

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ENMP

Année 1995

N°...17.....

**Etude de l'efficacité de Zanthoxylum (fagara)
zanthoxyloïdes Waterm Comparée au Kétoprofène
dans la crise douloureuse ostéo articulaire
de la drépanocytose à Bamako**

THESE

Présentée et soutenue publiquement devant
l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali
le 1995

Par

Madame **KALLE** **wa DEMBELE**
Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

Jury

Président :	Professeur	Mamadou Marouf	KEITA
Membres :	Professeur	Arouna	KEITA
	Docteur	Belco	KODIO
Directeur :	Professeur	Dapa Aly	DIALLO

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI
ANNEE UNIVERSITAIRE 1994 - 1995

ADMINISTRATION

Professeur Issa	TRAORE	Doyen
Professeur Boubacar S.	CISSE	Premier Assesseur
Maître de Conférence Agrégé Amadou	DOLO	Deuxième Assesseur
Maître de Conférence	Bakary M. CISSE	Secrétaire Général
Contrôleur des Finances	Mamadou DIANE	Econome

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou	BAH	Ophtalmologie
Mr Bocar	SALL	Ortho. Traumat. Secourisme
Mr Souleymane	SANGARE	Pneumo-Phtisiologie
Mr Yaya	FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou Lamine	TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla	COULIBALY	Pédiatrie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim	KOUMARE	Chef D.E.R. de Chirurgie
Mr Sambou	SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane	TOURE	Ortho. Traumatologie
Mr Kalilou	OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCE AGREGES

Mr Amadou	DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril	SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader	TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mme SY Aïda	SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif	DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUES

Mr Mamadou L.	DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdoulaye	DIALLO	Ophtalmologie
Mr Alhousseïny Ag	MOHAMED	O.R.L.
Mme DIANE F. S.	DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye	DIALLO	Anesth.-Réanimation
Mr Gangaly	DIALLO	Chirurgie Générale
Mr Sékou	SIDIBE	Ortho-Traumatologie
Mr Abdoulaye K.	DIALLO	Anesth.-Réanimation
Mr Mamadou	TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing	SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman	COULIBALY	Ortho-Traumatologie
Mme TRAORE J.	THOMAS	Ophtalmologie

5. ASSISTANTS

Mr Nouhoum	ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Ibrahim	ALWATA	Ortho-Traumatologie
Mr Sadio	YENA	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Bréhima	KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné	BAYO	Anatomie-Path.Histoembryologie
Mr Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Yéya T.	TOURE	Biologie
Mr Amadou	DIALLO	Biologie Chef de D.E.R.

Mr Moussa	HARAMA	Chimie Organique
-----------	--------	------------------

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Ogobara	DOUMBO	Parasitologie
Mr Anatole	TOUNKARA	Immunologie

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Yénimégué A.	DEMBELE	Chimie Organique
Mr Massa	SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M.	CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S.	MAIGA	Parasitologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou	CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M.	TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye	DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr N'yenigue S.	KOITA	Chimie Organique
Mr Abdrahamane	TOUNKARA	Biochimie
Mr Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie
Mr Amadou	TOURE	Histo-Embryologie
Mr Ibrahim I.	MAIGA	Bactériologie

5. ASSISTANTS

Mr Benoît	KOUMARE	Chimie Analytique
-----------	---------	-------------------

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag	RHALY	Med. Int. Chef D.E.R. Médecine
Mr Aly	GUINDO	Gastro-Entérologie
Mr Mamadou K.	TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane	MAIGA	Néphrologie
Mr Aly Nouhoum	DIALLO	Médecine Interne
Mr Baba	KOUMARE	Psychiatrie

Mr Moussa	TRAORE	Neurologie
Mr Issa	TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M.	KEITA	Pédiatrie
Mr Eric	PICHARD	Médecine Interne

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Toumani	SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah	KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubacar	DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Aly	DIALLO	Hémato-Médec. Interne

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel Kader	TRAORE	Médecine Interne
Mr Moussa Y.	MAIGA	Gastro-Entérologie
Mr Somita	KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Hamar A.	TRAORE	Médecine Interne
Mr Bou	DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié	SANOGO	Gastro-Entérologie
Mr Mamady	KANE	Radiologie

4. ASSISTANTS

Mr Bakoroba	COULIBALY	Psychiatrie
Mr Saharé	FONGORO	Néphrologie
Mr Mamadou	DEMBELE	Médecine Interne
Mr Adama D.	KEITA	Radiologie
Mme Tatiana	KEITA	Pédiatrie

D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
--------------------	-------	-------------

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Arouna	KEITA	Matières Médicales
-----------	-------	--------------------

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Boulkassoum	H Aidara	Légist. Gest. Pharm.
Mr Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie Chimique (Chef D.E.R.)
Mr Elimane	MARIKO	Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa	DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou	KEITA	Galénique

