. En somme, la présence de toutes ces molécules dans les différents extraits de la recette JJP a été confirmée par ces différents auteurs.

Les résultats du criblage chimique de la recette ZHm, ont été confirmés par les résultats d'études de plusieurs auteurs sur les plantes utilisées pour la formulation de cette recette. En effet, les criblages phytochimiques effectués par **Kpomah et al. (2012)** et **Evelyne et al. (2020)** sur *Z. leprieurii* ont révélé la présence de tanins, de flavonoïdes, de terpenoïdes et d'alcaloïdes. De plus les travaux de **Yusuf et al. (2014)**, de **Baldé et al. (2015)**, de **Olusayo et al. (2018)**, de **Moronkola et al. (2018)** et de **Happi et al. (2020)** ont également mis en évidence, la présence des tanins, des flavonoïdes, des leucoanthocyanes, des terpenoïdes, des saponosides et des stéroïdes dans *H. madagascariensis* et dans *X. aethiopica*.

En ce qui concerne les résultats du triphytochimique de la recette DbA, **Bidié et al. (2011)** ; **Kehinde et al. (2012)**, **Kouassi et al. (2013)** et **Gédéon et al. (2017)** ont révélé la présence de ces mêmes groupes chimiques dans les feuilles et écorces de *D. benthamianus*. Cela renforcerait la présence de ces différents groupes chimique dans la recette DbA. La présence de ces groupes chimiques dans les différents extraits de plantes explique donc l'utilisation de ces plantes dans le traitement de la drépanocytose.

De nombreuses études ont déjà révélé les activités biologiques de certains composés retrouvés dans la combinaison de plantes. Par exemple, les alcaloïdes, les terpenoïdes, les polyphénols et dérivés favorisent la régénération des tissus, diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance à l'hémolyse (**Bruneton, 1999**). Ces composés exercent des propriétés antioxydantes en augmentant l'activité de la catalase et de la glutathion peroxydase, en détoxifiant le peroxyde d'hydrogène pour le transformer en oxygène et en eau (**Medewase et Ezike, 2018**).

L'analyse des données de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*, révèle que les extraits des plantes étudiées sont capables de piéger le radical DPPH et le fer. Ce pouvoir réducteur et antiradicalaire repose sur les fortes teneurs en composés phénoliques des recettes JJP, ZHm et DbA. La comparaison des valeurs des CI₅₀ des différents extraits de plantes montre que le pouvoir antiradicalaire est fortement exprimé avec les extraits hydroéthanoliques de la recette DbA et la recette ZHm, ensuite, vient la recette JJP. Le pouvoir antiradicalaire de la recette DbA est plus proche de celui de l'antioxydant standard utilisé, la Vitamine C reconnue pour son potentiel antiradicalaire. Cette activité antioxydante de la recette DbA et de la recette ZHm est probablement due à leurs teneurs importantes en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à celle de la recette JJP.

En ce qui concerne la réduction du fer ferrique en fer ferreux, l'analyse des résultats du test *in vitro* révèle que ces deux recettes ont une meilleure activité. Le pouvoir antiradicalaire dépend de la capacité des antioxydants à céder un électron ou un proton pour neutraliser le radical DPPH et de bloquer la chaîne de réaction des radicaux libres par transfert d'atomes d'hydrogène (**Meir et al., 1995**). La présence des composés phénoliques dans ces différents extraits permet également de chélater les ions métalliques (**Ibrahim et al., 2017**). Cette forte activité antioxydante, observée avec la recette ZHm pourrait être attribuée à la présence de *H. madagascariensis* qui a généré une forte activité antioxydante liée à sa teneur élevée en composés phénoliques. Ce constat est confirmé par les résultats des travaux d'**Oladele et Ayola, (2015)** sur les feuilles de ladite plante. La recette DBA a également induit une bonne activité antioxydante qui serait liée à la présence de *D. benthamianus* dans la recette. Cela a été aussi démontré par les travaux réalisés sur les feuilles de *D. benthamianus* par **Kouassi et al. (2013)**. Cette forte activité antioxydante de ces plantes serait due à leurs teneurs en composés phénoliques.

Selon **Kouassi *et al.* (2013)** et **Diomandé *et al.* (2018)**, l'activité antioxydante des polyphénols est souvent exploitée dans le but de prévenir et traiter les maladies liées au stress oxydant telles que le cancer, l'inflammation, l'anémie, la drépanocytose. Les extraits de la recette JJP, avec des valeurs des CI_{50} significativement supérieures à celles des recettes ZHm et DbA et de la vitamine C, ont une faible activité antioxydante induisant ainsi une faible capacité de don de protons. Selon **Sahgal *et al.* (2009)**, même un faible pourcentage d'inhibition indique une capacité de don de protons. Toutefois, ces extraits pourraient servir d'inhibiteurs ou de piègeurs de radicaux libres, agissant éventuellement comme des antioxydants primaires (**Sahgal *et al.*, 2009**). La teneur en composés phénoliques de la recette JJP est en adéquation avec l'activité antiradicalaire obtenu ici sur le radical DPPH et le test du pouvoir réducteur du fer. Les travaux d'**Evenamedé *et al.* (2017)** et **Diomandé *et al.* (2018)** ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire des extraits de plantes. Selon ces auteurs, la capacité des extraits de plantes à neutraliser les radicaux libres est attribuée à la présence des groupements OH sur les noyaux benzoïques des composés phénoliques.

Dans l'ensemble, les résultats de cette étude montrent que les extraits qui possèdent les meilleurs pouvoirs piègeurs vis-à-vis des radicaux libres DPPH, ont également les meilleures capacités de réduction du Fe^{3+} . L'une des principales caractéristiques de la drépanocytose est la production d'une grande quantité de radicaux libres, conduisant à un stress oxydatif grave et à la consommation du monoxyde d'azote par des radicaux libres de l'oxygène. Le stress oxydatif affecte également le rapport Fe^{3+}/Fe^{2+} , assez élevé dans les cellules falciformes, et est impliqué dans l'hémolyse des drépanocytes. Les résultats obtenus avec les extraits de ZHm et de DbA prouvent que ces extraits contiennent des molécules antioxydantes pouvant intervenir par deux types de mécanisme d'action. Les propriétés antioxydantes des extraits de ZHm et DbA pourraient donc avoir une action sur la drépanocytose. Bien que les extraits de plantes des recettes soient riches en métabolites secondaires et aient des activités biologiques prometteuses, il convient de faire des études toxicologiques avant de les vulgariser.

L'étude toxicologique a été conduite afin de déterminer les caractères nocifs des décoctés et des extraits hydroéthanoliques des recettes ZHm, DbA et JJP. L'analyse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisée, révèle que le décocté et l'extrait hydroéthanolique des recettes ZHm et DbA ne sont pas toxiques par voie orale. En effet, l'administration orale des extraits des recettes ZHm et DbA n'a provoqué aucun signe de toxicité lors de l'étude. Il ressort de cette analyse que les deux recettes appartiennent à la catégorie 5 et sont considérées comme des substances non-toxiques par voie orale.

Contrairement à ce qui a été observé avec ZHm et DbA, les extraits de JJP ont généré une

toxicité chez les rates. En effet, l'administration des extraits aux doses de 300 et 2000 mg/kg de pc a causé la mort des rates en moins de 24 h. Cette toxicité serait liée à la présence de l'apigénine, du latex, du 12-déoxy-16-hydroxylphorbol et du toxalbumine dans les feuilles de *J. gossypifolia*. Cette assertion a été affirmée par **Nagaharika et al. (2013)**, **Magili et Bwatanglang (2018)** et **Wu et al. (2019)**. Selon ces auteurs, la présence de ces molécules dans les feuilles de *J. gossypifolia* participerait à sa toxicité. En outre, les travaux de **Yousseu et al. (2019)** sur les extraits aqueux et méthanoliques de *D. benthamianus* dans le traitement de la diarrhée induite chez les rats a provoqué des lésions du foie et de la rate des animaux traités pendant les deux semaines du test. De plus, les travaux de **Ilic et al. (2010)** et **Bayiha, (2011)** révèlent que l'extrait aqueux de *A. melegueta* provoquerait des lésions au niveau du foie après 28 jours de traitement des animaux.

L'efficacité d'une substance en pharmacologie n'est pas suffisante pour justifier son éventuelle introduction en thérapeutique. En effet, en plus de l'efficacité, il ne doit pas produire, des effets toxiques et néfastes pour l'organisme à la dose active à long terme. Ainsi, pour la suite des travaux, la recette ZHm (*Z. lepreurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*) a été retenue à cause de la biotolérance des plantes qui la composent.

Les effets liés à l'administration quotidienne par voie orale des différentes doses des extraits DZHm et EZHm de ladite recette ont été appréciés après évaluation des paramètres comportementaux, de croissance pondérale, du poids relatif des organes, des paramètres biochimiques, hématologiques et histologiques. Le traitement des rats avec différents extraits de la recette ZHm n'a pas causé de mort, ni de changement de comportement, ni de signe quelconque de toxicité.

Le poids corporel des rats traités avec différentes doses de DZHm et EZHm n'a pas changé significativement ($p > 0,05$) comparativement à celui des témoins ayant reçu de l'eau distillée. L'accumulation des effets avec différentes doses d'extraits au cours des 28 jours n'a pas été suffisante pour influencer significativement la masse pondérale des rats et le poids relatif des organes tels que le foie, le cœur, les reins. En général, une perte de poids corporel et un gain du poids des organes des rats reflètent une toxicité après une exposition à des substances toxiques (**Carol, 1995**). Selon **Rhiouani et al. (2008)**, le maintien du poids corporel observé chez les rats après l'administration des extraits pendant 28 jours pourrait s'expliquer par des réponses normales d'adaptation physiologique des animaux.

L'administration de DZHm et EZHm aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg pc pendant 28 jours n'a généré aucune perte de poids corporel chez les animaux. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Bidié et al. (2016)**. Ces auteurs ont montré dans leurs études que l'extrait administré aux rats ne causait pas de perte de poids pendant les 28 jours. En dehors du poids corporel, cette étude a

tenu compte des effets des extraits sur le système hématopoïétique.

L'une des cibles des substances thérapeutiques dans l'organisme est le système hématopoïétique. L'analyse des données des paramètres sanguins dans cette étude toxicologique a permis d'évaluer l'innocuité des extraits de ZHm. Après 28 jours de traitement, l'analyse des résultats montre une légère augmentation du nombre des globules blancs, du taux Hb, Hte et CCMH chez les rats traités avec les extraits (DZHm et EZHm) par rapport aux témoins. En effet, les globules blancs sont des cellules protectrices de l'organisme contre l'infection (Lyne, *et al.*, 2014). Les extraits de la recette ZHm auraient un effet sur les globules blancs (Guyton et Sall 2006 ; Karamoko *et al.*, 2020) grâce à la présence des tanins dans ces extraits (Feldman *et al.*, 1999). L'augmentation du taux de l'Hb, de l'Hte et de la CCMH pourrait être due à l'effet stimulant de l'extrait sur la production d'éléments régulateurs hématopoïétiques tels que l'érythropoïétine (Yakubu *et al.*, 2007 ; Olusayo et Barizonmdu, 2020). Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Etame *et al.* (2017), (2018) et Olusayo et Barizonmdu (2020) qui ont montré que les différents extraits de *H. madagascariensis* ne réduisaient pas le taux d'hémoglobine, le paramètre le plus sensible pour détecter l'anémie. L'altération de l'érythropoïèse après l'administration d'une substance thérapeutique se caractérise par une anémie suite à la lyse des cellules sanguines par les agents actifs du produit (Gandhare *et al.*, 2013). Selon Ohaeri et Eluwa (2011), toute variation des proportions des paramètres hématologiques chez des animaux traités avec une substance, serait liée à une intoxication de ceux-ci. Par conséquent, l'administration des extraits de ZHm ne pourrait pas induire l'anémie chez rats.

Quant aux paramètres biochimiques, les résultats obtenus montrent que les teneurs des enzymes tels que l'ALAT et l'ASAT n'ont pas varié chez les animaux traités avec DZHm et EZHm aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc par rapport aux témoins. En effet, le cœur, les reins et le foie sont les cibles privilégiées des substances toxiques. Une fois lésés, ces organes libèrent leurs contenus enzymatiques ou protéiques dans le sang. L'ALAT et l'ASAT sont des marqueurs de la toxicité hépatique et leurs taux sériques élevés renseignent sur une lésion des hépatocytes (Kumar *et al.*, 2004). L'ALAT est plus spécifique d'une atteinte hépatique, mais l'ASAT est surtout présente dans le foie, les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le pancréas (Goddard et Warnes, 1992).

Dans le cas de cette étude, DZHm et EZHm aux doses 200, 400, 800 mg / kg pc ne perturbent pas la fonction enzymatique (ALAT et ASAT) des rats traités. Ce résultat pourrait s'expliquer par le rôle hépato-protecteur des polyphénols et leur dérivé présent dans les extraits (DZHm et EZHm) et de l'activité antioxydante que possède les extraits de la recette ZHm.

Les concentrations sériques de l'urée et de la créatinine qui sont des marqueurs d'atteinte de la fonction rénale n'ont pas varié significativement en présence des extraits (DZHm et EZHm) de la

recette ZHm. Il en est de même pour le HDL, le Cholestérol total et les Triglycérides qui sont des marqueurs de la fonction cardiaque. Une telle assertion a été confirmée par **HAS (2005)** et **Coulibaly et al. (2010)**. L'administration des différentes doses de DZHm et EZHm aux rats pendant 28 jours n'a pas modifié significativement les valeurs sériques de l'ensemble des paramètres biochimiques des marqueurs d'atteinte des reins, du cœur et du foie par rapport aux rats du lot témoin, ce qui suggère que ces extraits n'ont pas affecté ces organes vitaux.

Les résultats de cette étude sont similaires à ceux de **Adeneye et al. (2008)**, **Etame et al. (2017)** et **Olusayo et Barizonmdu (2020)** portant sur la toxicité des extraits aqueux, éthanolique et méthanolique des feuilles, graines et écorces du tronc de *H. madagascariensis* respectivement. Ces auteurs ont rapporté que l'administration quotidienne des différents extraits de *H. madagascariensis* n'a pas augmenté le taux de certains marqueurs du foie, du cœur et des reins et d'autres paramètres biochimiques. Les travaux de toxicité avec l'extrait hydroéthanolique de *X. aethiopica* réalisés par **Imo et al. (2021)** sur les rats révèlent que cette plante serait associée à la biosynthèse des protéines et à la synthèse de l'hémoglobine, favorisant ainsi le fonctionnement efficace des cellules du foie.

Cet effet pourrait être attribué à la présence des composés chimiques de cette plante dans DZHm et EZHm. En effet, les composés phénoliques, les polyterpènes et les alcaloïdes présents dans ces extraits sont reconnus pour leurs activités antioxydantes, anticancéreuses, apoptotiques et antitumorales (**Ismail et al., 2003 ; Aisha et al., 2009**). Ces résultats viennent confirmer les données des tests biochimiques concernant une plausible action protectrice du rein, du foie, du cœur et de la rate par DZHm et EZHm.

En définitive, les données des études toxicologiques effectuées sur DZHm et EZHm, montrent que les extraits ne sont pas toxiques par voie orale chez les rats à dose unique et répétée pendant 28 jours. Tous ces résultats ont été confirmés par les coupes histologiques qui n'ont révélé aucune dégradation des différents organes vitaux comme le foie, le cœur et les reins.

Au regard des résultats obtenus, les extraits de la recette de ZHm étant riche en métabolites bioactifs, et leurs nombreuses potentialités pharmacologiques militant en faveur de l'amélioration de la santé, justifieraient ses nombreux usages thérapeutiques dans l'Indénié-Djuablin.

Dans les conditions d'hypoxie, les extraits aqueux et hydro-éthanolique de la plante ont inhibé la falciformation des globules rouges du sang SS. L'analyse des résultats révèle que le métabisulfite de sodium génère une augmentation progressive du taux de cellules falciformées. Dès les 30 premières minutes d'observation, le taux de falciformation cumulé est de 56,67 %. En fin d'observation (120 min), le taux de drépanocytes est de 98,33 %. En effet, la polymérisation qui conduit à la falciformation est précédée de l'étape de nucléation qui consiste à la formation des noyaux de polymérisation. Cette phase de nucléation correspond au « Delay time » qui peut aller de

quelques millisecondes (**Steinberg, 1999**) à plusieurs jours (**Galacteros, 2001**) en fonction du pourcentage de l'HbS (**Steinberg, 1999**) et de l'âge des hématies (**Galacteros, 2001**). Ceci explique l'augmentation du taux de la falciformation dans le temps. Le pourcentage de drépanocytes était de 98,33 % en 120 min. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Joppa et al. (2008)** qui ont montré que l'action du métabisulfite sur les globules rouges est temps-dépendant et augmente progressivement pour atteindre 96,5 % en 3 h. Quant aux travaux d'**Elekwa (2005)**, le pourcentage de cellules falciformées était de 80 % au bout de (1) heure d'observation. Ces résultats attestent que de la falciformation n'est pas un phénomène instantané. Mais c'est un phénomène qui se déroule dans le temps et sa cinétique est fonction du génotype du drépanocytaire (**Steinberg, 1999**).

Après traitement des globules rouges par la phénylalanine, DZHm et EZHm aux concentrations de 5 et 10 mg/mL ces substances ont inhibé la falciformation. En effet, pour la phénylalanine à la concentration de 5 mg/ml le pourcentage d'inhibition de la falciformation générée par le métabisulfite de sodium est 18,82 % et à la concentration 10 mg/ml l'inhibition de la falciformation est de 85,07 %. En fin d'observation, cette inhibition de la falciformation passe de 18,82 % en 30 min à 68,81 % en 120 min et de 56,47 à 85,07 % pour les concentrations de 5 et 10 mg/mL respectivement. Cette activité de la phénylalanine est proche de celle rapportée par **Seck et al. (2015)** qui ont obtenu un taux de réduction de la falciformation avec la phénylalanine similaire aux résultats de cette étude.

En ce qui concerne les activités des extraits DZHm et EZHm, les taux d'inhibition de la falciformation ont été respectivement de 67,45 % et 71,18 % à la concentration 5 mg/mL. Tandis qu'à la concentration 10 mg/mL des extraits DZHm et EZHm les taux d'inhibition respectifs étaient de 87,35 % et de 87,28 %.