5. ASSISTANT

Mr Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie
----------------	-------	-------------

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidy Yaya	SIMAGA	Santé Publique (Chef DER)
--------------	--------	---------------------------

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Moussa A.	MAIGA	Santé Publique
--------------	-------	----------------

3. MAITRE DE CONFERENCE

Mr Sanoussi	KONATE	Santé Publique
-------------	--------	----------------

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.	TOURE	Santé Publique
Mr Sory I.	KABA	Santé Publique
Mr Alain	PRUAL	Santé Publique

3. ASSISTANT

Mr Massambou	SACKO	Santé Publique
--------------	-------	----------------

CHARGES DE COURS ET ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mme CISSE A.	GAKOU	Galénique
Mr N'Golo	DIARRA	Botanique
Mr Bouba	DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou	SANOGO	Physique
Mr Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Min.
Mr Bakary I.	SACKO	Biochimie
Mr Yoro	DIAKITE	Maths
Mr Sidiki	DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar	KANTE	Galénique
Mr Souleymane	GUINDO	Gestion
Mr Mrs Sira	DEMBELE	Maths
Mr Modibo	DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Nyamanton	DIARRA	Mathématiques
Mr Moussa I	DIARRA	Bio-physique
Mr Mamadou Bakary	DIARRA	Cardiologie

PERSONNEL D'ENCADREMENT (STAGES & T P)

Docteur Madani	TOURE	H.G.T
Docteur Tahirou	BA	H.G.T
Docteur Amadou	MARIKO	H.G.T
Docteur Badi	KEITA	H.G.T
Docteur Antoine	NIANTAO	H.G.T
Docteur Kassim	SANOGO	H.G.T
Docteur Yéya I.	MAIGA	I.N.R.S.P.
Docteur Chompere	KONE	I.N.R.S.P.
Docteur BA Marie P.	DIALLO	I.N.R.S.P.
Docteur Almahdy	DICKO	P.M.I. SOGONINKO
Docteur Mohamed	TRAORE	KATI
Docteur Arkia	DIALLO	P.M.I. CENTRALE
Docteur REZNIKOFF		I.O.T.A.
Docteur P. BOBIN		I. MARCHOUX
Docteur A. DELAYE		H.P.G.
Docteur N'DIAYE F.	N'DIAYE	I.O.T.A.
Docteur Hamidou B.	SACKO	H.G.T.
Docteur Hubert	BALIQUE	C.T. MSSPA
Docteur Sidy Yéhiya	TOURE	H.G.T.
Docteur Youssouf	SOW	H.G.T

ENSEIGNANTS EN MISSION

Professeur M.	CISSE	Hydrologie
Professeur ML	SOW	Medecine légale
Professeur S.S.	GASSAMA	Biophysique
Professeur D.	BA	Bromatologie
Professeur E. A.	YAPO	Biochimie
Professeur Boubacar	FAYE	Pharmacodynamie
Docteur G.	FARNARIER	Physiologie

DEDICACE ET REMERCIEMENTS

L'aboutissement de toute oeuvre humaine est le reflet d'une conjugaison soignée de tous les plus ou moins remarquables. Celui de cette thèse n'échappe nullement à cette loi de la consécration de toutes les compétences.

Dédicace :

Je dédie ce travail :

A mes regrettés grand - parents :

Qui auraient certainement exprimé leur bonheur et leur joie de voir leur petite fille nantie d'un diplôme de pharmacie.

A mes très chères grand - mères :

Pour vos soutiens moraux et votre bénédiction. Puisse D`ni le tout puissant vous garde encore parmi nous.

A mon père :

Homme dévoué pour les causes justes, tu as acquis par tes qualités humaines la confiance de ceux qui t'ont connu et approché. Tu as su me conduire sur le chemin de la patience, à comprendre la portée de tes conseils ; que seul l'effort dans la persévérance est la clé de tout succès dans toute entreprise humaine. Tu as toujours gardé à l'esprit que mettre au monde un enfant est une bonne chose ; mais assurer son devenir pour faire de lui un homme est aussi un devoir. Puisse ce travail t'assurer de mon soutien.

A ma mère :

Femme africaine, exemplaire, je resterai fidèle à ton sens aigu du respect de la dignité et de la personnalité humaine.

A mon grand - frère :

Toi mon aîné qui fut pour moi un guide exemplaire ; les plus beaux qualificatifs que je puisse t'attribuer sont de me taire par pure vertu de sagesse interne. Restons unis et solidaires.

A ma grande soeur et à mon petit - frère :

L'estime accordée par chacun d'entre vous à ma personne, se faisait à sa juste valeur. " Seul le travail anoblit l'homme". Restons unis et solidaire

A mon fils :

*Tu es venu couronner la fin de mes études. Je prodigue les conseils ci - après :
Soit sage dans la vie et porte toi toujours à l'écoute de la raison et des bonnes moeurs.
Guide toi bien et puisse le ciel te guider.*

A mes oncles, tantes, cousins et cousines :

A vous tous ma sincère affection, puisse nos liens familiaux se resserrer d'avantage.

A mon mari :

Patient, tolérant, humain dans l'anonymat se reconnaît dans mon effort. Qu' il trouve ici ma sincère gratitude.

A tous (es) mes amis (es) et à toute la promotion :

En souvenir des années passées ensemble, avec tous mes voeux de succès.

Aux familles :

- Dembélé*
- Samaké*
- N'diaye*
- Diarra*
- Ouone*
- Kallé*

Toute ma reconnaissance

Remerciements :

- Au Docteur Abou Bakari Sidiki Dembélé pour les immenses sacrifices et efforts pour l'élaboration de ce document.

- Au Docteur Léonard Nancy Wouodjivoua Tidjissa

- A Monsieur Moussa Kanté

- A Monsieur Amadou Ouane

- A tous les internes de la pédiatrie 3

- Aux techniciens du laboratoire d'hématologie de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie

- A Monsieur- Ousmane Touré de l'I.N.R.S.P

En ce qui concerne chacun, pour votre contribution de qualité à l'élaboration de ce travail, soyez assurés de ma reconnaissance éternelle.

Enfin à ceux qui dans l'anonymat m'ont apporté leur soutien matériel et moral.

A nos Maîtres et Juges

A notre Président du jury : Le Professeur Mamadou Marouf Kéita, Professeur de pédiatrie à l' E.N.M.P, chef de service de pédiatrie à l'Hôpital Gabriel Touré.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider malgré vos multiples et importantes occupations cet honorable jury de thèse. L'honnêteté intellectuelle qui vous caractérise, votre courtoisie, votre sagesse et l'étendue de vos connaissances méritent une admiration.

Qu'il nous soit permis de vous adresser nos sincères remerciements et notre profonde gratitude.

Aux membres du jury :

Le Professeur Arouna Kéita : Agrégé en pharmacognosie, chargé de cours de matières médicales à l' E.N.M.P., chef de service de la division médecine traditionnelle de l' INRS P

Nous nous réjouissons d'avoir eu la chance d'être votre élève. Votre sens élevé de la discipline et du travail bien fait, ainsi que vos nombreuses qualités humaines font de vous un pédagogue averti.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre profonde estime, et que Dieu vous garde longtemps parmi nous.

Docteur Belco Kodio : Epidémiologiste à la division santé communautaire de l' E.N.M.P.

Nous avons apprécié le concours précieux que vous nous avez apporté dans l'accomplissement de ce travail. Maintenant, vous acceptez de juger notre thèse. L'honneur que vous nous faites ainsi nous comble. Vos éminentes qualités humaines et scientifiques, votre persévérance, votre dévouement et votre haute compétence resteront pour nous un souvenir inoubliable. Les mots nous manquent pour vous exprimer notre profonde admiration. Soyez assuré de mon attachement et de ma sincère reconnaissance.

A notre Directeur de thèse : Le Professeur Dapa Aly Diallo, Professeur d'hématologie à l' E.N.M.P., chef de service de médecine interne à l'hôpital du P^t G, chef de service du laboratoire d'hématologie de l' E.N.M.P.

Homme de principes et de rigueur, vos qualités professionnelles et humaines, en particulier votre dévouement pour les malades font de vous un exemple à suivre. Vous m'aviez fait l'honneur de me confier ce travail au cours duquel vous n'avez ménagé ni votre temps, ni disponibilité pour me guider. C'est le moment de vous exprimer l'admiration silencieuse que nous portons pour vous tout le long de notre stage.

Au delà de notre sincère respect, nous vous prions de trouver ici, l'expression de notre grande estime et de notre profonde gratitude.