Ces résultats révèlent donc que la phénylalanine et les extraits de ZHm sont capables d'atténuer les effets délétères générés par le métabisulfite de sodium. La comparaison des activités inhibitrices des deux substances montre que les extraits de ZHm ont une capacité d'inhibition de la falciformation qui est 2,25 fois plus forte que celle de la phénylalanine. Cette bonne performance serait liée à la richesse en composés phénoliques et en acides aminés des extraits de ZHm.

Ces résultats sont similaires à ceux de plusieurs auteurs qui ont étudié individuellement les activités antifalcémiantes des plantes la recette ZHm. En effet en 2008, **Uwakwe et Nwaoguikpe** ont montré que l'extrait aqueux de *X. aethiopica* inhibe à 85,12 % la polymérisation de l'HbS. Selon les résultats, cet extrait est également capable d'inverser la falciformation des érythrocytes et d'améliorer le rapport Fe^{2+}/Fe^{3+} . Ces auteurs ont rapporté que l'inhibition de la falciformation générée par cet extrait était due à la présence d'acides aminés tels que la phénylalanine acide glutamique, l'arginine, la Tyrosine et l'acide aspartique à des concentrations variables. En outre, des auteurs comme **Ogoda**

et al. (2002), **N'Draman-Donou et al.** (2015) et **Nur et al.** (2012) affirment que les acides aminés aromatiques ont une activité antifalcémiant.

Outre ces travaux, les résultats des investigations de **Makélélé, (2008)** et **Fatokun et al. (2015)** sur l'activité antifalcémiant de certaines plantes médicinales Congolaise et Nigérienne respectivement ont montré que les extraits aqueux et éthanoliques de *H. madagascariensis* inhibaient la polymérisation de l'HbS à 42 % et reversaient les cellules falciformées à 52 %. De plus, les résultats des travaux antérieurs (**Kplé et al., 2020**) ont montré que les extraits aqueux et éthanoliques de *Z. leprieurii* inhibent la falciformation des érythrocytes à 89 % et 81 % respectivement. Cette activité serait due à la présence des composés phénoliques dans les deux extraits de *Z. leprieurii*.

En effet, la réversion des cellules falciformées est généralement attribuée à l'inhibition de la polymérisation de l'hémoglobine S. Il est bien connu que la formation des tactoïdes intra-érythrocytaires est à la base de la falciformation des globules rouges du sang SS (**Elion et Labie, 1996**). Les travaux de **Kitadi et al. (2015)** ont montré que les composés phénoliques ont la capacité d'interagir avec les protéines. Cette interaction de certains métabolites présents dans les extraits de plantes avec l'hémoglobine S permettrait d'inhiber la polymérisation de celle-ci, en empêchant ainsi la falciformation des érythrocytes, mais elles agiraient également en stabilisant la membrane des érythrocytes par apport des molécules d'oxygène dans les globules rouges (**Ngbolua et al., 2019 ; Wembonyama, 2021**).

L'excellente activité antifalcémiant des extraits de ZHm serait due à une combinaison des effets de plusieurs facteurs dont la présence d'acides aminés, de polyphénols et du pouvoir antioxydant de ces extraits. Selon **Nur et al. (2012)** et **Sawadogo et al. (2017)**, les propriétés antioxydantes des composés phénoliques présents dans les extraits de plantes pourraient empêcher la peroxydation lipidique membranaire et de prévenir ainsi la lyse des érythrocytes.

En dehors de ce qui précède, le test de l'hémolyse a été réalisé pour rechercher l'effet protecteur des extraits sur la stabilité de la membrane des globules rouges.

Les résultats obtenus avec NaCl seul, montrent le comportement des cellules sanguines lorsqu'on fait évoluer la pression osmotique en la faisant passer d'un milieu très hypotonique à un milieu isotonique. Au cours de cette observation, le nombre de cellules lysées diminue progressivement. Comparativement, à ce phénomène, les résultats révèlent que les extraits de ZHm et la phénylalanine font aussi baisser le taux de cellules lysées dans les mêmes conditions que celui décrit précédemment. De façon générale, avec les trois substances, le nombre de cellules lysées est fortement réduit. Parmi ces substances testées, la meilleure performance a été générée par l'extrait hydroéthanolique (EZHm). Vu qu'il est admis que la phénylalanine protège les cellules érythrocytaires de l'éclatement, alors il ressort de ces résultats que l'extrait hydroéthanolique

engendre une protection de la membrane érythrocytaire qui est nettement meilleure que celles de la phénylalanine et l'extrait aqueux (DZHm). Cette protection de la membrane serait due à la présence des flavonoïdes dans les extraits. Cette assertion est en accord avec les résultats de **Kambalé et al. (2013)** et **Ramdé-Tiendrébéogo et al. (2018)**. Ces auteurs ont montré dans leurs études que l'activité antihémolytique et antipéroxydation lipidique de *Ficus sycomorus* était due à l'action des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Ces composés sont reconnus pour leurs potentialités à protéger les globules rouges contre la lyse membranaire et la peroxydation lipidique.

En effet, la drépanocytose est connue comme une anémie hémolytique à cause de l'hémolyse précoce des érythrocytes du sang drépanocytaire qui, en évacuant ainsi l'hémoglobine dans un milieu non propice, la destine à une destruction précoce qui conduit à une baisse du taux de cette protéine vitale du sang, donc à l'anémie. Toute substance qui empêcherait ou réduirait cette hémolyse serait bénéfique pour les drépanocytaires (**Mpiana et al., 2016**).

Selon les travaux de **Uwakwe et Nwaoguikpe (2008)**, les extraits de *X. aethiopica* protègent la membrane des érythrocytes SS contre les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROS), empêchant ainsi la déformation des membranes et l'hémolyse. Cette activité serait due à la présence d'acides aminés, d'alcaloïdes et de composés phénoliques dans les extraits de *X. aethiopica*. **Biapa et al. (2013)** ont également montré que l'extrait hydroéthanolique de *H. madagascariensis* protégeait la membrane des érythrocytes SS. En 2005, **Elekwa et al.** ont également montré que l'extrait aqueux de *Z. macrophylla* qui est de la même famille que *Z. leprieurii* stabiliserait la membrane des érythrocytes SS contre l'hémolyse.

En somme, toutes les plantes composant la recette ZHm renferment des métabolites tels que les acides aminés, les flavonoïdes et les polyphénols qui protègent la membrane érythrocytaire contre la lyse. En effet, plusieurs études ont prouvé que les composés phénoliques notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-radicalaires, qui leur permettent de neutraliser ou de piéger les radicaux libres (**Uwakwe et Nwaoguikpe 2008, Thephinlap et al., 2013 et Khalili et al., 2014**). De plus, les polyphénols sont connus comme chélateurs des métaux de transition, réduisant ainsi la vitesse de la réaction de Fenton. Ils peuvent aussi empêcher les oxydations causées par les radicaux libres à travers la membrane érythrocytaire (**Wong et al., 2006**). S'agissant des protéines des extraits, leur interaction avec les lipides membranaires des érythrocytes protège ces cellules contre la destruction et l'oxydation (**Chaudhuri et al., 2007 ; Sombie et al., 2011**).

Cette activité antihémolytique, ajoutée à la normalisation des drépanocytes, expliquerait l'utilisation de ces plantes contre la drépanocytose. Vu les performances des extraits de ZHm meilleures que celle de la phénylalanine, ces extraits quoi qu'ils soient bruts, constituent un espoir pour la découverte de nombreux principes actifs antifalcémiant. Ainsi, les extraits de la recette ZHm

préviendraient les complications liées à la falciformation telles que l'anémie, la douleur et l'inflammation.

L'analyse des résultats de l'activité antianémique, révèle deux évolutions distinctes dont l'une concerne les témoins non traités et l'autre est relative à l'évolution des animaux traités avec des substances. Au niveau des animaux normaux, les résultats montrent que les paramètres sanguins restent constants tout au long de l'observation. Le nombre moyen de globules rouges est de $7,40 \cdot 10^6$ uL. Ces observations ont également été faites pour le taux d'hémoglobine (13,37 g/dL) et le taux d'hématocrite (43,12 %). Ces résultats sont proches de ceux de **Yenon et al. (2015)**, **Gui et al. (2016)** et **Karamoko et al. (2019)**. Ces résultats attestent que les paramètres sanguins restent constants dans le temps pour les rats normaux et sont similaires à la norme.

L'administration de la phénylhydrazine a provoqué une diminution significative du taux d'hémoglobine, du nombre de globules rouges et de l'hématocrite. La phénylhydrazine provoque une anémie hémolytique chez les rats en diminuant le nombre de globules rouges, les taux d'hémoglobine et d'hématocrite. Ces résultats sont proches de ceux de **Bléyééré et al. (2013)**, **Al-Qayim et al. (2014)** et **Yenon et al. (2015)** qui ont observé une diminution du nombre de globules rouges et du taux d'hématocrites. Selon **Pandey et al. (2016)**, le niveau réduit d'hémoglobine peut être associé à une hémolyse ou à des perturbations de la biosynthèse de l'hème suite à l'inhibition de la liaison du fer avec l'hème et une baisse de l'activité des enzymes participant à la biosynthèse de l'hème.

Cependant, contrairement aux rats témoins normaux, les valeurs des paramètres hématologiques des rats traités augmentent progressivement dans le temps jusqu'à rétablissement complet des taux normaux. Cela montre que sans renouvellement de la dose de phénylhydrazine (durant l'expérimentation) les paramètres sanguins sont progressivement régénérés par l'organisme et leurs valeurs normales sont graduellement restaurées autour du 14^e jour. Ces résultats attesteraient que la phénylhydrazine n'interfère pas à court terme avec le mécanisme de régénération et n'altère pas définitivement la capacité de l'organisme à régénérer les paramètres sanguins (**Zangeneh et al., 2018** **Shwetha et al., 2019**). Cette assertion est soutenue par les résultats des travaux de **Goorani et al. (2019)**.

En ce qui concerne les animaux traités avec la vitamine B12, l'analyse des données recueillies montre que chez ces rats, les valeurs normales des paramètres sanguins sont rapidement restaurées. Cela révèle que la vitamine B 12 est efficace dans le traitement des dommages causés par la phénylhydrazine (**Yenon et al., 2015 ; Pandey et al., 2016**).

Quant aux rats traités avec les extraits de ZHm, les résultats montrent que comparativement aux rats témoins, le traitement des rats avec les extraits pendant 21 jours a entraîné une amélioration significative et progressive des valeurs des paramètres hématologiques au 7^e jour de traitement. Ce

résultat pourrait être dû à la présence d'alcaloïdes et des composés phénoliques dans les extraits. En effet, les alcaloïdes et les flavonoïdes sont de puissants antioxydants qui préviennent et réparent les dommages causés aux globules rouges par les radicaux libres ou les espèces d'oxygène hautement réactives (Ogbe et Adoga, 2010 ; Yenon *et al.*, 2015). Turaaskar (2013) a rapporté que la plupart des composés antianémiques sont connus pour des inhibiteurs de radicaux libres, qui inversent les conditions anémiques. Les alcaloïdes inhibent l'adénosine-monophosphate cyclique (AMPc) phosphodiesterase accumulant ainsi l'AMPc. Cet effet stimule la phosphorylation et la synthèse des protéines améliorant ainsi l'érythropoïèse (Magnani *et al.*, 1986). Ces substances phytochimiques pourraient avoir contribué à l'activité antianémique de la recette de plante observée dans la présente étude en stimulant l'érythropoïèse dans la moelle osseuse.

Les résultats de cette étude vont dans le même sens que ceux d'Etame *et al.* (2017), d'Okot-Asi *et al.* (2018), d'Olusayo et Barizonmdu, (2020) et Imo *et al.* (2021). Ces auteurs ont tous montré que les différents extraits de *H. madagascariensis* et de *X. aethiopica* ne réduisaient pas le taux d'hémoglobine dans le temps. Ainsi, la présence des feuilles de *H. madagascariensis* et des fruits de *X. aethiopica* dans cette recette auraient participé à l'activité antianémique des extraits de ZHm.

L'anémie est l'un des signes cliniques de la drépanocytose (Lemonne, 2013). L'un des moyens thérapeutiques sollicités est la thérapeutique transfusionnelle. Elle est un traitement efficace pour la plupart des complications, car elle permet d'augmenter le taux d'hémoglobine (Hb) et donc la capacité du sang à transporter l'oxygène, tout en diminuant le taux de globules rouges falciformes (Stuart et Nagel, 2004). Cependant, les transfusions sanguines répétées exposent les malades à des risques d'infections. Les extraits de ZHm en augmentant le taux d'hémoglobine et le nombre de globules blancs pourraient protéger les drépanocytaires contre ces infections et prévenir l'anémie associée à la drépanocytose.

L'évaluation de l'activité antianémique des extraits de ZHm, a permis d'évaluer l'effet de DZHm, d'EZHm, de la vitamine B12 et de la phénylhydrazine sur l'évolution du poids corporel des rats. L'analyse des résultats révèle que la phénylhydrazine a provoqué une réduction du poids corporel des rats après induction de l'anémie. Cette observation est en accord avec celle de Luka *et al.* (2014). La perte de poids corporel est l'un des signes cliniques de l'anémie, ceci serait dû au manque d'appétit chez les rats anémiés. Au cours du traitement, ces rats se sont nourris normalement, favorisant ainsi la prise de poids corporel. La diminution du poids corporel chez les rats anémiques pourrait s'expliquer par une réduction des activités des di-saccharidases qui catalysent la dernière étape de la digestion des glucides chez les rats anémiés (Viera *et al.*, 2000).

Les extraits aqueux et hydroéthanolique de la recette ZHm ont amélioré le poids des rats traités en comparaison à celui des rats anémiés. Le gain de poids des rats traités avec les extraits aqueux et

hydroéthanoliques est similaire à celui des rats ayant reçu l'antianémique la Vitamine B12. Ces résultats sont superposables à ceux obtenus par **Olusayo et Barizonmdu (2020)** et **Imo et al. (2021)** avec les extraits aqueux de *H. madagascariensis* et de *X. aethiopica* respectivement.

Ainsi les contractions induites par l'injection intra péritonéale de l'acide acétique à 1 % est une méthode utilisée pour étudier l'effet analgésique périphérique d'une substance. La douleur provoquée par l'injection de l'acide acétique à 1 % est due à la libération de la sérotonine, de l'histamine, de la bradykinine et des prostaglandines (PGE2, PGF2) (**Negus et al., 2006**). Sans antalgique, l'administration de l'acide acétique a généré en moyenne 53,33 contorsions chez les rats. Un tel résultat a été observé par **Traoré et al. (2019)**. Ces médiateurs chimiques stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire. Il en résulte une douleur plus tardive et diffuse qui se manifeste chez les rats par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale (**Chatter et al., 2011 ; Frederico et al., 2009**).

La falciformation et l'hémolyse des globules rouges entraînent de sévères défauts au niveau de la membrane érythrocytaire et de nombreuses anomalies fonctionnelles, susceptibles de participer au déclenchement des crises vaso-occlusives. Ces crises constituent le syndrome le plus handicapant de la maladie, de plus, elles ont un caractère imprévisible et aléatoire (**Hierso, 2015**). Le plus souvent de nature ostéo-articulaire chez l'adulte, elles sont associées à des douleurs intenses et sont de fréquence variable. Les crises vaso-occlusives étant les complications les plus fréquentes de la drépanocytose, les antalgiques sont donc les médicaments les plus utilisés par les drépanocytaires pour soulager la douleur (**Hierso, 2015**).

L'administration des extraits aux différentes doses de 200, 400 et 800 mg/kg de pc a généré une réduction du nombre de crampes abdominales causées par l'acide acétique. EZHm et DZHm aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc, ont eu un effet comparable à celui de l'Ibuprofène. En effet le pourcentage d'inhibition de la douleur à la dose 400 mg/kg de pc a été de 77,02 % ; 83,28 % pour EZHm et DZHm respectivement puis de 73,06 % et 84,51 % à la dose 800 mg/kg de pc tandis que celui de l'Ibuprofène était 78,3 %. Cette activité des extraits est dose-dépendante. L'effet analgésique des extraits pourrait être lié à l'inhibition de la libération des médiateurs pro-inflammatoires par la présence des alcaloïdes. En effet, selon **Okwu et Josiah (2002)** et **Aprioku et al. (2014)**, les alcaloïdes sont bien connus pour leur capacité à inhiber la perception des douleurs. De plus, **Koua et al. (2018)**, ont montré que la présence des flavonoïdes dans les extraits de *Crinum scillifolium* aurait inhibé les spasmes induits par l'injection de l'acide acétique. La présence de ces composés chimiques dans les extraits de ZHm serait donc responsable de l'activité analgésique périphérique de celle-ci.

L'inflammation joue un rôle majeur dans la physiopathologie de la drépanocytose, en effet

lorsqu'elle est récurrente, elle contribue davantage à l'obstruction des vaisseaux sanguins à travers plusieurs mécanismes biochimique. Dans le but d'atténuer ces effets néfastes chez les drépanocytaires l'inflammation a été provoquée chez les rats. A ce niveau, la Carragénine et l'Adjuvant Complet de Freund (ACF) ont été utilisés pour provoquer une inflammation aiguë et chronique respectivement afin de vérifier l'effet préventif et curatif des extraits de ZHm. Le test de l'œdème induit par la Carragénine présente des caractéristiques similaires à celles de l'inflammation aiguë, à savoir une augmentation de l'extravasation de cellules et de liquide dans les tissus. Ils sont utilisés pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des inhibiteurs sélectifs de la COX-2 (**Obiri et al., 2014 ; Koua et al., 2018**).

En effet, la réponse inflammatoire est un événement triphasique. La phase initiale (1-2 h) est attribuée à la libération de médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine, ce qui favorise la vasodilatation et la transudation plasmatique. Une deuxième phase (2-3 h) implique des kinines, principalement la bradykinine, comme médiateur augmentant la perméabilité vasculaire et la formation d'œdèmes. La dernière phase (3-6 h) est caractérisée par la libération accrue des métabolites de l'acide arachidonique tels que les prostaglandines, la migration des neutrophiles et la libération de radicaux libres d'oxygène dans la zone inflammatoire (**Kumar et Jain, 2014 ; Mandal et al., 2015 ; Koua et al., 2018**).