Sommaire :	Pages
Chapitre I : Introduction	1
Chapitre II : Hypothèse et objectifs de travail	3
Chapitre III : Généralités	5
1- Rappels sur la drépanocytose	6
1-1 Définition et historique	6
1-2 Epidémiologie de la drépanocytose	6
1-3 Génétique de la drépanocytose	7
1-4 Pathogénie	7
1-5 Physiopathologie	7
2- Caractéristiques de <i>Fagara xanthoxyloides</i> (Lam)	9
2-1 Synonymes	9
2-2 Description botanique	9
2-3 Noms vernaculaires	10
2-4 Habitat et distribution géographique	10
2-5 Composition chimique	11
2-6 Données pharmacologiques	14
2-7 Données toxicologiques	15
2-8 Historique de l'utilisation de la plante, toxicité et action curative.	15
Chapitre IV : Méthodologie de travail	16
1- Travaux préliminaires	17
2- Etude de l'efficacité de l'extrait in vitro	19
2-1 Matériels d'étude	19
2-2 Techniques de l'étude	20
3- Etude clinique	21
3-1 Sujets étudiés	21
3-2 Les produits testes	21
3-3 Methodologie	21
Chapitre V : Résultats	
1- Etude préliminaire	
1-1 Sang testé in vitro	
1-2 Efficacité de l'extrait de <i>Fagara xanthoxyloides</i> (Lam) in vitro	27
1-2-1 Résultats descriptifs	27
1-2-2 Résultats analytiques	28
1-2-3 Pourcentage de réduction de la falciformation	29
1-2-4 Choix de la concentration pour l'essai clinique	30
2- Etude clinique	31
2-1 Caractéristiques des sujets étudiés	31
2-2 Comparaison entre les pourcentages moyens des paramètres hématologiques dans les 2 groupes de malades à Ho et H72	34
2-3 Evolution de la symptomatologie dans les 2 groupes	34
2-4 Evolution du pourcentage moyen de globules rouges falciformés dans les 2 groupes de malades à Ho et H72	35
2-5 Traitements associés	35

Chapitre VI : Discussion	36
1- Méthodologie	37
2- Efficacité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes	
in vitro	37
3- Efficacité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes chez nos malades	38
Chapitre VII : Conclusions	40
Chapitre VIII : Résumé	42
Bibliographie	44
Annexe	
Serment de Galien	

Chapitre I :

INTRODUCTION

La drépanocytose constitue l'une des hémoglobinopathies les plus répandues dans le monde. Elle représente un véritable problème de santé publique. Au Mali, la prévalence de la drépanocytose homozygote dépasse 1 % (33), celle de la forme hétérozygote est estimée à 11.85 % (15).

Si les aspects moléculaires de cette anomalie de l'hémoglobine et la physiopathologie de la maladie sont actuellement bien connus, le traitement de fond de l'affection demeure pour les praticiens un véritable défi. Parmi les multiples médicaments proposés en traitement symptomatique ou préventif de la crise drépanocytaire, aucun n'a fait sa preuve dans le cadre d'études contrôlées. La maladie drépanocytaire reste une maladie invalidante qui pose des problèmes socio-économiques certains dans nos régions. Le coût moyen du traitement d'une crise drépanocytaire en service de pédiatrie à Bamako atteint 50 000 F CFA (57).

Fagara xanthoxyloïdes (Lam) est un petit arbuste des savanes préforestières très répandu dans de nombreux pays de l'Afrique tropicale dont le Mali. Les vertus antidrépanocytaires de cette plante ont été pour la première fois étudiées en 1971 par Sofowara (50). Depuis, plusieurs études ont été consacrées aux aspects fondamentaux de son activité antidrépanocytaire in vitro. Chez l'homme, l'inocuité de l'extrait de Fagara a été bien démontrée par voie orale.

Hormis l'étude de Ouattara et collaborateurs (38), peu de travaux ont comparé l'efficacité de cette plante à celle des molécules prescrites actuellement par les praticiens en période de crise aiguë. Il a été rapporté récemment que le Kétoprofène est une molécule ayant une efficacité nettement supérieure à celles d'autres drogues utilisées jusqu'alors dans le traitement de la crise douloureuse aiguë (47). Il nous a semblé intéressant de comparer l'activité de Fagara xanthoxyloïdes à celle de cette molécule dans le traitement de la crise douloureuse aiguë chez le drépanocytaire. Pour ce faire, nous nous sommes fixés les objectifs qui suivent.

Chapitre II :

Hypothèse et objectifs de travail

1- Hypothèse de travail :

Si *Fagara xanthoxyloides* (Lam) a une activité antidrépanocytaire efficace, son administration chez le malade drépanocytaire en crise aiguë douloureuse doit entraîner un effet de sédation au moins égale à celui d'une molécule de référence.

2- Objectifs :

2-1- Objectif général :

Démontrer l'efficacité d'un extrait de *Fagara xanthoxyloides* dans le traitement de la crise douloureuse ostéo-articulaire du drépanocytaire.

2-2- Objectifs spécifiques :

- Tester au sein de 2 groupes l'efficacité de l'administration d'un extrait de *Fagara xanthoxyloides* (Lam) versus Kétoprofène par l'évaluation de la douleur ostéo-articulaire, de l'intensité et de la durée.

- Préciser l'évolution du phénomène de falciformation et décrire les paramètres hématologiques dans les 2 groupes.

Chapitre III :

Généralités

1- Rappels sur la drépanocytose

1-1 Définition et historique:

La drépanocytose (du grec drepanos = faucille) est une hémoglobinopathie qui se caractérise par la présence d'une hémoglobine pathologique. l'hémoglobine S responsable d'une forme particulière des globules rouges (37).

Elle est l'hémoglobinose la plus anciennement connue puisqu'elle fut décrite pour la première fois en 1910 par Herrick (23). C'est dans cette maladie que Pauling et Itano découvrirent pour la première fois une hémoglobine pathologique qui fut initialement désignée par la lettre B et qui actuellement est dénommée hémoglobine S (sickle = faucille) (42). Cette hémoglobine pathologique est facilement détectable par les techniques usuelles de l'électrophorèse

La morphologie des hématies est très particulière, en faucille ou en croissant de lune qui n'existe pas habituellement du moins de façon permanente dans le sang circulant, mais qui apparaît in vivo ou in vitro dès que les hématies sont privées d'oxygène.

Emmel, en 1915, découvre et étudie le phénomène de la falciformation provoquée (14).

Neel en 1947 précise le mécanisme de la falciformation (35).

1-2- Epidémiologie de la drépanocytose :

1-2-1 Répartition géographique :

Les noirs africains de la ceinture "sicklemique" qui se situe entre le 15ème parallèle de latitude Nord et le 15ème parallèle de latitude Sud sont les plus touchés par la maladie puisqu'on trouve dans la population des taux de prévalence atteignant 40 % (57).

En Afrique de l'Ouest on rencontre 5 à 20 % de porteurs de l'anomalie drépanocytaire.

La drépanocytose est également fréquente chez les noirs américains (10 %) et dans les Antilles françaises (12 %). La prévalence est plus faible au Moyen-Orient, en Turquie et en Grèce. Ces régions où on trouve des prévalences faibles sont des foyers secondaires, apparus du fait des phénomènes migratoires. Le foyer originel de la drépanocytose est l'Afrique

1-2-2 Relation entre drépanocytose et paludisme :

Dès 1974, Lehman et Huntsman remarquent une coïncidence entre les zones de forte endémie drépanocytaire et les zones d'infestation par le Plasmodium falciparum et posent le problème de la relation entre ces deux pathologies d'origine différente. Des expériences faites par Tragger et Jensen sur les cultures de parasites et l'infestation des globules rouges in vivo par Wetherall et d'autres auteurs permettent de conclure que les globules rouges contenant de

l'hémoglobine S présentent une différence d'infestation par rapport aux globules rouges normaux (43, 44. et 59). Il semble que la présence d'hémoglobine S soit défavorable à la prolifération de Plasmodium falciparum. Ceci pourrait expliquer la prévalence élevée du gène dans les zones d'endémie palustre (5).

1-3- Génétique de la drépanocytose :

La drépanocytose est génétiquement une mutation des gènes de structure qui codent pour la synthèse des chaînes bêta de l'hémoglobine ; la mutation intéresse le codon codant pour la synthèse du sixième acide aminé de la chaîne bêta. Au niveau de ce codon une adénine est remplacée par une uracile (58) . Cette mutation est transmise selon un mode autosomique codominant. Pour le clinicien, cette affection est récessive car seuls les homozygotes sont gravement malades. Pour le biochimiste, elle est dominante car l'hémoglobine S est identifiable aussi bien chez les hétérozygotes que chez les homozygotes (57) .

1-4-Pathogénie :

La drépanocytose est une maladie liée à une anomalie de structure des acides aminés. Elle est caractérisée par le remplacement du sixième acide aminé des chaînes bêta ; normalement l'acide glutamique , par la valine ($\alpha_2\beta_2,6\text{glu} \Rightarrow \text{val}$). Cette substitution d'acide aminé est conditionnée par une modification du triplet du nucléotide codant pour l'acide glutamique.

1-5- Physiopathologie :

Les conséquences cliniques et hématologiques des anomalies structurales des chaînes globiniques sont variables. Dans la plupart des cas et en particulier dans la drépanocytose, l'anomalie hémoglobinique provoque une modification de la forme ou de la consistance des globules rouges qui entraîne une destruction prématurée des hématies qui est à l'origine de la symptomatologie hémolytique de cette hémoglobinopathie (29).

1-5-1- Formes hématologiques selon le génotype :

On distingue 5 génotypes qui réalisent 3 formes de drépanocytoses :

- la forme majeure anémique :

drépanocytose homozygote (SSFA2), bêta thalasso-drépanocytose dans sa forme S β ta° thalassémie (SFA2)

- la forme majeure non anémique :

drépanocytose double hétérozygote (SC), thalasso-drépanocytose dans sa forme S β ta+ thalassémie (SAFA2)

- Forme asymptomatique :

C'est la drépanocytose hétérozygote ou trait drépanocytaire AS.

1-5-2- Mécanisme de la falciformation :

L'hémoglobine S possède une propriété fâcheuse qui conditionne toutes les manifestations pathologiques. Elle a tendance à se prendre en gel tactoïde lorsqu'il y a une baisse de la pression en oxygène. Les hématies sont alors déformées en faucilles ou bananes (drépanocytes), se prennent en masse et forment un thrombus ; ce qui explique la symptomatologie plus thrombosante qu'hémolytique.