Dans le cas de l'inflammation aiguë, les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de ZHm aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc inhibe significativement la formation de l'œdème des pattes de rat à l'instar du médicament de référence, le Diclofenac (10 mg/kg de Pc). C'est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) qui exerce une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de la cyclo-oxygénase (COX1 et COX2) et supprime la production de la prostaglandine, d'histamine et de sérotonine. Ces substances sont impliquées dans l'augmentation de la vasodilatation et la perméabilité vasculaire (**Mansour, 2015 ; Sinha et sil, 2015**). La diminution du volume de l'œdème de la patte des rats par les extraits de ZHm aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc pourrait s'expliquer par la présence de polyphénols dans ces extraits. Ces derniers auraient agi comme des substances à action antagoniste des effets de l'histamine, de la sérotonine, de la bradykinine et de la biosynthèse des prostaglandines. En ce qui concerne l'inflammation chronique, l'étude a permis d'observer chez les rats un œdème qui s'est transformé en ulcère. Les complications de cette lésion prennent aussi en compte les douleurs excessives, l'inflammation durable, l'érythème péri-articulaire et une perte du fonctionnement normal de la patte des rats. Ces résultats concordent avec ceux de **Ramprasad et al. (2006)** qui ont constaté que le CFA provoque la polyarthrite rhumatoïde en engendrant ces complications. Cette assertion va dans le même sens que ceux de **Stills (2005)**, qui a montré que la modulation immunitaire par le CFA entraîne une inflammation, une destruction des tissus et un risque de douleur et de détresse chez

l'animal hôte. L'arthrite induite par l'Adjuvant chez l'animal hôte se développe en deux phases : une phase d'inflammation aiguë péri-articulaire suivi d'une phase d'inflammation chronique avec atteinte des articulations et des os (Pearson, 1956 ; Jacobson *et al.*, 1999). Dans cette étude, l'inflammation aiguë a été révélée chez les rats du groupe témoin arthritique CFA entre les jours 4 et 6, suivie d'une phase d'inflammation chronique poly-arthritique qui a commencé après le 8^{ème} jour.

Une des caractéristiques de l'inflammation chronique est la perte de poids corporelle. Cette perte de poids est un phénomène bien illustré au niveau de la figure 30, sur laquelle on observe une baisse du poids au 2^e jour de l'étude. Dans l'ensemble, toutes les courbes amorcent un profil progressivement ascendant révélant une reprise progressive du poids. Cela correspond à une action du système immunitaire des rats. L'observation détaillée des résultats révèle que comparativement aux animaux non traités, le gain pondéral s'effectue rapidement chez tous les animaux traités à la dose 800 mg/kg pc de ZHm qui se révèle plus efficace que toutes les substances testées. La perte de masse corporelle implique un processus catabolique net, avec des bilans énergétiques, protéiques et en micronutriments négatifs sur une période donnée. La présence de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , IL-6 et TNF- α a été signalée comme étant les médiateurs de la perte de masse corporelle qui résulte d'une inflammation chronique (Kiecolt-Glaser *et al.*, 2010). Ceci est en accord avec l'observation faite dans cette étude où les rats arthritiques avaient un poids corporel significativement bas que les rats non-arthritiques. Le traitement des rats avec les différents extraits de la recette ZHm aurait conduit à l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , IL-6 et TNF- α . Selon Kiecolt-Glaser *et al.* (2010), ces cytokines pro-inflammatoires ont été signalées comme étant les médiateurs de la perte de masse corporelle qui résulte d'une inflammation chronique.

De façon générale, au niveau du témoin arthritique, l'analyse des résultats montre que le volume de l'œdème augmente rapidement jusqu'à atteindre le pic au 4^e jour puis continue lentement jusqu'au 21^e jour comparativement aux rats non traités. Tous les autres lots traités ont eu de légers œdèmes au 4^e jour qui diminue progressivement de volume, jusqu'au 21^e jour. Le volume des pattes traitées est plus faible qu'au 1^e jour d'observation. Ces substances ont donc réussi à réduire l'œdème. La dose de 800 mg/kg pc de ZHm a donc une activité similaire à celle du Diclofenac. Cette capacité, à réduire les œdèmes par les extraits serait liée à la présence des composés phénoliques. En effet, les polyphénols sont reconnus pour leurs activités sur les lésions cutanées pour booster le système immunitaire.

L'administration quotidienne des extraits de la recette ZHm a provoqué, de manière dose-dépendante, la réduction de l'œdème. De nombreuses études ont montré que les polyphénols et leurs dérivés inhiberaient l'activité enzymatique de l'acide arachidonique et réduiraient la production des médiateurs de l'inflammation tels que l'acide arachidonique, le monoxyde d'azote, les

prostaglandines et les leucotriènes (**Morakinyo et al., 2011 ; Sinha et al., 2015**). En plus des composés phénoliques, les stérols, terpènes et saponines présents dans les extraits de la recette ZHm inhiberaient la migration des cellules inflammatoires. De plus, selon **Araico et al. (2007)**, ces composés inhiberaient la libération de cytokines pro-inflammatoires. En outre, les propriétés antioxydantes des composés phénoliques, les stérols, terpènes pourraient réduire les radicaux libres produits lors d'une inflammation (**Alkushi et Elsayy, 2017**). Physiologiquement, ces composés participeraient à l'activation de la voie classique du complément, la mobilisation et l'activation des leucocytes, la stimulation de la phagocytose et la sécrétion de cytokines par les monocytes (**Hajek et al., 2011 ; Metrouh-Amir et Amir, 2018**).

L'anémie des troubles chroniques se caractérise par une réduction des taux de fer, de la survie des globules rouges, de la capacité de fixation du fer et par l'incapacité de la moelle osseuse à augmenter la production d'érythrocytes. Ce phénomène est généralement associé à une infection chronique, une inflammation et une malignité (**Cartwright, 1966**). La progression de l'inflammation est associée à une réduction du nombre de globules rouges, du taux d'hémoglobine et d'hématocrite (**Braunwald et al., 2001**). Ces extraits ont montré leur capacité à atténuer l'inflammation et l'anémie associée. Cela a été mis en évidence par une réduction du nombre de globules blancs, du taux de fibrinogène et du nombre de plaquettes sanguines puis une augmentation du nombre de globules rouges, des taux d'hémoglobine et d'hématocrite de manière significative par rapport aux résultats des rats non traités. Ces extraits en réduisant le taux de fibrinogène et le nombre de plaquette chez les rats traités avec les extraits et le Diclofenac, pourraient participer à la diminution de la viscosité sanguine de sujets drépanocytaires.

En effet, lors de toute réaction inflammatoire, la réponse de la paroi vasculaire se traduit par une activation des cellules endothéliales avec accroissement de la perméabilité vasculaire. Simultanément, les neutrophiles et autres polynucléaires sont activés, contribuant ainsi à la mise en place d'une réponse systémique mettant en jeu des cytokines pro-inflammatoires, avec augmentation du taux de fibrinogène. Cette réponse systémique engendre une augmentation de la viscosité plasmatique, de l'agrégation des hématies et de la rigidité des hématies (**Gaudard 2003**).

Ces effets observés sur les paramètres sanguins, indiquent le potentiel des extraits de ZHm à inhiber la progression de l'inflammation. Ces résultats confirment ceux obtenus au cours du test à la Carragénine. L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et hydroéthanoliques de la recette ZHm serait due à l'effet synergique des composés chimiques présent dans *Z. leprieurii*, *H. madagascariensis* et *X. aethiopica*. Les extraits de ZHm pourraient être considérés comme des produits anti-inflammatoires.

Au regard du contexte oxydatif bien présent dans la drépanocytose, la question d'un

développement thérapeutique basée sur l'administration d'agents réducteurs ou antioxydants s'est naturellement posée. Les travaux d'**Aboudou, (2009)** ; **Uwakwe *et al.* (2008)** et **Antia *et al.* (2015)** ont révélé la présence des minéraux tels que le fer et le zinc, des acides aminés essentiels, des Vitamine (A, C et E) à des teneurs variables et des composés phénoliques dans les différentes plantes issues de la recette ZHm. La présence de ces composés chimiques et l'activité antiinfectieuse, antimicrobienne (**Zondegoumba *et al.*, 2019**), antipaludique et antityphoïde (**Manzo, 2012 ; Kengni *et al.*, 2016**) de ces différentes plantes pourraient aider les drépanocytaires à lutter contre les symptômes de la drépanocytose. L'action rapide et efficace observée avec les extraits de ZHm laisse croire qu'il y aurait eu un effet synergique ou d'addition de molécules à activité antifalcémiant, antihémolytique, antianémique, analgésique, antiinflammatoire et antioxydante des différentes plantes issues de la recette ZHm. Le décocté de ZHm suscite ainsi un véritable espoir dans la recherche de molécules bioactives pour la prise en charge à moindre coût de la drépanocytose.

A decorative horizontal scroll with a marbled grey and white pattern. The scroll has a black outline and rounded ends. The text is centered within the scroll.

**CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

L'objectif de ce travail était d'évaluer le potentiel antidrépanocytaire et l'innocuité de la combinaison de quelques plantes utilisées dans la région de l'Indénié-Djuablin et de confirmer leurs effets thérapeutiques au plan scientifique. Au terme de ce travail, l'enquête ethnobotanique a permis de répertorier 26 espèces végétales appartenant à 16 familles, 26 genres. Ces espèces de plantes formaient 11 recettes de plantes, dont 91 % d'entre elles sont polyspécifiques. Neuf (9) tradipraticiens composés de 90 % de femmes de plus 50 ans et non scolarisés ont été interrogés lors de cette étude. Au niveau des organes et du mode de préparation, l'écorce du tronc et la décoction ont été les plus utilisées. Sur la base de leurs activités biologiques, trois de ces recettes polyspécifiques ont fait objet d'études chimiques.

Le screening phytochimique des extraits aqueux et hydro-éthanolique de ces trois recettes de plantes a révélé la présence de tanins catéchiques, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de polyphénols, de quinones, de stérols, de terpènes et de saponines. Les résultats de l'analyse phytochimique ont également montré que l'extrait hydroéthanolique des recettes ZHm et DbA sont riches en phénols totaux et en flavonoïdes que les extraits de la recette JJP. Aussi, ces extraits exercent-ils une bonne activité antioxydante *in vitro*.

Par ailleurs, les extraits aqueux et hydro-éthanolique des recettes ZHm et DbA avec une dose létale 50 (DL₅₀) supérieure à 2000 mg/kg de PC ne sont pas toxiques. Quant à la recette JJP, elle a entraîné une mortalité immédiate aux doses uniques de 300 et 2000 mg/kg de Pc. La recette (ZHm) composée de *Xylopiya aethiopica*, *Zanthoxylum leprieurii* et *Harungara madagascariensis* a été retenue pour les études biologiques. Il ressort de cette étude de toxicité subaiguë que les extraits de ZHm ne modifient pas les paramètres biochimiques, mais ont un effet sur la lignée rouge du système hématopoïétique des animaux. Ces extraits ne sont pas toxiques et cela se reflète sur les micrographies des organes.

In vitro, les extraits aqueux et hydro-éthanolique de la recette ZHm à la concentration de 10 mg/mL ont inhibé la formation de drépanocytes provoquée par le métabisulfite de sodium. L'activité antifalcémiant maximale a été de 87,35 % pour l'extrait aqueux et 87,28 % pour l'extrait hydro-éthanolique après 120 min de contact des hématies ; les deux extraits ont le même effet. Ces extraits ont également eu un effet anti-hémolytique aux faibles concentrations de NaCl. Ces activités anti-hémolytique et antifalcémiantes sont dose-dépendantes.

Les extraits aqueux et hydro-éthanolique de la recette ZHm aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc ont augmenté de façon significative le taux d'hémoglobine dès la 1^{ère} semaine de traitement chez les rats anémiés. L'activité antianémique des extraits est similaire à celle de la Vitamine B 12.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire a montré que chez les rats traités avec les extraits de la recette ZHm aux doses de 400 et 800 mg/kg/Pc, l'œdème a diminué de façon significative. Ces

extraits possèdent également une activité analgésique aux mêmes doses. Le Dichlofenac et l'Ibuprofène utilisés pour ces deux tests ont eu des activités analogues avec les extraits de ZHm aux doses 400 et 800 mg/kg/Pc.

Les différents extraits de ZHm, ont tous eu des effets dose-dépendante pour toutes les activités montrées dans cette étude. Les vertus thérapeutiques de la recette ZHm justifient son utilisation contre la drépanocytose en milieu traditionnel dans l'Indénié-Djuablin et cela est basé sur la présence des composés phénoliques et des alcaloïdes.

En perspectives

Ce travail de recherche, loin d'être achevé doit se poursuivre dans le but de :

- identifier les principes actifs anti-drépanocytaires impliqués dans les différentes activités pharmacologiques étudiées ; ce qui permettrait de standardiser les produits issus de ces plantes ;
- tester à nouveau les principes actifs qui seraient isolés sur des rats drépanocytaires en suivant des marqueurs spécifiques de toxicité ;
- faire des essais cliniques en associant les médecins afin de mettre en place un phytomédicament ;
- effectuer des essais de synthèse du principe actif et cultiver *Zanthoxylum leprieurii*, *Harungara madagascariensis* et *Xylopiya aethiopica* pour une conservation ;
- produire une formulation galénique de l'extrait de la recette, efficace et sans danger pour la population.

A horizontal banner with a marbled pattern in shades of grey and white. The banner has rounded corners and is decorated with scroll-like motifs at each of the four corners. The text is centered within the banner.

**IV- REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abdou B.A. 2009.** Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine et de l'Université de Ngaoundéré, 228p.
- Abiodun F., Tharcitus C.O. & Nnena 2011.** Isolation, characterization and antimicrobial evaluation of seed extract of *Jatropha gossypifolia*. *Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*, **4(2)**: 1 – 4.
- Adeneye A.A., Olagunju J.A., Elias S.O., Olatunbosun D.O., Mustafa A.O., Adeshile O.I., Ashaolu A.O., Laoye T.A., Bamigboye A.O. & Adeoye A.O. 2008.** *Harungana madagascariensis* in acute and repeated acetaminophen hepatotoxic rats. *International Journal of Applied Research in Natural Product*, **1(3)**: 29-42.
- Adeola T.K.M., Yusuf O.G., Hameedat T.A., Soliu A.A. & Sukurat O.U. 2019.** Evaluation of the antidiarrheal activity of the leaf extract of *Parquetina nigrescens* and formulation into oral suspensions. *Journal of Experimental Pharmacology*, **11**: 65-72.
- Adetuyi B.O., Dairo J.O. & Didunyemi O.M. 2015.** Anti-Hyperglycemic Potency of *Jatropha Gossypifolia* in Alloxan Induced Diabetes. *Biochemistry & Pharmacology*, **4(5)**: 1-5.
- Afieroho O.E., Okonkwo T.J.N., Shorinwa O.A., Okonkwo C.J., Ajibade S.O. & Afieroho M.C., 2017.** *Harungana madagascariensis* Lam ex Poir (Hypericaceae) fruits oil extract: phytochemistry and acute toxicity evaluation. *International Journal Pharmacology Science Research*, **8**: 3341-3346.
- Agbor G.A. & Odetola A.A. 2005.** Effect of *Parquentina nigrescense* on erythrocyte indices and serum electrolyte of rats following acute blood loss. *Pakistan Journal of Biological Science*. **8(4)**: 527-531.
- Aisha A.F.A., Abu-Salah K.M., Darwis Y. & Abdul M.S. 2009.** Screening of antiangiogenic activity of some tropical plants by rat aorta ring assay. *International Journal Pharmacology*, **5**: 370-376.
- Aiyelaagbe O.O., Adesogan K., Ekundayo O. & James B.G. 2007.** Antibacterial diterpenoids from *Jatropha podagrica* Hook. *Phytochemistry*, **68**: 2420- 2425.
- Aliu M., Charles A. & Kwesi M.B. 2016.** *Terminalia ivorensis* A. Chev. ethanolic stem bark extract protects against gentamicin-induced renal and hepatic damage in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **6(04)**: 175-182.
- Alkushi A.G.R. & Elsayy N.A.M. 2017.** Quercetin attenuates, indomethacin-induced acute gastric ulcer in rats. *Folia Morphol (Warsz)*, **76(2)**:252-261.
- Al-Qayim M., Ghali L. & Al-Azwai T. 2014.** Comparative effects of propolis and malic acid on hematological parameters of aluminum exposed male rats. *Global Journal Biosciences and*

Biotechnology, **3(1)**: 6-11.