Cette déformation falciforme est réversible ; les globules rouges reprenant leur forme discoïde normale si le sang est réoxygéné. La gélification se produit pour une concentration d'Hb S dépendant des conditions physico-chimiques, de l'hématocrite et du taux des autres hémoglobines présentes (la concentration nécessaire est plus élevée en présence d'Hb F que d'Hb A, moins élevée en présence d'Hb C). Chez les hétérozygotes, la concentration intra-érythrocytaire de l'Hb S est trop faible pour que la falciformation se produise in vivo, sauf dans certaines circonstances exceptionnelles. En revanche, chez les homozygotes, elle se produit dans les capillaires lorsque la pression partielle en oxygène (PO_2) est inférieure à 45 mm de Hg.

Elle est favorisée par l'acidose, la déshydratation, l'élévation de la température, les infections, l'hypoxie, l'exposition au froid, l'anesthésie mal contrôlée, l'effort physique excessif.

1-5-3- Crise vaso-occlusive :

En cas de privation prolongée d'oxygène, la déformation falciforme devient irréversible, le drépanocyte perd alors sa déformabilité et devient une cellule rigide inapte à la circulation dans les petits vaisseaux. Il s'agglutine et détermine l'occlusion de la microcirculation et des infarctus déclenchant ainsi la classique crise vaso-occlusive.

1-5-4-Hémolyse :

Les globules rouges falciformes de façon irréversible sont fixés et détruits rapidement par les éléments du système réticulo-endothélial d'où l'hyperhémolyse. Cette hémolyse exagérée aura pour conséquence l'ictère, les lithiases biliaires, les anomalies osseuses, parfois l'insuffisance médullaire par erythroblastopénie.

Toute la symptomatologie de la drépanocytose est conditionnée par les deux phénomènes de l'hyperhémolyse et des microthromboses, qui dépendent tous deux de la mauvaise solubilité de la désoxyhémoglobine entraînant la formation des drépanocytes.

L'hémolyse et la thrombose vasculaire créent un cercle vicieux que matérialise le schéma suivant :

Falciformation \Rightarrow ischémie \Rightarrow hypoxie \Rightarrow acidose \Rightarrow falciformation.

Ce qui entretient et aggrave les troubles.

2- Caractéristiques de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) :

Fagara xanthoxyloïdes appartient à la famille des Rutacées.

Les Rutacées sont des plantes souvent ligneuses qui ont des poches sécrétrices schizolysigènes. Cette famille compte plus de 700 espèces en grande partie arborescentes et appartenant aux pays chauds. Suivant les variations de l'ovaire et du fruit, les Rutacées se divisent en 3 sous familles :

- Les Rutoïdées.
- Les Toddalioidées.
- Les Aurantinoïdées

Le genre zanthoxylum est une sous famille des rutoïdées

2-1-Synonymes:

- Fagara xanthoxyloïdes (Lam)
- Fagara senegalensis (DC) A chev
- Zanthoxylum senegalense (DC) A chev
- Zanthoxylum polyganum Schum
- Zanthoxylum (Fagara) xanthoxyloïdes Waterm

2-2- Description botanique :

Fagara xanthoxyloïdes (Lam) est un petit arbre de 5 à 6 m de hauteur.

Les feuilles sont alternes, composées- imparipennées, comprenant 5 à 9 paires de folioles. Celles ci sont glabres, entières, en coin à la base, arrondies et souvent émarginées au sommet ce qui permet de différencier Fagara xanthoxyloïdes (Lam) d'autres espèces à folioles acuminées.

Les rameaux, le rachis et parfois la nervure médiane portent de grosses épines recourbées.

Les fleurs, groupées en panicules terminales, sont petites, blanches, pentamères, unisexuées par avortement

Les fruits de la grosseur d'un pois, sont des capsules s'ouvrant par deux valves et contenant une seule graine d'un beau noir brillant.

Les tiges se présentent sous forme de fragments cylindriques de 3 à 5 cm de diamètre.

Le bois est jaune clair (d'ou le nom de xanthoxylum), très dur, la moelle est à peine visible.

L'écorce, relativement mince de 2 à 3 mm, d'un brun légèrement violacé, est assez lisse; la saveur de l'écorce est amère , la mastication entraîne un picotement de la langue et un accroissement de la salivation.

Les racines mesurent 2 à 4 cm de diamètre : le bois est jaune, à texture compacte, l'écorce est peu épaisse (1 à 2 mm) se détachant facilement ; la surface externe, brun-clair, striée longitudinalement. sillonnée transversalement, présente de place en place des tâches jaunes vives.

La saveur, plus intense que celle de la tige, est aromatique, puis amère et poivrée (4)

2-3- Noms vernaculaires :

Le tableau ci-dessous indique les noms vernaculaires selon les pays (10).

Pays	Ethnies / Dialectes	Appellation
Bénin	Fon Goun Yoruba	hê hê igui ata
Congo	Bambara	wankaré
Mali	Bambara Malinké Peulh	wo ; gozo-ngua wo bulébarkele ; barkeley
Niger	Haoussa	fasakwari
Nigéria	Yoruba	igui ata ; ata
Sénégal	Bambara Wolof Toucouleur	wò , gozo-ngua guene gui deg dori
Togo	Diola diembereng Diola fogny Niom Peulh Sérère Socé Wolof Akassélem Akpossa Bassa Moba Tem	nisédet bbusan inok barkeley ; bulebarkele noc ; samatino nden ; horapolé ala dengidek ; génidec , nden ; horapolé ala bidjakogoro owlawu dikambidjumbi djomédiag abalatchang' aî

2-4- Habitat et distribution géographique :

Espèce des savanes préforestières et des fourrés littoraux, répandue en Afrique tropicale dans l'aire des massifs forrestiers guinéo-congolais, Fagara xanthoxyloïdes (Lam) est connu au Ghana, au Mali, en Côte d'Ivoire, au Nigeria, au Sénégal, au Togo et au Bénin Il pousse spontanément en Afrique et de préférence dans les sols frais et humides.

FIL.TIF

Zanthoxylum zanthoxyloides Waterm.
= *Fagara zanthoxyloides* Lam.
Rutaceae



2-5- Composition chimique :

2-5-1 Constituants des feuilles :

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Huiles essentielles	Dipentène	Stamm (1984)
	Linalol	"
	Méthyl nonyl-cétone	"
Coumarine	Bergaptène	"

2-5-2 Constituants des tiges :

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Gomme	Arabinose	Stamm (1984)
	Galactose	"
	Ac-4-o- méthyl glucuronique	"
	Acide aldobiuronique	Torto (1966)

2-5-3 Constituants des fruits :

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Huiles essentielles	Méthyl nonyl-cétone	Stamm (1984)
	Linalol	"
	Ester caprique	"
	Ester acétique	"
	Sesquiterpènes	"
Coumarines	Xanthotoxine Bergaptène	Kerharo (1979)

2-5-4 Constituants des racines :

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Alcaloïdes	3-diméthyl allyl 4 méthoxy 2-quinone Skimmianine Berbérine Chélérythrine Artarine (9-éthoxychélerythrine) Angoline (9-méthoxychélerythrine) Fagarine Magnoflorine N-méthylcorydine N-méthyl isocorydine Tembétarine Candine-6-one	Stamm (1984) Paris (1947) Hegnauer " Paris (1947) Palmer (1956) Messmer (1972) Hegnauer " " " Sofowora (1975)
Lignane	Fagarol Sésamine et -	Thoms (1911) Kerharo (1973)
Phénol	Xanthoxylol	Eshiet (1966)
Amide	N-iso-butyldécadiennamide	Bowden (1963) in Hegnauer
Acide phénol	Ac-2-hydroxyméthyl benzoïque Acide vanillique Ac p-hydroxybenzoïque	Sofowora (1975)

Les écorces de racines ont été étudiées dès 1887 par Giacosa et Marari qui isolèrent deux substances alcaloïdiques (18). La principale, amorphe, de formule brute $C_{21}H_{23}O_4N$, fut appelée par les auteurs artarine, du nom "artar" en italique donné à la drogue. Quant à la seconde, base existant en très faible quantité, elle était caractérisée en particulier par sa couleur rouge sang. Par la suite Paris et Moysse-Mignon rapprochent de l'artarine une substance alcaloïdique (du groupe de la berbérine) obtenue sous forme de chlorhydrate pur, pour laquelle ils proposent la formule $C_{23}H_{25}O_5N$ (41). Ils pensent en outre avoir isolés la base rouge sang pour laquelle ils proposent la formule brute $C_{19}H_{24}O_7N$ et la dénomination fagaridine. Pour Torto et coll : l'artarine ou substance A₂ est un artefact qu'ils ont identifiés par son spectre à la 9-éthoxy chélérythrine groupe de la benzophénanthidine (56).

Plus récemment (1969), en confirmant la présence de skimmianine dans les écorces de racine du Ghana les mêmes auteurs y ont isolé la dihydro-chélérythrine et confirmé la présence de chélérythrine.

Outre les bases tertiaires et quaternaires (8), les écorces de racines renferment une substance non azotée dénommée fagarol qui fut séparée par Priess en 1909 (45) avant d'être

obtenue à l'état cristallisé par Thoms et Priess en 1911 (54). La formule brute exacte $C_{20}H_{18}O_6$ lui fut alors assignée.

Le N-isobutyl décadiène amide est un léger anesthésique local des muqueuses et donne la saveur piquante aux écorces de racine.