- Ambe A.S.A., Ouattara D., Tiebre M-S., Vroh B.T.A., Zirihil G.N. & N'guessan K.E. 2015.** Diversité des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel de la diarrhée sur les marchés d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences*, **26(2)**: 4081-4096.
- Amer J., Goldfarb, A. & Fibach, E. 2003.** Flow cytometric measurement of reactive oxygen species production by normal and thalassaemic red blood cells. *European Journal of Haematology*, **70(2)**: 84–90.
- Amer J. & Fibach E. 2005.** Chronic oxidative stress reduces the respiratory burst response of neutrophils from beta-thalassaemia patients. *British Journal of Haematology*, **129(3)**: 435–441.
- Amer J., Ghoti H., Rachmilewitz E., Koren A., Levin C. & Fibach E. 2006.** Red blood cells, platelets and polymorphonuclear neutrophils of patients with sickle cell disease exhibit oxidative stress that can be ameliorated by antioxidants. *British Journal of Haematology*, **132(1)**:108-113.
- Amujoyegbe OO., Idu M., Agbedahunsi J.M. & Erhabor J.O. 2016.** Ethnomedicinal survey of medicinal plants used in the management of sickle cell disorder in Southern Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, **185**: 347-360.
- Annaix V. & Thuillier A. 2000.** Le moniteur *Internat hématologie* (Tome 3). Editions Groupe Liaisons SA, *Ruel-Malmaison*. 1-36.
- Antia B.S., Ita B.N. & Udo U.E. 2015.** Composition nutritive et propriétés antioxydantes in vitro des extraits de *Harungana madagascariensis* Stembark. *Journal of Medicinal Food*, **18(5)**: 609-614.
- Anupama A.S., Kishor N.R., Rahul D.K. & Kanchan S.M. 2012.** Evaluation of antiinflammatory and analgesic activities of *Tamarindus indica* seeds. *International Journal Pharmacology Sciences Drug Research*, **4(3)**: 213-217.
- Apovo M., Beuzard Y., Galacteros F., Bachir D. & Giraud F. 1994.** The involvement of the Ca-dependent K channel and of the KCl co-transport in sickle cell dehydration during cyclic deoxygenation. *Biochimica and Biophysica Acta*, **1225(3)**: 255-258.
- Apurba S.A., Faruq H., Farhana R., Shakhawat H.B., Maima M. & Jamaluddin A.T.M. 2013.** Study of pharmacological activities of methanol extract of *Jatropha gossypifolia* fruits'. *Journal of Basic Clinical Pharmacy*, **4(1)**: 20-24.
- Aprioku J.S., Nwidu L.L. & Amadi C.N. 2014.** Evaluation of toxicological profile of ibuprofen in wistar albino rats. *American Journal of Biomedical Science & Research*, **6(1)**: 32-40.
- Araico A., Terencio M.C., Alcaraz M.J., Domínguez J.N., León C. & Ferrándiz M.L. 2007.** Evaluation of the antiinflammatory and analgesic activity of Me-UCH9, a dual

- cyclooxygenase-2/5- lipoxygenase inhibitor. *Life Science*, **80**: 2108-2117.
- Arnal C. & Girot R. 2002.** Drépanocytose chez l'adulte. *Encycl. Méd. Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Hématologie*, 16-22.
- Arruda M.M., Mecabo G., Rodrigues C.A., Matsuda S.S., Rabelo I.B. & Figueiredo M.S. 2013.** Antioxidant vitamins C and E supplementation increases markers of haemolysis in sickle cell anaemia patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *British Journal of Haematology*, **160(5)**: 688-700.
- Asakura T., Minakata K., Adachi K., Russell M.O. & Schwartz E. 1977.** Denatured hemoglobin in sickle erythrocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, **59(4)**: 633-640.
- Asekun O.T. & Adeniyi B.A. 2004.** Antimicrobial and cytotoxic activities of the fruit essential oil of *Xylopiya aethiopica* from Nigeria. *Fitoterapia*, **75**: 368-370.
- Aslan M., Thornley-Brown D. & Freeman B.A. 2000.** Reactive species in sickle cell disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **899**: 375-391.
- Aubry Pierre & Gaüzère B-A. 2019.** Hémoglobinoses Actualités. *Médecine Tropicale*, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux (France) 16p.
- Aufradet E. 2012.** Drépanocytose et activité physique : conséquences sur les mécanismes impliqués dans l'adhérence vasculaire, l'inflammation et le stress-oxydatif. Université de Lyon, Science et Technique des Activité Physique et Sportive, Lyon, France 264p.
- Aurélié C. 2016.** Dépistage du trait drépanocytaire en médecine générale, retour d'une année d'expérience dans le Nord-Est parisien. Thèse de Doctorat Université Paris Descartes, Faculté de Médecine Paris Descartes (France), 85p.
- Ayoola O., Akinloye O., Oguntibeju O.O., Oke J.M. & Odetola A.A. 2011.** Antioxidant activities of *Parquetina nigrescens*. *African Journal of Biotechnology*, **10(24)**: 4920-4925.
- Bachir R.G. & Hachemi B. 2007.** Etude des phytostérols et des acides gras de *Pistachia atlantica*. *Afrique Science*, **3(3)**: 405 – 412.
- Balde M.A., Traore M.S., Diane S., Diallo M.S.T., Tounkara T.M., Camara A., Baldé E.S., Bah F., Ouedraogo U., Drame H., Diallo H., & Bald A.M. 2015.** Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants Traditionally Used in Low and Middle - Guinea for the Treatment of Skin Diseases. *Journal of Plant Sciences*, **3(2)**: 32-39.
- Bebawi F.F., Vitelli J.S., Campell S.D., Vogler W.D., Lockett C.J., Grace B.S., Lukitsch B. & Heard T.A. 2007.** The biology of Australian weeds 47. *Jatropha gossypifolia* L. *Plant Protection Quarterly*, **22(2)**: 42-58.
- Beetsch J.W., Park T.S., Dugan L.L., Shah A.R. & Gidday J.M. 1998.** Xanthine oxidase-derived superoxide causes reoxygenation injury of ischemic cerebral endothelial cells. *Brain Research*,

786 (1-2): 89–95.

- Belcher J.D., Marker P.H., Weber J.P., Hebbel R.P. & Vercellotti G.M. 2000.** Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular endothelium and vaso-occlusion. *Blood*, **96(7)**: 2451–2459.
- Béné K., Camara D., Fofie N.B.Y., Kanga Y., Yapi A.B., Yapo Y.C., Ambe S.A. & Zirihi G.N. 2016.** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua, District du Zanzan (Côte d’Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences*, **27(2)**: 4230-4250.
- Berger J. 2007.** Phenylhydrazine haematotoxicity. *Journal of Applied Biomedicine*, **5**: 125-130.
- Bergmeyer H.U. & Horder M. 1980.** IFCC method for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *Journal of Clinical Chemistry*, **18**: 521-553.
- Bernard J., Lévy J.P., Varet B., Clauvet J.P., Rain J.D. & Sultan Y. 1996.** Abrégés d’hématologie. In : le globule rouge et pathologie. *8ème Edition Masson, Paris*, 68-74.
- Bernaudin F., Verlhac S., Chevret S., Torres M., Arnaud C., Kamdem A., Grazia N.M. & Delacourt C. 2010.** Long-term results of related, myeloablative stem cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*, **110(7)**: 2749-2756.
- Beyeme-Owono M. & Chiabi A. 2004.** Physiopathologie et clinique de la drépanocytose chez l’enfant. *Clinics in Mother and Child Health*, **1**: 1-6.
- Bhagat S., Patra P.K., & Thakur A.S. 2012.** Association of Inflammatory Biomarker C-Reactive Protein, Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity Marker with HbF Level in Sickle Cell Disease Patients from Chattisgarh. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **27(4)**: 394-399.
- Biapa N.P.C., Oben E.J. & Ngogang Y.J. 2013.** Acute and sub-acute toxicity of *Harungana madagascariensis* LAM. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **3(1)**: 45-57.
- Bidié A.P., N’Guessan B.B., Yapo A.F., N’Guessan J.D. & Djaman A.J., 2011.** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, **8(1)**: 1-11.
- Bidie A.P., Adeoti F.M., Yapo F.A., Tiekpa Wawa J., N’Guessan J.D. & Djaman J.A. 2016.** Effet de l’extrait total aqueux de *chrysophyllum perpulchrum* sur les paramètres hématologiques, biochimiques et la croissance pondérale des rats wistar sains. *Revue Ivoirienne des Sciences Technologies*, **28**: 333-348.
- Biswanath D. Padma R, Srinivas S., K.V. & Rathna D. 1996.** Jatrodien, a lignin from stems of *Jatropha grossyptifolia*. *Phytochemistry*, **41(3)**: 985-987.
- Bla K.B., Trebissou J.N.D., Bidie A.P. 2015.** Étude ethnopharmacologique des plantes antipaludiques utilisées chez les Baoulén’Gban de Toumodi dans le Centre de la Côte d’Ivoire.

Journal of Applied Biosciences, **85**: 7775-7783.

- Bléyééré N.M., Kouadio H.J., Koné M., Sawadogo D. & Yapo A.P. 2014.** Comparison during pregnancy of iron metabolism between adolescent and adult women in Côte d'Ivoire. *Applied Science Reports*, **1(1)**: 16-23.
- Blockmans D., Deckmyn H. & Vermeylen J. 1995.** Platelet activation. *Blood Reviews*, **9(3)**: 143-156.
- Bolanos-Meade J. & Brodsky R.A. 2009.** Blood and marrow transplantation for sickle cell disease: overcoming barriers to success. *Current opinion oncology*, **21**:158-161.
- Brandão M.M., Fontes A., Barjas-Castro M.L., Barbosa L. C., Costa F.F., Cesar C.L. & Saad, S.T.O. 2003.** Optical tweezers for measuring red blood cell elasticity: application to the study of drug response in sickle cell disease. *European Journal of Haematology*, **70(4)**: 207–211.
- Braunwald E, Fauci A. & Kasper D. 2001.** Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th edition, *McGraw-Hill*. 285-289.
- Brittain J.E. & Parise L.V. 2008.** The alpha4beta1 integrin in sickle cell disease. *Transfusion Clinique et Biologique : Journal de la Société Française de Transfusion Sanguine*, **15(1-2)**: 19–22.
- Brugnara C. & Tosteson D.C. 1987.** Inhibition of K transport by divalent cations in sickle erythrocytes. *Blood*, **70(6)**: 1810-1815.
- Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. Tec & Doc et médicales internationales, 3^{ème} édition. Paris (France), 1120p.
- Bullangpoti V., Wajnberg E., Audant P. & Feyereisen R. 2012.** Antifeedant activity of *Jatropha gossypifolia* and *Melia azedarach* senescent leaf extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use as synergists. *Pest Management Science*. **68**:1255-1264.
- Bukhari 2013.** The central analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *carthamus oxycantha*; journal of physiologyand, **64(3)**: 369-375
- Cadenas E. & Davies K.J. 2000.** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology & Medicine*, **29(3-4)**: 222–230.
- Callahan M.K., Williamson P. & Schlegel R.A. 2000.** Surface expression of phosphatidylserine on macrophages is required for phagocytosis of apoptotic thymocytes. *Cell Death and Differentiation*, **7(7)**: 645–653.
- Campanella M.E., Chu H., Wandersee N.J., Peters L.L., Mohandas N., Gilligan D.M. & Low P.S. 2008.** Characterization of glycolytic enzyme interactions with murine erythrocyte membranes in wild-type and membrane protein knockout mice. *Blood*, **112(9)**: 3900-3906.

- Cartwright GE 1966.** The anemia of chronic disorders. *Seminars in Hematology*, **3(4)**: 351-375.
- Carol S.A. 1995.** Acute, subchronic and chronic toxicology. In *CRC Handbook of Toxicology Michael JD*, 51-104.
- Castro O., Brambilla D.J., Thorington B., Reindorf C.A., Scott R.B., Gillette P. & Levy P.S. 1994.** The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood*, **84(2)**: 643-649.
- Chaar V., Picot J., Renaud O., Bartolucci P., Nzouakou R., Bachir D. & El Nemer W. 2010.** Aggregation of mononuclear and red blood cells through an $\alpha_4\beta_1$ -Lu/basal cell adhesion molecule interaction in sickle cell disease. *Haematologica*, **95(11)**: 1841-1848.
- Champion H.C., Bivalacqua T.J., Takimoto E., Kass D.A. & Burnett A.L. 2005.** Phosphodiesterase-5A dysregulation in penile erectile tissue is a mechanism of priapism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102(5)**: 1661-1666.
- Chang J., Shi P.A., Chiang E. Y. & Frenette P.S. 2008.** Intravenous immunoglobulins reverse acute vaso-occlusive crises in sickle cell mice through rapid inhibition of neutrophil adhesion. *Blood*, **111(2)**: 915-923.
- Charache S., Terrin M.L, Moore R.D., Dover G.J., Barton F.B. Eckert S.V., McMahon R.P. & Bonds D.R. 1995.** Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crisis in sickle cell anemia. Investigators of the multicenter study of hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *New England Journal of Medicine*, **332(20)**:1317-1322.
- Charpentier A. 1996.** Sang et cellules sanguines. *Nathan, Paris*. 105p.
- Chatter R., Othman RB, Rabhi S., Kladi M., Tarhouni S. & Kharrat R. 2011.** *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of neorogioltriol, a new diterpene extracted from the red algae *Laurencia glandulifera*. *Marine Drugs*, **9(7)**: 1293-1306.
- Chaudhuri A., Bowling K., Funderburk C., Lawal H., Inamdar A., Wang Z. & O'Donnell J.M. 2007.** Interaction des facteurs génétiques et environnementaux dans un modèle de parkinsonisme de la drosophile. *Journal of Neurosciences*, **27(10)**: 2457-2467.
- Chiang E.Y. & Frenette P.S. 2005.** Sickle cell vaso-occlusion. *Hematology/oncology Clinics of North America*, **19(5)**: 771-784.
- Chiang E.Y., Hidalgo A., Chang J., & Frenette P.S. 2007.** Imaging receptor microdomains on leukocyte subsets in live mice. *Nature Methods*, **4(3)**: 219-222.
- Chies J.A. & Nardi N.B. 2001.** Sickle cell disease: a chronic inflammatory condition. *Medical Hypotheses*, **57(1)**: 46-50.
- Chiu D., Lubin B., Roelofsen B. & Deenen L.L. 1981.** Sickled erythrocytes accelerate clotting in

vitro: an effect of abnormal membrane lipid asymmetry. *Blood*, **58(2)**: 398–401.

- Cho C.-S., Kato G.J., Yang S.H., Bae S.W., Lee J.S., Gladwin M.T. & Rhee S.G. 2010.** Hydroxyurea-induced expression of glutathione peroxidase 1 in red blood cells of individuals with sickle cell anemia. *Antioxidants & Redox Signaling*, **13(1)**: 1-11.
- Christiana B.A.A. & Bamidele T.O. 2012.** Antibacterial and Antifungal properties of *Distemonanthus benthamianus* (Fabaceae) Crude Extract. *The Global Journal of Pharmaceutical Research*, **1(4)**: 567-574.
- Collier H.O.J., Dinneen L.C., Johnson C.A. & Schneider C. 1968.** The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology*, **32(2)**: 295-310.
- Connes P., Lamarre Y., Waltz X., Ballas S. K., Lemonne N., Etienne-Julan M. & Romana M. 2014.** Haemolysis and abnormal haemorheology in sickle cell anaemia. *British Journal of Haematology*, **165(4)**: 564–572.
- Connes P. 2011.** Altered autonomic nervous system function in sickle cell disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **184(4)**: 398–400.
- Coulibaly A., Djih B.N., Dombia I., Yapi H.F. & Djaman A.J. 2010.** Valeurs sériques enzymatiques du cœur chez les lapins traités par *Phyllanthus amarus* (Euphorbiacées). *Phytothérapie*, **8(6)**: 348-352.
- Croizat H. 1994.** Circulating cytokines in sickle cell patients during steady state. *British Journal of Haematology*, **87(3)**: 592-597.
- Damilola O.A., Aja A.O., Eluu F. & Ngobidi K.C 2017.** Effects of methanol seed extract of *Aframomum melegueta* (alligator pepper) on wistar rats with 2,4-dinitrophenylhydrazine-induced hemolytic anemia. *Recent Advances in Biology and Medicine*, **3**: 11-17.
- Das S.K. & Nair R.C. 1980.** Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *British Journal of Haematology*, **44(1)**: 87-92.
- Dasgupta T., Hebbel R.P. & Kaul D.K. 2006.** Protective effect of arginine on oxidative stress in transgenic sickle mouse models. *Free Radical Biology & Medicine*, **41(12)**: 1771-1780.
- De Franceschi L., Fumagalli L., Olivieri O., Corrocher R., Lowell C.A. & Berton G. 1997.** Deficiency of Src family kinases Fgr and Hck results in activation of erythrocyte K/Cl cotransport. *The Journal of Clinical Investigation*, **99(2)**: 220-227.
- Delattre J., Beaudoux J-L. & Bonnefont-Rousselot D. 2007.** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed. Tec et Doc, *Lavoisier, Paris*, pp. 114-167.
- Diomande A., Yao K., Sylla Y., Tra B.F.H., Bakayoko A. & Kone M.W. 2018.** Pouvoir

antioxydant et teneurs en composés phénoliques de deux espèces du genre *Albertisia*: *Albertisia cordifolia* (Mangenot & J. Miège) Forman et *Albertisia scandens* (Mangenot & J. Miège) Forman (Menispermaceae). *European Scientific Journal*, **14(30)**: 128-145.

- Dokosi O.B.** 1998. Herbs of Ghana. *Ghana Universities Press*, Accra. 3 p.
- Douamba S., Nagalo K., Tamini L., Traoré I., Kam M. & Yé D.** 2017. Syndromes drépanocytaires majeurs et infections associées chez l'enfant au Burkina Faso. *The Pan African Medical Journal*, 26.
- Dröge W.** 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, **82(1)**: 47–95.
- Durpès M.-C., Nebor D., du Mesnil P.C., Mougènel D., Decastel M., Elion J. & Hardy-Dessources M.-D.** 2010. Effect of interleukin-8 and rantes on the Gardos channel activity in sickle human red blood cells: role of the Duffy antigen receptor for chemokines. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, **44(4)**: 219–223.
- Eaton W. & Bunn H.** 2017. Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *Blood*, **129**: 2719–2726.
- Eldor A.** 1978. Abnormal platelet functions in beta thalassaemia. *Scandinavian Journal of Haematology*, **20(5)**: 447- 452.
- Elekwa I., Monanu O.M. & Anosike O.E.** 2005. Effects of aqueous extracts of *Zanthoxylum macrophylla* roots on membrane stability of human erythrocytes of different genotypes. Nigerian Society for experimental biology. *Biokemistry*, **17(1)**: 7-12.
- Elion J. & Labie D.** 1996. Bases physiopathologiques moléculaires et cellulaires du traitement de la drépanocytose. *Hématology*, **2**: 499-510.
- Embury SH.** 1997. Drépanocytose et hémoglobinopathies associées. Traite de médecine, Médecine-science, *Flammarion Paris*, 882-893.
- Emmel V.E.** 1933. A red cell study of the érythrocytes in case of severe anemia with elongated and sickle and shape dred blood corpuscule. *Archives of International Medicine*, **7**: 769-789.
- Emmel VE.** 1917. Study of the erythrocytes in case of severe anemia with elongated and sickle shaped red blood corpuscules. *Archives of International Medicine*, **20**: 586-599.
- Etame L.G., Yinyang J., Okalla E.C., Makondo B.V., Ngaba G.P., Mpondo M.E., Dibong S.D.** 2017. Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences*, **120**: 12077-12085
- Etchike C.A., Sassa A.M., Abakar A. & Nyonbourg E.** 2011. Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de cinq plantes de la pharmacopée traditionnelle de l'Adamaoua (Cameroun). *Cameroon Journal of Experimental Biology*, **7(1)**: 22-27.

- Evelyne A.T., Guy B.B., Fatimata N., Manon G., Esse L.W., Allison L., Henri M., Zanahi F. T., Michel F. & Marie-Laure F. 2020.** Seasonal Effect on the Chemical Composition, Insecticidal Properties and Other Biological Activities of *Zanthoxylum leprieurii* Guill. & Perr. Essential Oils. *Foods*, **9(5)**: 550p.
- Evenamede K.S., Kpegba K., Simalou O., Boyode P., Agbonon A. & Gbeassor M. 2017.** Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **11(6)**: 2924-2935.
- Fadeyemi J.A., Akinleye S.A., Olubisi O.S. & Ademola A.O. 2015.** Antioxidant Potential of the Methanol Extract of *Parquetina nigrescens* mediates protection against intestinal ischemia-reperfusion injury in rats, *Journal of Dietary Supplements*, **13(4)**: 420-432.
- Fadlon E., Vordermeier S., Pearson T.C., Mire-Sluis A.R., Dumonde D.C., Phillips J. & Brown K.A. 1998.** Blood polymorphonuclear leukocytes from the majority of sickle cell patients in the crisis phase of the disease show enhanced adhesion to vascular endothelium and increased expression of CD64. *Blood*, **91(1)**: 266–274.
- Fah L., Klotoé J.R., Dougnon V., Koudokpon H., Fanou V.B.A., Dandjesso C. & Loko F. 2013.** Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète chez les femmes enceintes à Cotonou et Abomey-Calavi (Bénin). *Journal of Animal & Plant Sciences*. **18(1)**: 2647-2658.
- Fanou B.A., Klotoe J.R., Dougnon V., Soha A., Yovo M., Loko F. 2021.** Etude comparative de la composition chimique, de l'activité antiradicalaire et de la toxicité de quatre plantes utilisées dans le traitement traditionnel des candidoses au Bénin. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*; **20(2)** : 54-64.
- Fathallah H., Coezy E., de Neef R. S., Hardy-Dessources M. D. & Giraud F. 1995.** Inhibition of deoxygenation-induced membrane protein dephosphorylation and cell dehydration by phorbol esters and okadaic acid in sickle cells. *Blood*, **86(5)**: 1999–2007.
- Fatima D., Souad B., Jaafar K., Aziz W., Hassan M. & Azlarab M. 2017.** Profil épidémiologique des hémoglobinopathies: étude transversale descriptive autour du cas index. *Pan African Medical Journal*, **27**:150-161.
- Fatokun O.T., Agbedahunsi J.M. & Elujoba A.A. 2015.** Antisickling activities of some nigerian medicinal plants. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, **19(92)**: 1118-6267.
- Favier A. 2003.** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et du potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Feldman M.P. & Audretsch D.B. 1999.** Innovation in cities: Science-based diversity, specialization

and localized competition. *Revue économique européenne*, **43(2)**: 409–429.

- Femi-Olabisi F.J., Faokunla O. & Olorunyolemi I.M. 2019.** Effects of *Jatropha gossypifolia* leaf extract on the reproductive cycle of cypermethrin-treated female rats. *Journal Phytopharmacol*; **8(5)**: 253-256.
- Fleischer T.C., Mensah M.L., Mensah A.Y., Komlaga G., Gbedema S.Y. & Skaltsa H. 2008.** Antimicrobial activity of essential oils of *Xylopiya aethiopica*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **5(4)**: 391-393.
- Fossati P. & Principe L. 1982.** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical chemistry*, **28**: 2077–2080.
- Francis R.B. & Haywood L.J. 1992.** Elevated immunoreactive tumor necrosis factor and interleukin-1 in sickle cell disease. *Journal of the National Medical Association*, **84(7)**: 611-615.
- Frederico A.V., Higor F.L., Elson A.C., Pablinny M.G., Maria A.M., Gineide C.A., David C.M., Wellington S.C. & Fabio F.R. 2009.** Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. *Braz. Journal of Pharmaceutical Science*, **45(3)**: 437-442.
- Friedewald W.T., Levy R. I. & Fredrickson D. S. 1972.** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, **18**: 499–502.
- Fujita T.E., Sezik M., Tabata E., Yesilada G., Honda T., Tanaka Y. & Takaishi Y. 1995.** Traditional medicine in Turkey VII: folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Economic Botany*, **49(4)**: 406–422.
- Galactéros F 2001.** Bases physiopathologiques de la drépanocytose, prise en charge et actualités thérapeutiques. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **94** : 77-79.
- Galacteros F., Goldcher A. & Bechir D. 1997.** La drépanocytose. Paris: *Doin éditeurs*, 56.
- Gandhare B., Kavimani S. & Raj Kapoor B. 2013.** Étude de toxicité aiguë et subaiguë d'un extrait méthanolique de *ceiba pentandra* (Linn.) Gaertn. sur les rats. *Journal de la recherche scientifique*, **5(2)**: 1-10.
- Gaudard A., Varlet-Marie E., Bressolle F. & Audran M. 2003.** Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of recombinant human erythropoietin in athletes: a population approach. *Clinical Drug Investigation*, **23(3)**:167-179.
- Gbadamosi I.T. 2015.** An Inventory of Ethnobotanicals Used in the Management of Sickle cell Disease in Oyo State, Nigeria. *Botany Research International*, **8(4)**: 65-72.
- Gbekley E.H., Karou D.S., Gnoula C., Agbodeka K., Anani K., Tchacondo T., Agbonon A.,**

- Batawila K. & Simpoire J. 2015.** Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la Médecine traditionnelle de la région Maritime du Togo. *Pan African Medical Journal*, **20**: 437-452.
- Gbenou J.D., Tossou R., Dansou P., Fossou M. & Moudachirou M. 2006.** Etude des propriétés antianémiques de *Justicia secunda vahl* (acanthaceae) chez des rats de souche wistar. *Phamology. Médecine. Traditional of. African*, **14**: 45-54.
- Gbolo B.Z., Asamboia L.S., Bongo G.N., Tshibangu D.S.T., Kasali F.M., Memvanga, P.B., Ngbolua, K.N., Mpiana, P.T., 2017.** Bioactivity and Chemical Analysis of Drepanoalpa® hard capsules: An Anti-Sickle Cell Anemia Poly-Herbal Formula from Congo-Kinshasa. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, **5**:1-7.
- Gedeon B., Clement I., Colette M., Claudine T., Emmanuel L., Ruphin D., Mutwale K., Kabamba N., Theophile M., Dorothee T.P.M. & Ngbolua K.N. 2017.** Assessment of Antisickling, Antioxidant and Antibacterial Activities of Some Congolese Taxa: *Aframomum alboviolaceum* (Ridley) K. Schum, *Annona senegalensis* Pers. and *Mondia Whitei* (Hook. f.) Skeels. *American Journal of Laboratory Medicine*, **2(4)**: 52-59.
- Gibson X.A., Shartava A., McIntyre J., Monteiro C.A., Zhang Y., Shah A. & Goodman S.R. 1998.** The efficacy of reducing agents or antioxidants in blocking the formation of dense cells and irreversibly sickled cells in vitro. *Blood*, **91(11)**: 4373-4378.
- Girot R., Begue P. & Galacteros F. 2003.** La drépanocytose, Paris. Editions *John Libbey eurotext*, 321p.
- Gizi A., Papassotiriou I., Apostolakou F., Lazaropoulou C., Papastamataki M., Kanavaki I. & Kanavakis E. 2011.** Assessment of oxidative stress in patients with sickle cell disease: The glutathione system and the oxidant–antioxidant status. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, **46(3)**: 220–225.
- Goddard C & Warnes T, 1992.** Raised liver enzymes in asymptomatic patients: investigation and outcome. *DigDis*, **10**: 218-226.
- Godswill N.A., Nwobi M. & Oluwafemi K. 2020.** Hepatoprotective and hematological effects of *Justicia secunda* Vahl leaves on carbon tetrachloride induced toxicity in rats, *Biotechnic & Histochemistry*, **95(5)**: 349-359.
- Goorani S., Shariatifar N., Seydi N., Zangeneh A., Moradi R., Tari B. & Zangeneh M.M. 2019.** L'extrait aqueux d'*Allium saralicum* RM Fritsch traite efficacement l'anémie induite : étude expérimentale sur des rats Wistar. *Pharmacie orientale et médecine expérimentale*. 11p.
- Graido-Gonzalez E., Doherty J.C., Bergreen E.W., Organ G., Telfer M. & McMillen M.A. 1998.** Plasma endothelin-1, cytokine, and prostaglandin E2 levels in sickle cell disease and acute

vaso-occlusive sickle crisis. *Blood*, **92(7)**: 2551–2555.

- Guede-Guina F., Vangah-Mandah M., Bonga G.M. & De Souza C. 1995.** Acticité antibactérienne d'un extrait végétale contre les germes opportunistes au cours du SIDA. *Revue Médicale et Pharmaceutique Africaine*, **9 (1)**:13-9.
- Gui P.A., Bahi C., Kamou K.R., Tiekpa W.J., Gnaléi R.M., Djyh N. & Coulibaly A. 2019.** Study of antianemic properties of *Parquetina nigrescens* (*Apocynaceae*) in wistar rats. *Journal of Phytopharmacology*, **8(5)**: 216-219.
- Guyton AC, Halle JE 2006.** Manuel de physiologie médicale, 11e édition. *Elsevier Saunders*, Philadelphie 1152p.
- Habibi A., Arlet J.-B., Stankovic K., Gellen-Dautremer J., Ribeil J.-A., Bartolucci P. & Lionnet F. 2015.** Recommandations françaises de prise en charge de la drépanocytose de l'adulte : actualisation 2015. *La Revue de Médecine Interne*, **36(5)**: 553–584.
- Habibi A., Bachir D. & Godeau B. 2004.** Complication aiguës de la drépanocytose. *La Revue du Practicien*, **54** : 1548-1556.
- Hajek V., Pasquet F., Karkowski L., Lachenal F., Gerôme P. & Pavic M. 2011.** Etiology and prognosis of highly elevated C-reactive protein levels (≥ 500 mg/L): a retrospective study about 168 measures in a series of 113 patients. *Revue de Médecine Interne*, **32(11)**: 663–668.
- Haldane J. 1949.** The rate of mutation of human genes. *Hereditas*, **(35)**: 267–273.
- Halliwell B. & Gutteridge J.M. 1984.** Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet*, **1(8391)**:1396–1397.
- Hamasaki N. (2006).** [Band 3 protein as a metabolic sensor--CO₂ regulates the amount of oxygen delivered to tissues from red blood cells]. *Rinsho Byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology*, **54(3)**: 263–269.
- Hammad S., Irshad A., Ashraf M., M Shoaib A.G., Muhammad F.N., Shahid M.N. & Kashif B. 2016.** *In vitro* Studies on Anti-diabetic and Anti-ulcer Potentials of *Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **15(1)**: 121-125.
- Happi G.M., Tiani G.L.M., Gbetnkoum B.Y.M., Hussain H., Green I.R., Ngadjui B.T. & Kouam S.F. 2020.** Phytochimie et pharmacologie de *Harungana madagascariensis*: mini revue. *Phytochemistry Letters*, **35**: 103–112.
- HAS 2005.** Service de recommandation professionnelle, 117p
- Hasegawa A. & Furuhashi K. 1998.** Atlas of the hematology of the laboratory rat, *Elsevier*; 152p.
- Hebbel R.P. & Miller, W. J. 1984.** Phagocytosis of sickle erythrocytes: immunologic and oxidative determinants of hemolytic anemia. *Blood*, **64(3)**: 733–741.
- Hebbel R.P., Visser M.R., Goodman J.L., Jacob H.S. & Vercellotti G.M. 1987.** Potentiated

- adherence of sickle erythrocytes to endothelium infected by virus. *The Journal of Clinical Investigation*, **80(5)**: 1503–1506.
- Hebbel R.P., Morgan W.T., Eaton J.W. & Hedlund B.E. 1988.** Accelerated autoxidation and heme loss due to instability of sickle hemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **85(1)**: 237–241.
- Hierso R. 2015.** Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drépanocytose : crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge. Thèse de Doctorat Université des Antilles et de la Guyane, Faculté de Sciences exactes et naturelles, Pointe-à-Pitre, France, 185p.
- Hoekou Y.P., Tchacondo T., Gbogbo A.K., Agban A., Pissang P., Atakpama W., Karou S.D., Batawila K. & Akpagana K. 2016.** Activités antimicrobiennes de *Parquetina nigrescens* (Afzel.) Bullock, une plante utilisée en médecine traditionnelle togolaise dans le traitement des infections microbiennes. *Afrique Science*, **12(5)**:182-188.
- Hofstra T.C., Kalra V.K., Meiselman H.J. & Coates T.D. 1996.** Sickle erythrocytes adhere to polymorphonuclear neutrophils and activate the neutrophil respiratory burst. *Blood*, **87(10)**: 4440–4447.
- Horsten S, Kettenes V.B.A., Bosch V.J. & Labadie R. 1996.** Cyclogossine A: a novel cyclic heptapeptide isolated from the latex of *Jatropha gossypifolia*. *Planta Medica* **62**: 46-50.
- Hodgson E. 2004.** A textbook of modern toxicology. 3th edition. USA : *Wiley Interscience*. Pp. 525-541.
- Hsu L., Obiageli E.N., Biobele J.B., Furahini T., Shonda K., Livingstone G. D., Crystal P., Sergey S.S., Guillaume L., Richard S.C., Victor R.G. & Bamidele O.T. 2018.** White Paper: Pathways to Progress in Newborn Screening for Sickle Cell Disease in Sub-Saharan Africa. *International Journal of Tropical diseases*, **6(2)**: 260-269.
- Hunter M.J. 1977.** Human erythrocyte anion permeabilities measured under conditions of net charge transfer. *The Journal of Physiology*, **268(1)**: 35–49.
- Ibrahim A., Onyike E., Nok A.J. & Umar I.A. 2017.** Combined Effect on Antioxidant Properties of *Gymnema Sylvestre* and *Combretum Micranthum* leaf extracts and the relationship to hypoglycemia. *European Scientific Journal*, **13(36)**: 266p.
- Igwe S.A., Afonne J.C. & Ghasi S.I. 2003.** Ocular dynamics of systemic aqueous extracts of *Xylopiya aethiopica* seeds on visually active volunteers. *Journal of Ethnopharmacol*, **86**: 139–142.
- Ilic N., Schmidt B.M., Poulev A. & Raskin I. 2010.** Évaluation toxicologique de grains of paradise *Aframomum melegueta* [Roscoe] K. Schum. *Journal of Ethnopharmacology*, **127(2)**: 352–356.
- Imaga N.O.A., Gbenle G.O., Okochi V.I., Adenekan S.O., Edeoghon S.O., Kehinde M.O.,**

- Bamiro S.B., Ajiboye A. & Obinna A. 2010.** Antisickling and toxicological profiles of leaf and stem of *Parquetina nigrescens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4(8)**: 639-643.
- Imaga N.O.A., Gbenle G.O., Okochi V.I., Akanbi S.O., Edeoghon S.O., Oigbochie V., Kehinde M.O. & Bamiro S.B. 2009.** Antisickling property of *Carica papaya* leaf extract. *African Journal of Biochemistry Research*, **3(4)**: 102-106.
- Imo C., Arowora K.A., Ezeonu C.S., Ikwebe J., Yakubu O.E., Imo N.G. & Danlami G.C. 2021.** Biochemical and histological effects of ethanolic extracts of fruits of *Xylopiya aethiopica* and seeds and leaves of *Piper guineense* on liver and kidney function in male albino rats. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, **7(35)** :12.
- Institut de Recherche pour le développement (IRD) 2015.** Sante- Afrique central la prevalence: La persistance de la prévalence du paludisme entretient la drépanocytose au Gabon. 285-291.
- Ismail I. S., Ito H., Mukainaka T., Higashiara H., Enjo F., Tokuda H., Nishino H. & Yoshida T. 2003.** Ichthyotoxic and anticarcinogenic effects of triterpenoids from *Sandoricum koetjape* bark. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **26**: 1351-1353.
- Iuliano L., Colavita A. R., Leo R., Praticò D. & Violi F. 1997.** Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Radical Biology & Medicine*, **22(6)**: 999–1006.
- Iwu M.M. 1993.** Handbook of African medicinal plants. *CRC Press*, 183-184.
- Iyanus E.W., Turner E.A. & Asakura T. 2002.** *In vitro* effects of NIPRISAN (Nix-0699): a naturally occurring, potent antisickling agent. *British Journal of Haematology*, **118(1)**: 337-343.
- Jacobson P.B., Morgan S.J., Wilcox D.M., Nguyen P., Ratajczak C.A., Carlson R.P., Harris R.R. & Nuss M. 1999.** A new spin on an old model: in vivo evaluation of disease progression by magnetic resonance imaging with respect to standard inflammatory parameters and histopathology in the adjuvant arthritic rat. *Arthritis Rheum*, **42**, 2060–2073.
- Jaffe M. 1886.** *Physiology Chemical*, **10**: 39 - 40.
- Jandrot-Perrus M. & Nurden P. 2007.** Des fonctions plaquettaires aux implications thérapeutiques. *La revue de médecine interne. Elsevier Masson, France*, 219-323.
- Jazet D.P.M, Tchoumbougang F.T., Tchinda S.E.T., Manedon K.S., Amvam Z.P.H. & Menut C. 2008.** Antioxidant and anti-inflammatory potential of essential oils of some *Zanthoxylum* (Rutaceae) of Cameroon. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, **2**:82-88.
- Juliana Felix-Silva, Thiago S., Yamara A.S., Menezes B.C., Rafael B.G. Camara A.A., Silva-J., Rocha I.M.M. Rebecchi S.M.Z. & Matheus F.F-P. 2014.** Aqueous Leaf Extract of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) Inhibits Enzymatic and Biological Actions of Bothrops jararaca Snake Venom. *PLoS ONE* **9(8)**: 1-14.

- Joppa K.M., Vovor A., Eklu-Gadegbeku K., Agbonon A., Aklikokou K. & Gbeassor M. 2008.** Effet de *Morinda lucida* benth. (Rubiaceae) et de *Newbouldia leavis* p. Beauv. (Bignoniaceae) sur la falciformation. *Médecine Tropicale*. **68**: 251-256.
- Kamara I., Packo S.C., Yao N. A., Comoé N., Gbadi D., Tadibé O.D., Bognini S., Kouassi G.K., Sanogo I. & Edoh V. 2017.** Profil des infections urinaires bactériennes chez les drépanocytaires au service d'Hématologie du CHU de Treichville (Abidjan – Côte d'Ivoire). *Série D*, **3(2)**: 41-44.
- Kambalé J.K., Ngbolua K.N., Mpiana P.T., Mudogo V., Tshibangu D.S., Wumba D.M., Mvumbi L.G., Kalala L.R., Mesia K.G. & Ekutsu E. 2013.** Evaluation *in vitro* de l'activité antifalcimiant et effet antioxydant des extraits d'*Uapaca heudelotii* Baill. (Euphorbiaceae). *International Journal Biological and Chemical Sciences*, **7(2)**: 523-534.
- Kamtchouing P., Mbongue G.Y.F., Dimo T., Watcho P., Jatsa H.B. & Sokeng S.D. 2002.** Effects of *Aframomum melegueta* and *Piper guineense* on sexual behaviour of male rats. *Behavioural Pharmacology*, **13(3)**: 243-247
- Karamoko C.M., Touré A.O., Bla K.B., Tuo K., N'guessan Y.H. & Bidie A.P. 2019.** Evaluation of the *in vitro* antiplasmodial activity of *Millettia zechiana* and its action on the evolution of anemia in albino rats. *Journal of Bioscience and Applied Research*, **5(1)**: 32 -43.
- Karmen A., Wroblewski F. & Ladue J.S. 1955.** Activité des transaminases dans le sang humain. *The Journal of Clinical Investigation*, **34(1)**: 126 -133.
- Kato, G.J., Gladwin M.T. & Steinberg M.H. 2007.** Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Reviews*, **21(1)**: 37-47.
- Kayanoki Y., Kawata S., Yamasaki E., Kiso S., Inoue S., Tamura S. & Matsuzawa Y. 1999.** Reduced nitric oxide production by L-arginine deficiency in lysinuric protein intolerance exacerbates intravascular coagulation. *Metabolism: Clinical and Experimental*, **48(9)**: 1136-1140.
- Kehinde T.K., Alli S.O., Atayese A.O., Ezech A.R. & Alaga T.O. 2012.** Antibacterial Effect of *Distemonanthus benthamianus* extract against some oral pathogens. *International Journal of Applied Science and Technology*, **2(2)**: 114-119.
- Keita I. 2020.** Aspects épidémiocliniques de la drépanocytose dans le service de pédiatrie de l'hôpital de SIKASSO. Thèse de doctorat Faculté de Médecine et d'Odonto Stomatologie de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali, 95p.

- Kengni F, Fodouop S.P.C., Tala S.D., Djimeli N.M., Fokunang C. & Gatsing D. 2016.** Antityphoid properties and toxicity evaluation of *Harungana madagascariensis* Lam (Hypericaceae) aqueous leaf extract. *Journal of Ethnopharmacol*; **6(2)**: 62-76.
- Khalili M., Ebrahimzadeh M.A. & Safdari Y. 2014.** Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, **65**: 399-406.
- Kiecolt-Glaser J.K., Gouin Jean-Philippe & Hantsoo L. 2010.** Close Relationships, Inflammation, and Health. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, **35(1)**: 33-38.
- Kipré G.R., Offoumou M'Bai R., Silue K.D., Bouabre G.M., Zirihi G.N. & Djaman A.J. 2017.** Enquête ethnopharmacologique des plantes antipaludiques dans le département d'Agboville, sud-Est de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* ; **109**: 10618-10629.
- Kitadi J.M., Mazasa P.P., Tshibangu D.S.T., Memvanga P.B., Ngbolua K.N., Taba N.K., Noki P.V. & Mpiana P.T. 2015.** Anti-sickling and antioxidant activities of anthocyanins extracts from *Dissotis brazzae* Cogn (Melastomataceae), *Journal of Advancement in Medical and Life Sciences*, **3(4)**: 1-6.
- Klings E.S. & Farber H.W. 2001.** Role of free radicals in the pathogenesis of acute chest syndrome in sickle cell disease. *Respiratory Research*, **2(5)**: 280–285.
- Koné M.W. & Kamanzi A.K. 2006.** Inventaire ethnomédical et évaluation de l'activité anthelminthique des plantes médicinales utilisées en Côte d'Ivoire contre les helminthiases intestinales. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, **14**: 55-72.
- Koster R., Anderson M. & Debeer E.J. 1959.** Acetic acid for analgesic screening. *Federation proceedings*, **18**: 412-417.
- Koua K.B.D., Irié-N'guessan A.G., Effo K.E., Kouakou S.L., Ayoman T.L.D., Tetchi A.F. & Yapi H.F. 2018.** Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Crinum scillifolium* Extracts in Wistar Rats. *International Journal of Biochemistry and Biophysics* **6(4)**: 77-82.
- Kouassi K., N'guessan J.D., Méité S., Yapi A., Yapi H.F. & Djaman A.J. 2013.** Antioxidant Activity and Phenolic Contents of the Leaves of *Olax subscorpioidea* and *Distemonanthus benthamianus*; *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **4(4)**:1419-1430.
- Kouchadé A.S., Adomou A.C., Tossou G.M., Yédomonhan H., Dassou G.H. & Akoègninou A. 2016.** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies infantiles et vendues sur les marchés au sud du Bénin. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **28(2)**: 4418-4438.
- Koudougou J. 2004.** Etude des propriétés antipyrétiques du phytomédicament antidrépanocytaire FACA et de ses composantes *Fagara xanthoxyloides* Lam (Rutaceae) et *Calotropis procera* Ait.

(Asclepiadaceae). Thèse de Doctorat de l'Université de Ouagadougou 77 p.

- Kpomah E.D.; Uwakwe A.A. & Abbey B.W. 2012.** Aphrodisiac studies of diherbal mixture of *Zanthoxylum leprieurii* Guill. & Perr. and *Piper guineense* Schumach. & Thonn. on male wistar rats. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, **1**: 381-390.
- Krinsky N. I. 1989.** Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology & Medicine*, **7(6)**: 617–635.
- Kuete V. 2010.** Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: a review. *Planta Medica*, **76**: 1479-1491.
- Kugler M, 2020.** Sickl cell disease: Causes, Effects and treatments. Accès internet: <https://www.verywellhealth.com/sickle-cell-anemia-2861015#symptoms>.
- Kumar G, Sharmila G.B., Vanitha P.P., Sundararajan M. & Rajasekara M.P. 2004.** Hepatoprotective activity of *Trianthema portulacastrum* L. against paracetamol and thioacetamide intoxication in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **92(1)**: 37-40.
- Kumar T. & Jain V. 2014.** Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bridelia retusa* methanolic fruit extract in experimental animals. *Scientific World Journal*, 1–12.
- Kumari V. & Roy S. 2014.** Comparative study of in-vitro antimicrobial activity of *Jatropha gossypifolia*. (Euphorbiaceae) stem and leaf extract. *World Journal of Pharmaceutical Sciences* **2(9)**:1124-1128.
- Kunh V., Diederich L. & Suvorava T. 2017.** Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Forum Review Article*, **26(13)**: 16-17.
- Labie D. 2010.** The complex relations between haemoglobinopathies and malaria. *Médecine Sciences*, **26(8-9)**: 685–687.
- Labie D. & Elion J. 2005.** Bases moléculaires et physiopathologiques des maladies de l'hémoglobine. *EMC-Hématologie*, 220-239.
- Lamarre Y. 2013.** L'implication de l'hémorhéologie dans la physiopathologie de la drépanocytose. Université des Antilles et de la Guyane, Faculté de Sciences exactes et naturelles, Thèse de Doctort ; France, 198 p.
- Lamine T., Assane D., Isabelle Z.C., François N.D., Ndiogou S., Djibril B., Aliou A. N., Idrissa B., Babacar N., Indou D.L., Assane S., Ibrahima D. & Ousmane N. 2017.** Profils épidémiologiques, cliniques et hématologiques de la drépanocytose homozygote SS en phase inter critique chez l'enfant à Ziguinchor, Sénégal. *The Pan African Medical Journal*, **28(208)**: 1-6.
- Lapoumériou C., Benkerrou M., Odièvre M. H., Ducrocq R., Brun M., & Elion, J. 2005.** Decreased plasma endothelin-1 levels in children with sickle cell disease treated with

- hydroxyurea. *Haematologica*, **90(3)**: 401–403.
- Lard L. R., Mul F.P., Haas M., Roos D. & Duits A.J. 1999.** Neutrophil activation in sickle cell disease. *Journal of Leukocyte Biology*, **66(3)**: 411–415.
- Lawal B.A.S., Aderibigbe A.O., Essiet G.A. & Essien A.D. 2007.** Hypotensive and antihypertensive effects of *Aframomum melegueta* seeds in humans. *International Journal of pharmacology*, **3(4)**: 311-318.
- Lemonne N., Lamarre Y., Romana M., Mukisi-Mukaza M., Hardy-Dessources M.-D., Tarer V., & Connes P. 2013.** Does increased red blood cell deformability raise the risk for osteonecrosis in sickle cell anemia? *Blood*, **121(15)**: 3054–3056.
- Leonard R. & Ruben Z. 1986.** Hematology reference values for peripheral blood of laboratory rat. *Laboratory Animal Science*, **36(3)**: 277-281.
- Lippi G., Mercadanti M., Alberta C. & Franchini M. 2010.** An unusual case of spurious, transfusion acquired haemoglobin S. *Blood Transfusion*, **8**: 199-202.
- Liu S.C., Derick L.H., Zhai S. & Palek J. 1991.** Uncoupling of the spectrin-based skeleton from the lipid bilayer in sickled red cells. *Science*, **252(5005)**: 574–576
- Luka C.D., Abdulkarim M., Adoga G.I., Tijjani H. & Olatunde A. 2014.** Anti-anaemic potential of aqueous extract of *Spinacia oleracea* leaf in phenylhydrazine-treated rats. *New York Sciences Journal*, **7(6)**: 14-18.
- Mabiala-Babela J.R., Nkanza-Kaluwako S.A.T., Ganga-Zandzou P.S., Nzingoula S. & Senga P. 2005.** Causes d’hospitalisation des enfants drépanocytaires : influence de l’âge (C.H.U. de Brazzaville, Congo). *Bulletin Sociologie Pathologie Exotique*, **98**: 392-393.
- Magili S.T. & Bwatanglang I.B. 2018.** Toxicity study of aqueous leaves extract of *Jatropha gossypifolia* from Nigerian in albino rats: serum biochemistry and histopathological Evaluation. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, **21(3)**: 1-12.
- Magnani M., Stocchi V., Cucchiarini L., Chiarantini L. & Foranini G. 1986.** Disaccharide digestion and maldigestion. *Cell. Biochemical and Function*, **4**: 263-269.
- Makani J., Brousse V. & Rees D. 2014.** Management of sickle cell disease in the community. *Journal of Pain and Symptom Management*, **1765**: 1-9.
- Makélélé K.L. 2008.** Plantes médicinales utilisées contre la drépanocytose à Kisangani et à Babogombe (R.D.C.) : Contribution à l'inventaire et étude de l'activité des extraits des plantes sur la morphologie des drépanocytes. D.E.A. en Gestion de la Biodiversité à l'Université de Kisangani (Congo). 89p.
- Mandal S., Treuren W.V., White R.A., Eggesbo M., Knight R. & Peddada SD. 2015.** Analysis of composition of microbiomes: a novel method for studying microbial composition. *Microbial*

Ecology in Health and Disease, **26(1)**: 1-7.

- Mangambu M.J., De D., Mushagalusa K.F. & Kadima N.J. 2014.** Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo). *Journal of Applied Biosciences*, **75**: 6211-6220.
- Manodori A.B., Barabino G.A., Lubin B.H. & Kuypers F.A. 2000.** Adherence of phosphatidylserine-exposing erythrocytes to endothelial matrix thrombospondin. *Blood*, **95(4)**:1293–1300.
- Mansour S. 2015.** Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium L*, *Artemisia herba alba Asso* et *Hypericum scarboides*. *Etude in vivo*. Thèse de Biologie, Algérie, 72p
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. & Kefalas P. 2005.-** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*. **89**: 411-420.
- Manzo M. 2012.** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes antipaludiques utilisées en médecine traditionnelle congolaise. Thèse de Docteur en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques, Université de Liège, Université de Kinshasa. 221p.
- Marieb E.N. 1999.** Anatomie et physiologie humaine. Edition du Renouveau Pédagogique Inc., Paris (France), 637-638.
- Martin G.J. 1995.** Ethnobotany. A "People and Plants" Conservation Manual. World Wide Fund for Nature. Chapman & Hall, London 296 p.
- Matsuzaki Y., Kawaguchi E. & Morita Y. 1996.** Evaluation of two kinds of reagents for direct determination of HDL-cholesterol. *Journal of Analytical Bio-Science*, **19** : 419–427
- Mavian P.W. 2012.** Activité antifalcémiant et screening phytochimique de la fraction éthéro-méthanolique de BEAT-SS. Thèse de Doctorat Université de Kinshasa – Pharmacien, Congo, 188p.
- McGowan M.W., Artiss J.D., Strandbergh D.R. & Zak B. 1983.** A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry*. **29**: 538–542.
- Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J. & Nacoulma O.G. 2005.** Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honeys as well as their radical scavenging activity. *Food Chemical*, **91**: 571-577.
- Medewase J.O & Ezike A.C. (2018).** Preliminary investigation of the anti-inflammatory activity of *Harungana madagascariensis* leaf extract Lam.Expoir (Hypericaceae). *Academic Journals*, 5p
- Mehdioui A., Hellara I., Neffati F., Hichem M. H., Mohamed F. & Najjar M.F. 2009.** Évaluation d'une technique enzymatique colorimétrique pour le dosage du cholestérol libre. *Revue*

francophone des laboratoires, **39**: 63-66.

- Meir S., Kanner J., Akiri B. & Hadas S.P. 1995.** Determination and involvement of aqueous reducing compound in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**: 1813–1819.
- Metrouh-Amir H. & Amir N. 2018.** Évaluation *in vivo* des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques des alcaloïdes de *Matricaria pubescens*. *Journal sud-africain de botanique*, **116**: 168-174.
- Misra L.N., Wouatsa N.A.V., Kumar S., Venkatesh K.R. & Tchoumboungang F. 2013.** Antibacterial, cytotoxic activities and chemical composition of fruits of two Cameroonian *Zanthoxylum* species. *Journal Ethnopharmacology*, **148(1)**: 74-80.
- Misra H.P. & Fridovich I. 1972.** The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*, **247(21)**: 6960–6962.
- Mohamed A.O., Hashim M.S., Nilsson U.R. & Venge P. 1993.** Increased *in vivo* activation of neutrophils and complement in sickle cell disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **49(6)**: 799–803.
- Monnet T.M.S. 2013.** Étude ethnobotanique des plantes médicinales antidiabétiques vendues sur les marchés de la commune d’Abobo, dans le District d’Abidjan (Côte d’Ivoire). Mémoire Master II de botanique, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 50 p.
- Morakinyo A.O., Akindele A.J. & Ahmed Z. 2011.** Modulation of antioxidant enzymes and inflammatory cytokines: Possible mechanism of anti-diabetic effect of Ginger extracts. *African Journal of Biomedical Research*, **14**:195 -202.
- Moronkola D.O., Yeboah S.O., Majinda R.R.T., Yeboah E., Fru C.G. & Osamudiamen P.M. 2018.** Antioxidant properties of the methanol extracts of leaf, stem, fruit and seed of nigerian *Harungana madagascariensis*, an hypericaceae (guttiferae). *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, **5(9)**: 123-127.
- Mozzarelli A., Hofrichter J. & Eaton W.A. 1987.** Delay time of hemoglobin S polymerization prevents most cells from sickling *in vivo*. *Science*, **237(4814)**: 500-506.
- Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Bokota M.T., Kasonga T.K., Atibu E.K., Tshibangu D.S. & Mudogo V. 2010.** *In vitro* effects of anthocyanin extract from *Justicia secunda* Vahl on the solubility of haemoglobin S and membrane stability of sickle erythrocytes. *Blood Transfusion*, **8**: 248-254.
- Mpiana P.T., Ngbolua K.N., Mudogo V., Tshibangu D.S.T., Atibu E.K., Mbala B.M., Kahumba B., Bokota M.T. & Makelele L.T. 2012.** The potential effectiveness of medicinal plants used for the treatment of sickle cell disease in the Democratic Republic of Congo folk medicine: *Progress in traditional folk herbal medicine*, **1**: 1-11.

- Mpiana P.T., Kasali F.M., Bwirhonde F., Gbolo B.Z., Tshibangu D.S.T., Ngbolua K.N., Memvanga P.B. & Kadima J.N. 2016.** Acute and Sub-acute Oral Toxicity Study of Drepanoalpa® (A Poly-Herbal Formula Used in the Management of Sickle Cell Disease) in Guinea-pigs. *British Journal of Pharmaceutical Research*, **10(5)**: 1-8.
- Murayama M. 1966.** Tertiary structure of sickle cell hemoglobin and its functional significance. *Journal of Cellular Physiology*, **67(3)**: 21–32.
- Murugalakshmi M, Mari S.J., Vallimail M., Anitha P.R.J. & Thangapandian V. 2014.** Preliminary phytochemical analysis of *Jatropha gossypifolia*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3 (7)**:1127-1135.
- N’draman-Donou E., Fofié Y., Adjambri E., Mèlèdje M-F. & Sawadogo D. 2015.** Caractérisation et évaluation *in vitro* de l’effet antifalcémiant des graines de *Cajanus cajan* (Fabacées) sur les drépanocytes à Abidjan-Côte d’Ivoire. *International Journal Biological and Chemical Science*, **9(5)**: 2300-2308.
- N’Guessan K. 2008.** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du département d’Agboville (Côte d’Ivoire). Thèse de Doctorat d’Etat ès Sciences, Université de Cocody-Abidjan (Côte d’Ivoire), 235 p.
- N’Guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D. & Aké-Assi L. 2009.** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). *Sciences & Nature*, **6(1)**: 1-15.
- N’Guessan K., Zirihi N.G. & Boraud N.T.K.M. 2010.** Étude ethnopharmacologique des plantes utilisées pour faciliter l’accouchement, en pays Abbey et Krobou, au Sud de la Côte-d’Ivoire. *International Journal Biological and Chemical. Science*, **4(4)**: 1004-1016.
- Nacoulma-Ouédraogo O. 1996.** Plantes médicinales et pratiques medicinales traditionnelles au Burkina Faso:cas du Plateau central. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, option Biochimie, Université de Ouagadougou, (Burkina-Faso), 320p
- Nagababu E., Fabry M.E., Nagel R.L. & Rifkind J.M. 2008.** Heme degradation and oxidative stress in murine models for hemoglobinopathies: thalassemia, sickle cell disease and hemoglobin C disease. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, **41(1)**: 60–66.
- Nagaharika Y., Kalyani V., Rasheed S. & Ramadoss k. 2013.** Anti-inflammatory activity of leaves of *Jatropha gossypifolia* L. by hrbc membrane stabilization method. *Journal of Acute Disease* **2(2)**:156-158.
- Naughton B.A., Moore E., Bush M.E., Lapin D.M. & Domfest B.S. 1995.** Hemostatic alterations associated with phenylhydrazine - induced haemolytic anaemia. *European Journal of Clinical Investigation*, **25**: 722-727.

- Naumann H.N., Diggs L.W., Barreras L. & Williams B.J. 1971.** Plasma hemoglobin and hemoglobin fractions in sickle cell crisis. *American Journal of Clinical Pathology*, **56(2)**: 137-147.
- Nelson D. L. & Cox M.M. 2005.** Lehninger. *Principes de biochimie*. New York (USA), **3**: 667- 669.
- Nemlin J. & Brunel J.F., 1995.-** Fascicule de Travaux Pratiques de Matière Médicale (3ème année). Université Nationale de Côte-d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de Phytologie, 47p.
- Neuzil J. & Stocker R. 1993.** Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *Federation of European Biochemical Societies*, **331(3)**: 281–284.
- Ng D.S.K. & Blass K.G. 1986.** Jaffe' Reaction Products. *Journal of Clinical Chemistry in Clinical Biochemistry*, **24**: 565–570.
- Ngbolua K.N., Inkoto C.L., Mongo N.L., Ashande C.M., Masens Y.B. & Mpiana P.T. 2019.** Étude ethnobotanique et floristique de quelques plantes médicinales commercialisées à Kinshasa, République Démocratique du Congo. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, **7 (1)**: 118-128.
- Ngbolua K.N., Inkoto C. & Masengo A.C. 2019.** Criblage phytochimique et biologique de trois taxons végétaux traditionnellement utilisés contre la drépanocytose en République démocratique du Congo. Editions Universitaires Européennes, Riga: *Latvia. International Standard Book Number* : 978-613-8-43234-0.
- Ngbolua K.N., Mpiana P.T. & Mudogo V. 2019.** Pharmacopée traditionnelle et lutte contre la drépanocytose: Méthodes de sélection et d'évaluation de l'activité des plantes médicinales. Editions Universitaires Européennes, Riga : *Latvia. International Standard Book Number*: 978-613-9-51486-1.
- Ngo D.A., Aygun B., Akinsheye I., Hankins J.S., Bhan I., Luo H.Y. & Chui D.H.K. 2012.** Fetal haemoglobin levels and haematological characteristics of compound heterozygotes for haemoglobin S and deletional hereditary persistence of fetal haemoglobin. *British Journal of Haematology*, **156(2)**: 259-264.
- Nicolas J. 2012.** Plantes médicinales du Nord de Madagascar ethnobotanique antakarana et informations scientifiques. *Jardins du Monde*, **295**: 134-135.
- Nishino T., Nakanishi S., Okamoto K., Mizushima J., Hori H., Iwasaki T. & Nakazawa H. 1997.** Conversion of xanthine dehydrogenase into oxidase and its role in reperfusion injury. *Biochemical Society Transactions*, **25(3)**: 783-786.
- Nolan V.G., Adewoye A., Baldwin C., Wang L., Ma Q., Wyszynski D.F. & Steinberg M.H. 2006.** Sickle cell leg ulcers: associations with haemolysis and SNPs in Klotho, TEK and genes of the

TGF-beta/BMP pathway. *British Journal of Haematology*, **133(5)**: 570-578.

- Nur E., Biemond B.J., Otten H.M., Brandjes D.P. & Schnog J.J.B. 2011.** Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *American Journal of Hematology*, **86(6)**: 484–489.
- Nur E., Brandjes D.P., Teerlink T., Otten H.M., Oude E.R.P.J., Muskiet F. & Schnog J.-J.B. 2012.** N-acetylcysteine reduces oxidative stress in sickle cell patients. *Annals of Hematology*, **91(7)**: 1097-1105.
- Obiri D.D., Newman O., Patrick G.A. & Aaron O.A. 2014.** *Xylopiya aethiopica* (Annonaceae) fruit extract suppresses Freund's adjuvant-induced arthritis in Sprague-Dawley rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **152**: 522–531
- OCDE 2001.** Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques de la toxicité orale aiguë –méthode par classe de toxicité aiguë, 1-5.
- OCDE 2018.** Études de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours sur les rongeurs. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Paris (France), 1-15
- Odièvre M-H., Lapoumériou C. & Elion J. 2009.** Effect of hydroxyurea on adhesion proteins in sickle cell anemia. *Archives de Pédiatrie : Organe Officiel de La Société Française de Pédiatrie*, **16(2)**: 95-98.
- Oduola T., Popoola G.B., Avwioro O.G., Oduola T.A., Ademosun A.A. & Lawal M.O. 2007.** Use of *Jatropha gossypifolia* stem latex as a haemostatic agent: how safe is it? *Journal of medicinal plant research*, **1(1)**: 014-017.
- Oduola T., Avwioro G.O. & Ayanniyi T.B. 2005.** Suitability of the leaf extract of *Jatropha gossypifolia* as an anticoagulant for biochemical and haematological analyses. *African Journal of Biotechnology*, **4(7)**: 679-681.
- Ogbe R.J. & Adoga G.I. 2010.** Antianaemic potentials of some plant extracts on phenyl hydrazine-induced anaemia in rabbits. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4**: 680-684.
- Ogbonnia S., Adekunle A.A., Bosa M.K. & Enwuru V.N. 2008.** Evaluation of acute and subacute toxicity of *Alstonia congensis* Engler (*Apocynaceae*) bark and *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich (*Annonaceae*) fruits mixtures used in the treatment of diabetes. *African Journal of Biotechnology*, **7(6)**:701-705.
- Ogbonnia S.O., Mbaka G.O., Igbokwe N.H., Anyika E.N. & Nwakakwu N. 2010.** Antimicrobial evaluation, acute and subchronic toxicity studies of Leone Bitters, a Nigerian polyherbal formulation in rodents. *Agriculture and Biology Journal of North America*, **1(3)**: 366-376.
- Ogoda O.J., Akubue P.I. & Okide G.B. 2002.** The kinetics of reversal of pre-sickled erythrocytes by the aqueous extract of *Cajanus cajan* seeds. *Phytotherapy Research*, **16(8)**: 748-750.

- Ogunsile, B. O. Labulo, A.H. & Fajemilehin, A.M 2016.** Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extracts of *Parquetina nigrescens* and *Synedrella nodiflora* and their antimicrobial activity. *Ife Journal of Science*, **18(1)**: 245 -254.
- Ohaeri C.C. & Eluwa M.C. 2011.** Indices biochimiques et hématologiques anormaux dans la trypanosomiase en tant que menace pour la production du troupeau. *Parasitologie vétérinaire*, **177 (3-4)**:199–202.
- Okoli C.O., Akah P.A., Nwafor S.V., Ihemelandu U.U. & Amadife C. 2007.** Activité anti-inflammatoire d'extraits de graines d'*Aframomum melegueta*. *Journal des herbes, épices et plantes médicinales*, **13(1)**: 11–21.
- Okot-Asi N-E.T., Uwagie-Ero E.A., Beshel F.N., Asinta E.L. & Nwaehujor C.O. 2018.** Protective role of *harungana madagascariensis* lam. Ex poir. (Hypericaceae) ethanol leave extract on hematology and serum protein levels in phenylhydrazine-induced anaemia. *Pharmacologyonline*, **2**: 161-170.
- Okwu D.E. & Josiah C. 2006.** Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, **5(4)**:357-361.
- Oladele J.O. & Ayoola G.A. 2015.** Activité antioxydante parmi les combinaisons de plantes médicinales sélectionnées (préparation à base de plantes à plusieurs composants, *International Journal of Research in Health Science*, **3(2)**: 526-532.
- Olusayo A.S., Mbajjorgu A.C. & Afiero O.E. 2018.** Trace element composition and anti-anaemic effects of the ethanol extract of *Harungana madagascariensis* Lam. in phenylhydrazine induced anaemia in albino rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*, **21(2)**:1–7.
- Olusayo A.S. & Monsi B. 2020.** Implications toxicologiques du fruit de *Harungana madagascariensis* sur les rats wistar. *Phytoscience clinique*, **6(1)**: 1-9.
- Oluwatosin J.O., Zhao M., Gunn J., Santarsiero B.D., Yin Z.-Q., Ayoola G.A. & Che C.T. 2016.** Anthranols prénylés inhibiteurs de l' α -glucosidase provenant de *Harungana madagascariensis*. *Journal of Natural Products*, **79(1)**: 224-229.
- Omoboyowa D., Alex O.A., Lawrence I.C.E. & Otuchristian G. 2016.** Phytochemical screening and haematological studies of *Parquetina nigrescens* ethanol and chloroform leaves extracts in normal albino rats *African Journal of Pharmacy and pharmacology*, **10(10)**: 164-169.
- Omoregbe R.E, Ikuebe O.M. & Ihimire I.G. 1996.** Antimicrobial activity of some medicinal plants extracts on *Eschericia Coli*, *Salmonella paratyphi* and *shigella dysentriae*. *African Journal Medical Sciences*, **25**: 373 – 375.
- OMS 2006.** La drépanocytose dans la region africaine : situation actuelle et perspectives. Cinquante sixieme session, Rapport du Directeur regional, AFR/RC/56/17 : 1-22.

- OMS 2010.** Drépanocytose : une stratégie pour la région africaine de l'OMS. Rapport du Directeur régional 3 p.
- Onyegbule F.A., Bruce S.O., Onyekwe O.N., Onyealisi O.L. & Okoye P.C. 2019.** Évaluation de l'activité antiplasmodiale in vivo d'extrait de feuilles d'éthanol et de fractions de *Jatropha gossypifolia* chez des souris infectées par *Plasmodium berghei*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **13(11)**: 269-279.
- Orch H., Douira A. & Zidane L. 2015.** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izarène (Nord du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, **86**: 7940-7956.
- Osarogiagbon U.R., Choong S., Belcher J.D., Vercellotti G.M., Paller M.S. & Hebbel R.P. 2000.** Reperfusion injury pathophysiology in sickle transgenic mice. *Blood*, **96(1)**: 314–320.
- Ouattara A. 1991.** Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire. Etude préliminaire comparée du traitement par une présentation galénique moderne de deux plantes médicinales : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. et *Calotropis procera* Ait. d'un médicament usuel de référence: la dihydroergotoxine au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo. Thèse Médecine Ouagadougou, 150p.
- Ouattara D., Kouame D., Siebre MS., Cisse A. & N'guessan KE. 2016.** Diversité floristique et usages des plantes dans la zone soudanienne du Nord-ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **31 (1)**: 4815-4830.
- Owoyele B.V., Oyelowo O.T., Biliaminu S.A., Alaran O.N., Alimi S.A. & Saliu R.S. 2011.** Hematological and biochemical studies on *Parquetina nigrescens* root extract in albino rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **1(10)**: 176-179.
- Pandey S., Ganeshpurkar A., Bansal D. & Dubey N. 2016.** Effet hématopoïétique de l'extrait d'*Amaranthus cruentus* sur la toxicité induite par la phénylhydrazine chez le rat. *Journal des suppléments diététiques*, **13(6)**: 607-615.
- Parpart A.K., Lorenz P.B., Parpart E.R., Gregg J.R. & Chase A.M. 1947.** The osmotic resistance (fragility) of human red cells. *Journal of Clinical Investigation* **26**: 636-638.
- Pearson C.M. 1956.** Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **91**: 95-100.
- Pernow J. & Jung C. 2013.** Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovascular Research*, **98(3)**: 334–343.
- Philippidis P., Mason J.C., Evans B.J., Nadra I., Taylor K.M., Haskard D.O. & Landis R.C. 2004.** Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: anti-inflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in

resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circulation Research*, **94(1)**: 119–126.

Piel F.B. 2017. Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*, **376(16)**: 1561-1573.

Piel F.B. 2013. Distribution géographique de la drépanocytose en 2010. University of Oxford, Tinbergen building, Department of Zoology, South Parks Road, OX1 3PS, Oxford, Royaume-Uni, **29(11)**: 965-967.

Piel F.B., Patil A.P., Howes R.E., Nyangiri O.A., Gething P.W., Williams T.N. & Hay S.I. 2010. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nature Communications*, **1(8)**: 104-111.

Platt O.S., Brambilla D.J., Rosse W.F., Milner P.F., Castro O., Steinberg M.H. & Klug P.P. 1994. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *The New England Journal of Medicine*, **330(23)**: 1639-1644.

Purohit M.C. & Purohit R. 2011. Evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities of bark of *Jatropha grossyptifolia*. *World Journal of Science and Technology*, **1(10)**: 01-05.

Radomski M.W. & Moncada S. 1993. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. *Thrombosis and Haemostasis*, **70(1)**: 36–41.

Ramdé-Tiendrébéogo A., Belemnaba L., Ouattara N., Ouédraogo N. & Guissou I.P. 2018. Propriétés antihémolytique et antiperoxydation lipidique des extraits totaux de feuilles de *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de la drépanocytose. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, **19(1)**: 1-9.

Ramde-Tiendrebeogo A., Koala M., Ouedraogo G., Ouedraogo N., Kini B.F., Chalard P. & Guissou I.P. 2019. Utilisation des feuilles de *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) dans la prévention de l'hypercoagulation chez les drépanocytaires: identification de composés phénoliques potentiellement anticoagulant et antiagrégant plaquettaire. *International Journal Biological and Chemical Science*. **13(2)**: 824-835.

Ramprasath V.R., Shanthi P. & Sachdanandam P. 2006. Immunomodulatory and antiinflammatory effects of semecarpus anacardium LINN. Nut milk extract in experimental inflammatory conditions. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **29(4)**: 693-700.

Redding-Lallinger R. & Knoll C. 2006. "Sickle cell disease--pathophysiology and Treatment. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, **36(10)**: 346-376.

Rees D.C., Williams T.N. & Gladwin M.T. 2010. Sickle-cell disease. *The Lancet*, **376**: 2018-2031.

Reiter C.D., Wang X., Tanus-Santos J.E., Hogg N., Cannon R.O., Schechter A.N. & Gladwin M.T. 2002. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nature Medicine*, **8(12)**: 1383–1389.

- Renaudier P. 2014.** Physiopathologie de la drépanocytose. *Transfusion clinique Biologique*, **21(4-5)**:178-181.
- Repka T. & Hebbel R.P. 1991.** Hydroxyl radical formation by sickle erythrocyte membranes: role of pathologic iron deposits and cytoplasmic reducing agents. *Blood*, **78(10)**: 2753–2758.
- Richard V., Dodson G.G. & Mauguen Y. 1993.** Human deoxyhaemoglobin-2,3-diphosphoglycerate complex low-salt structure at 2.5 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, **233(2)**: 270–274.
- Riddington C. & Wang W. 2002.** "Blood transfusion for preventing stroke in people with sickle cell disease. *Cochrane Database of Systematic Review*, **(1)**: CD003146
- Rifkind J. M. & Nagababu E. 2013.** Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging. *Antioxidants & Redox Signaling*, **18(17)**: 2274–2283.
- Roberts I. & De Montalembert M. 2007.** Sickle cell disease as a paradigm of immigration hematology: new challenges for hematologists in Europe. *Haematologica*, **92(7)**: 865–871.
- Sabaa N., de Franceschi L., Bonnin P., Castier Y., Malpeli G., Debbabi H. & Tharaux P.-L. 2008.** Endothelin receptor antagonism prevents hypoxia-induced mortality and morbidity in a mouse model of sickle-cell disease. *The Journal of Clinical Investigation*, **118(5)**: 1924–1933.
- Sachin J., Choudhary G.P. & Jain D.K. 2015.** Antioxidant and hepatoprotective potential of ethanolic leaves extract of *Jatropha gossypifolia*. *International Journal of Plant Science and Ecology*, **1(5)**:190-195.
- Sahgal G., Ramanathan S., Sasidharan S., Mordi M.N., Ismail S. & Mansor S.M. 2009.** *In vitro* antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *Swietenia mahagoni* seed extracts. *Molecules*, **14(11)**: 4476-4485.
- Salhi S., Fadli M., Zidane L. & Douira A. 2010.** Études floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, **31**: 133-146.
- Samuel O.O., Maxwell I.E., Yusuf N.O. & Beatrice C.O. 2017.** Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract of *Justicia secunda* Vahl leaf, *Alexandria Journal of Medicine*, **53(3)**: 207-213.
- Sangare A, Koffi K.G., Allangba O., Tolo A., Coulibaly F.H., N'Dhartz, Sanogo I. & Toure A.H. 1998.** Etude comparative du Ketoprofène et de la Buprenorphine dans le traitement des crises douloureuses drépanocytaires. *Medecine d'Afrique Noire*, **4**: 138–143.
- Sawadogo S., Sanou S.D., Dabire P., Belemtougri G.R., Sawadogo L.J.L., Tanguy S. & Boucher F. 2017.** Activité antifalcémiant d'extraits de trois plantes médicinales du Burkina Faso : *Jatropha curcas*, *Khaya senegalensis* et *Dichrostachys cinerea* *International Journal Biological and Chemical Science*, **11(5)**: 2017-2027.

- Schacter L., Warth J.A., Gordon E.M., Prasad A. & Klein B.L. 1988.** Altered amount and activity of superoxide dismutase in sickle cell anemia. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **2(3)**: 237–243.
- Schaer C.A., Vallelian F., Imhof A., Schoedon G. & Schaer D.J. 2007.** CD163-expressing monocytes constitute an endotoxin-sensitive Hb clearance compartment within the vascular system. *Journal of Leukocyte Biology*, **82(1)**: 106–110.
- Schaffler A. & Mence N. 2004.** AnatomiePhysiologieBiologie, 2^{ème} édition, Maloine, Paris, 239p.
- Schlüter K. & Drenckhahn D. 1986.** Co-clustering of denatured hemoglobin with band 3: its role in binding of autoantibodies against band 3 to abnormal and aged erythrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **83(16)**: 6137–6141.
- Sebastiani P., Wang L., Nolan V.G., Melista E., Ma Q., Baldwin C. T. & Steinberg M.H. 2008.** Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: Bayesian modeling of genetic associations. *American Journal of Hematology*, **83(3)**: 189–195.
- Seck M., Cheikh S., Gueye P.M., Seck I., Mbaye D.D., Zhou L., Rokhaya S.G., Djibril F., Mamadou F. & Tandakha N.D. 2015.** Etude de l'activité antifalcémiant de l'extrait de racines de *Leptadenia hastata* (Asclepiadaceae). *International Journal Biological and Chemical Sciences*, **9(3)**: 1375-1383.
- Setty B.N.Y. & Betal S.G. 2008.** Microvascular endothelial cells express a phosphatidylserine receptor: a functionally active receptor for phosphatidylserine-positive erythrocytes. *Blood*, **111(2)**: 905-914.
- Setty B.N.Y., Kulkarni S. & Stuart M.J. 2002.** Role of erythrocyte phosphatidylserine in sickle red cell-endothelial adhesion. *Blood*, **99(5)**:1564–1571.
- Seth R. & Sarin R. 2010.** Analysis of the phytochemical content and anti-microbial activity of *Jatropha grossypifolia* L. *Archives of Applied Science Research* **2(5)**: 285-291.
- Shao J., Miyata T., Yamada K., Hanafusa N., Wada T., Gordon K.L. & Nangaku M. 2001.** Protective role of nitric oxide in a model of thrombotic microangiopathy in rats. *Journal of the American Society of Nephrology*, **12(10)**: 2088–2097.
- Siegmund E.A., Cadmus R.A. & Lu G. 1957.** Screening of analgesics including aspirin type compound based upon the antagonism of chemically induced writhing in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **119**: 184–186.
- Silva D.G.H., Belini J.E., De A.E. A. & Bonini-Domingos C.R. 2013.** Oxidative stress in sickle cell disease: an overview of erythrocyte redox metabolism and current antioxidant therapeutic strategies. *Free Radical Biology & Medicine*, **65**: 1101–1109.
- Simon J.E., Koroch A.R., Acquaye D., Elton J., Rodolfo J., Govindasamy R. 2007.** Problèmes

- liés aux nouvelles cultures et aux nouveaux usages. Dans : Janick J, Whipkey A, éditeurs. *Cultures médicinales d'Afrique*. Alexandrie, Virginie : ASHS Press, 326 p.
- Sinha K. & Sil P.C. 2015.** Targeting oxidative stress and inflammation in NSAIDs induced gastropathy: A plausible therapeutic approach. *Inflammation & Cell Signaling*, **2**: 1-6.
- Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M. 1999.** Analysis of total phenols and other oxydant substrates and antioxydants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, **299**: 152-178.
- Sokamte T.A., Ntsamo B.T.M., Jazet D.P.M. & Tatsadjieu N.L. 2017.** Essential oil of *Xylopiya aethiopica* from Cameroon: chemical composition, antiradical and *in vitro* antifungal activity against some mycotoxigenic fungi. *Journal of King Saud University – Science*, **30**: 466-471.
- Sombie P.A.E.D., Hilou A., Coulibaly A.Y., Tibiri A., Kiendrebeogo M. & Nacoulma O.G. 2011.** Brain protective and erythrocytes hemolysis inhibition potentials from galls of *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). *Journal of pharmacology and toxicology*, **6(4)**: 361-370.
- Sopeyin A.O. & Ajayi G.O. 2016.** Pharmacognostic Study of *Parquetina nigrescens* (Afzel.) Bullock (Periplocaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, **8(2)**: 321-326.
- Steinberg M.H. 1999.** Management of sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*; **340**: 1021-1030.
- Stevens L. A., Coresh J., Greene T. & Levey A. S. 2006.** Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *New England Journal of Medicine*, **354**: 2473-2483.
- Stevens L.A. & Levey A.S. 2005.** Measurement of kidney function. *Medical Clinics*, **89(3)**: 457-473.
- Stills H.F.J. 2005.** Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *Journal of the Institute for Laboratory Animal Research*, **46(3)**: 280-293.
- Stuart M.J. & Nagel R.L. 2004.** Sickle-cell disease. *Lancet*, **364(9442)**: 1343–1360.
- Studt J.-D., Kremer H.J. A., Antoine G.H.M., Rieger M., Scheiflinger F. & Lämmle B. 2005.** Fatal congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with apparent ADAMTS13 inhibitor: *in vitro* inhibition of ADAMTS13 activity by hemoglobin. *Blood*, **105(2)**: 542–544.
- Sugiuchi H., Uji Y., Okabe H., Irie T., Uekama K., Kayahara N. & Miyauchi K. 1995.** Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated alpha-cyclodextrin. *Clinical Chemistry*, **41**: 717–723.
- Taiwo I.A, Bola O.O. & Francis-Garuba P.N. 2009.** Haematological properties of aqueous extracts

- of *Phyllanthus amarus* (Schum and Thonn.) and *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich in Albino Rats. *Ethno-Medicine*, **3(2)**: 99-103.
- Talke H.S.G.E. & Schubert G.E. 1965.** Enzymatic urea determination in the blood and serum in the Warburg optical test. *Klinische Wochenschrift*, **43**: 174 -175.
- Tatsadjieu L.N., Essia N.J.J., Ngassoum M.B. & Etoa F.X. 2003.** Antibacterial and antifungal activity of *Xylopia aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, **74(5)**:469-472.
- Tchiégang. C. & Mbougoung. D. 2005.** Composition chimique des épices utilisées dans la préparation du na'a poh et du kui de l'Ouest Cameroun. *Tropicultura*, **23(4)**: 193-200.
- Thephinlap C., Kanjana P., Maitree S. & Somdet S. 2013.** Anti-oxidant properties and anti-hemolytic activity of *Psidium guajava*, *Pandanous odoros* and *Rhinacanthus nasutus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7(27)**: 2001-2009.
- Tra B.F.H., Irié G.M, N'Gaman K.C.C. & Mohou C.H.B. 2008.** Études de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, **5(1)**: 39-48.
- Traoré K., Haidara M., Denou A., Kanadjigui F., Sogoba M.N., Diarra B., Maiga S. & Sanogo R. 2019.** Criblage phytochimique et activités biologiques de quatre plantes utilisées au mali dans la prise en charge du paludisme chez les enfants. *European Scientific Journal*, **15(6)**: 210-225.
- Tripette J., Alexy T., H-D., Mougengel D., Beltan E., Chalabi T. & Connes P. 2009.** Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica*, **94(8)**: 1060–1065.
- Turaskar A., More S., Sheikh R., Gadhpayle J. & Bhongade S.L. 2013.** Inhibitory potential of *Picrorrhiza kurroa royle* extract on phenyhydrazine induced reticulocytosis in rats. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*, **6(2)**: 215-216.
- Umukoro S. & Ashorobi, R.B. 2003.** Pharmalogical evaluation of the antidiarrheal activity of *Aframomum melegueta* seed. *Journal Ouest Africain de Pharmacologie de Recherche sur les Medicaments*, **19**: 51-54.
- Umukoro S. & Ashorobi R.B. 2005.** Further evaluation of the anti-inflammatory activity of *Aframomum melegueta* seed extract and its possible mechanism of action. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences*, **4**: 35-39.
- Uwakwe A.A. & Nwaoguikpe R.N. 2008.** *In vitro* anti-sickling effects of *Xylopia aethiopia* and *Monodora myristica*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **2**:119–124.

- Victorin H., Arlette A., Fidèle A., Joachim G. & Akpovi A. 2018.** Etude phytochimique et de cytotoxicité de quelques plantes utilisées dans le traitement de la stérilité féminine au Sud-Bénin. *European Scientific Journal*, **14(6)**: 156-171.
- Vieira M.R., Galzvaio L.C. & Fernandes M.I. 2000.** Relation of the disaccharidases in the small intestine of the rat to the degree of experimentally induced iron-deficiency anaemia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **33**: 539-544.
- Vinchi F., De Franceschi L., Ghigo A., Townes T., Cimino J., Silengo L. & Tolosano E. 2013.** Hemopexin therapy improves cardiovascular function by preventing heme-induced endothelial toxicity in mouse models of hemolytic diseases. *Circulation*, **127(12)**: 1317–1329.
- Wajcman H. 2004.** Diagnostic et dépistage de la drépanocytose. *Revue du Praticien*, **54**:1543-1547.
- Wambebe C., Khamofu H. & Momo H. 2001.** Doubleblind, placebo-controlled, randomized cross-over clinical trial of NIPRISAN in patients with sickle cell disorder. *Phytomedicine*, **8(4)**: 252-261.
- Wembonyama S.O. 2021.** Moringa oleifera, une aubaine dans la prise en charge du syndrome drépanocytaire majeur? *Journal of Medicine, Public Health and Policy Research* **1(1)**: 31-35.
- Winter C.A., Risley E.A. & Nuss G.W. 1962.** Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **111**: 544-547.
- Wong S., Leong L. & Williamkoh J. 2006.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux de plantes sélectionnées. *Chimie alimentaire*, **99(4)**: 775–783.
- Wood K.C. & Granger D.N. 2007.** Sickle cell disease: role of reactive oxygen and nitrogen metabolites. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, **34(9)**: 926–932.
- Wood K., Russell J., Hebbel R.P. & Granger D.N. 2004.** Differential expression of E- and P-selectin in the microvasculature of sickle cell transgenic mice. *Microcirculation*, **11(4)**: 377–385.
- Wouatsa N.V., Misra L., Kumar S., Prakash O., Khan F., Tchoumboungang F., Venkatesh W.T., Paglieroni T., Field C.L., Welborn J., Cheung A., Walker N.J. & Tablin F. 1999.** Platelet-erythrocyte adhesion in sickle cell disease. *Journal of Investigative Medicine*, **47(3)**: 121–127.
- Wu Q., Patocka J., Nepovimova E. & Kuca K. 2019.** *Jatropha Gossypifolia* L. et ses métabolites biologiquement actifs : une mini revue. *Journal d'ethnopharmacologie*, **234**: 197-203.
- Wun T., Paglieroni T., Field C. L., Welborn J., Cheung A., Walker N.J. & Tablin F. 1999.** Platelet-erythrocyte adhesion in sickle cell disease. *Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research*, **47(3)**: 121–127.
- Wun T., Paglieroni T., Rangaswami A., Franklin P. H., Welborn J., Cheung A. & Tablin F. 1998.** Platelet activation in patients with sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, **100(4)**:

- Xavier-Santos J.B., Félix-Silva J., Passos J.G.R., Gomes J.A.S., Fernandes J.M., Garcia V.B., de Araujo-Junior R.F., Zucolotto S.M., Silva-Junior A.A. & Fernandes-Pedrosa M.F. 2018.** Development of an effective and safe topical anti-inflammatory gel containing *Jatropha gossypifolia* leaf extract: results from a pre-clinical trial in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **227**:268–278.
- Yakubu M.T., Akanji M.A. & Oladiji A.T. 2007.** Haematological evaluation in male albino rats following chronic administration of aqueous extract of *Fadogia Agrestis* stem. *Pharmacology Magasin*, **3** : 34–38.
- Yapi A.B. 2013.** Inventaire des plantes médicinales de la famille des Asteraceae des marchés de la commune d'Abobo (Abidjan, Côte d'Ivoire). Mémoire de Master II de botanique, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 50p.
- Yemoa A., Gbenou J., Affolabi D., Moudachirou M., Bigot A., Anagonou S., Portaels F., Martin A. & Quetin L.J. 2015.** Beninese medicinal plants as a source of antimycobacterial agents: bioguided fractionation and in vitro activity of alkaloids isolated from *Holarrhena floribunda* used in traditional treatment of Buruli ulcer, *BioMed Research International*, ID 835767, 5p.
- Yenon A.A., Yapi H.F., Gnahoue G., Yapo A.F., Nguessan J.D. & Djaman A.J. 2015.** Anti-anaemic activity of aqueous and ethanolic extracts of *Entandrophragma angolense* bark on phenylhydrazine- induced anaemic rats. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, **5(3)**: 12-21.
- Yildirim A., Mavi A. & Kara A.A. 2001.** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 411-420.
- Yousseu N.W., Ateufack G., Abdul J.S., Fazli W., Mbiancha M., Muhammad A. Y., Syed L.S., Kashif B., Wasim S., Jules-Roger K., Kamanyi A. & Taous K. 2019.** Curative effects of *Distemonanthus benthamianus* Baillon. Trunk-bark extracts on enteropathogenic *Escherichia coli* 31-induced diarrhea in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, **16(4)**: 7p.
- Yusuf A.Z., Zakir A., Shemau Z., Abdullahi M. & Halima S.A. 2014.** Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of *Paullinia pinnata* linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, **6(2)**:10-16.
- Zachowski A., Favre E., Cribier S., Hervé P. & Devaux P.F. 1986.** Outside-inside translocation of aminophospholipids in the human erythrocyte membrane is mediated by a specific enzyme. *Biochemistry*, **25(9)**: 2585–2590.
- Zandecki M. 2006.** Hématologie biologique *Faculté de Médecine CHU 49000 Angers France*, 4-8.

- Zangeneh M.M., Zheleh M., Salmani S., Zangeneh A., Almasi M., Khedri M.R. & Rasidi K. 2018.** Evaluation de l'effet anti-anémique de l'extrait aqueux de *Allium eriophyllum* Feuille de Boiss chez des rats mâles Wistar traités à la phénylhydrazine. *International Journal Biological and Chemical Science*, **9(1)**: 8p.
- Zhou Z., Han H., Cruz M.A., López J.A., Dong J.-F. & Guchhait P. 2009.** Haemoglobin blocks von Willebrand factor proteolysis by ADAMTS-13: a mechanism associated with sickle cell disease. *Thrombosis and Haemostasis*, **101(6)**: 1070–1077.
- Zirih G., Kra A.K.M. & Guede-Guina F. 2003.** Évaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kantze (Astéracée) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*, *Revue de Médecine et pharmacie Afrique*, **17**: 11-18.
- Zondegoumba E.N.T., Dibahteu W.L., de Araujo A.; Vidari G., Liu Y., Luo S., Li S., Junior F.J.B.M., Scotti L. & Tullius M. 2019.** Cytotoxic and Schistosomidal activities of extract, fractions and isolated compounds from *Zanthoxylum leprieurii* (Rutaceae). *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, **44**: 209–222.
- Zougrou N.E., Tovi W.M-O., Blahi A.N.M. & Kouakou K. 2019.** Evaluation of fertilizing and embryo-toxic effects of aqueous extract of *Cnestis Ferruginea* leaves in rats. *European Scientific Journal*, **15(27)**: 231-255.
- Zwaal R.F.A., Comfurius P. & Bevers E.M. 2005.** Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **62(9)**: 971–988.

RESUME

Le recours aux combinaisons de plantes médicinales dans le traitement de maladies chroniques tel que la drépanocytose est fréquent en Côte d'Ivoire. L'objectif de la présente étude était d'évaluer le potentiel anti drépanocytaire et l'innocuité de la combinaison de quelques plantes médicinales en Côte d'Ivoire. L'évaluation de la toxicité aiguë chez les rats et le screening phytochimique ont montré que les différents extraits de plantes sont non toxiques ($DL_{50} > 2000\text{mg/kg PC}$) et riches en polyphénol. Cette richesse en composés phénoliques serait responsable de sa forte activité antioxydante. La recette ZHm composée de *Zanthoxylum leprieurii*, *Harungana madagascariensis* et *Xylopi aethiopica* a été retenue pour les études biologiques. L'étude de la toxicité subaiguë n'a pas révélé des cas d'apoptose cellulaire au niveau du foie, du cœur, du rein et de la rate à toutes les doses étudiées. L'ajout de ces extraits de plantes à la concentration 10 mg/kg sur les globules rouges des drépanocytaires en milieu anaérobie a montré que les extraits protégeaient les hématies contre l'hémolyse en inhibant la falciformation en moyenne à 87%. Ces activités anti hémolytiques et antifalcémiantes étaient dose-dépendantes. En ce qui concerne l'activité antianémique, l'injection de la phénylhydrazine aux rats a provoqué une anémie hémolytique caractérisée par la diminution des valeurs des paramètres hématologiques. L'administration des extraits aqueux et hydro-éthanolique la recette ZHm par voie orale aux doses de 400 et 800 mg/kg de pc a augmenté de façon significative le taux d'hémoglobine dès la 1^{ère} semaine de traitement. L'étude de l'activité anti-inflammatoire induit par la Carragénine et l'Adjuvant Complet de Freund a montré chez les rats que ces extraits issus de cette combinaison de plantes médicinales diminuaient de façon significative les œdèmes aux doses de 400 et 800 mg/kg/Pc pendant les 21 jours de traitement. Ces extraits possèdent également une activité analgésique de façon dose-dépendante. En somme, nos travaux pourraient justifier l'utilisation traditionnelle de cette combinaison de plantes dans le traitement des symptômes de la drépanocytose. Les perspectives de ce travail viseront à identifier les composés purs à l'origine de l'activité anti drépanocytaire.

Mots clés : Anti-drépanocytaire, Investigations Phytochimique, Plantes Médicinales, Toxicologique

ABSTRACT

The use of medicinal plant combinations in the treatment of chronic diseases such as sickle cell disease is common in Côte d'Ivoire. The objective of the present study was to evaluate the anti-sickle cell potential and the safety of the combination of some medicinal plants in Côte d'Ivoire. Acute toxicity evaluation in rats and phytochemical screening showed that the different plant extracts are non-toxic ($LD_{50} > 2000\text{mg/kg PC}$) and rich in polyphenol. This richness in phenolic compounds would be responsible for its strong antioxidant activity. The ZHm recipe composed of *Zanthoxylum leprieurii*, *Harungana madagascariensis* and *Xylopi aethiopica* was selected for biological studies. The subacute toxicity study did not reveal any cases of cell apoptosis in liver, heart, kidney and spleen at all doses studied. The addition of these plant extracts at the concentration of 10 mg/kg on red blood cells of sickle cell patients in anaerobic medium showed that the extracts protected the red blood cells against hemolysis by inhibiting falciformation on average at 87%. These anti-hemolytic and antisickling activities were dose-dependent. Regarding the anti-anemic activity, the injection of phenylhydrazine to the rats caused hemolytic anemia characterized by the decrease of the values of the hematological parameters. Administration of aqueous and hydroethanol extracts of ZHm recipe orally at doses of 400 and 800 mg/kg bw significantly increased the hemoglobin level from the 1st week of treatment. The study of the anti-inflammatory activity induced by Carrageenan and Freund's Complete Adjuvant showed in rats that these extracts from this combination of medicinal plants significantly decreased edema at the doses of 400 and 800 mg/kg/pc during the 21 days of treatment. These extracts also have an analgesic activity in a dose-dependent manner. In sum, our work could justify the traditional use of this combination of plants in the treatment of the symptoms of sickle cell disease. The perspectives of this work will aim at identifying the pure compounds at the origin of the anti-sickle cell activity.

Key words: Anti-sickle cell disease, Phytochemical investigations, Medicinal plants, Toxicological