2-6- Données pharmacologiques connues :

Extrait	Méthodes de culture	Résultats	Références
Extrait aqueux de racine	Méthode des plaques striées sur la flore buccale	Z.z présente des propriétés antibactériennes	El Saïd (1971)
Extrait aqueux de racine	Méthode des boîtes de pétri, en cupules sur la flore buccale	Zone d'inhibition en mm: -gélose au sang: 11.5 -gélose nutritive: 11	El Saïd (1971)
Extrait aqueux de racine	Méthode des boîtes de pétri, en cupules sur la flore buccale	Zone d'inhibition en mm: -gélose au sang: 23 -gélose nutritive: 23	Fadulu
Xanthotoxine	Sur poisson	Substance ichtyotoxique aux concentrations de 1 / 100.000	Stamm (1984)
Extrait aqueux de racine et fractions	Méthode des boîtes de pétri, en cupules sur la flore buccale	Activité antimicrobienne attribuée à 4 alcoïdes: -canthine-6-one -chélérithrine -berbérine et x -les acides phénols interviennent aussi	Odebiyi (1979)
Extrait aqueux de racine dissous dans TC 199	Action sur hématies en suspension dans TC 199 + métabisulfite de Na	Mise en évidence d'hématies crénelées. 5% avec Zz, 70% sans Zz. Mise en évidence d'hématies falciformes 40% avec Zz, 95% sansZz	Sofowara (1971)
Extrait aqueux et fraction contenant l'acide 2 hydroxybenzoïque	Action sur hématies à globine A et globine S en suspension dans TC 199	Le taux d'hématie falciforme diminue de 75% à 30% en présence de l'acide 2 hydroxybenzoïque	Sofowara (1971)
Extrait aqueux	Sur sang total de malade souffrant d'anémie falciforme + 25 mg d'ext / ml	L'extrait s'est révélé n'avoir aucune influence sur la transformation des hématies falciformes	Honing (1975)
Extrait étheré	Sur sang total HbS + 2% de métabisulfite de Na	Diminution nette du taux d'hématies falciformes pour une concentration de 6.7mg/ml	Headings (1976)
Fagaronine	Sur souris atteinte de leucémie + fagaronine - 25 mg/kg - 50 mg/kg -100 mg/kg	Prolongation de la vie de l'animal par animal de contrôle de: -190% -210% -265%	Messner (1972)

2-7- Données toxicologiques :

Type d'extrait	Animal	Résultats	Référence
Extrait aqueux de racine 1 mg/ml	Culture de cellules d'embryons de: - canard - poulet	D _T 50 0.09 0.06	Isacs-Sodeye et Coll (1975)
Extrait aqueux de racine 1 mg/ml	Oeuf embryonné de: - canard - poulet	D _L 50 0,1 à 1,5 ml 0,18 à 2,3 ml	Isacs-Sodeye et Coll (1975)
Extrait aqueux de racine 1,25 mg/ml	Souris	50 g/kg n'entraîne aucun effet mortel per os D _L : 20 g/kg/Ip	Isacs-Sodeye et Coll (1975)
Extrait aqueux de racine 1,25 mg/ml	Souris	D _I 50: 8 g/kg/Iv 1,25 ml d'extrait/kg/j pendant 7 jours ne provoque aucun effet pathologique per os	Isacs-Sodeye et Coll (1975)

2-8-Historique de l'utilisation de la plante, toxicité et action curative :

2-8-1-Historique de l'utilisation de la plante :

La racine de "Guene guidey" est très utilisée au Sénégal comme frotte-dents. Elle a une saveur piquante très appréciée et utilisée pour calmer les douleurs dentaires et les infections. C'est d'ailleurs en examinant les propriétés antibactériennes d'un extrait de la plante sur un milieu de culture contenant du sang que le professeur Sofowora au Nigeria constata que le sang sur lequel on avait déposé le "guene guideye" restait rouge très longtemps (50). Il en déduisit que la plante devait empêcher l'hémolyse des globules rouges. Depuis quinze ans, plus de trente publications ont précisé l'action antidrépanocytaire de la plante c'est-à-dire le pouvoir important qu'elle possède de redonner aux globules rouges leur forme ronde normale chez les malades et de permettre un meilleur apport d'oxygène. Le principe actif de la plante a d'ailleurs été isolé et des comprimés préparés au Nigeria. Une "étude comparée du traitement de la crise drépanocytaire par le Fagara et la Dihydro-ergotoxine " a été réalisée au Burkina Faso, à l'institut de Recherche sur les substances naturelles (38)

2-8-2-Toxicité et action curative de la plante :

La toxicité de la plante a été bien étudiée par Isacs-sodeye et collaborateurs (25). Aucune toxicité n'existe par voie orale et elle est très faible pour les autres voies.

Un extrait de la plante donné par voie orale, correspondant à 1 g de poudre de racine trois fois par jour à un drépanocytaire très malade fait disparaître complètement les crises qui sont en moyenne de 25 par an. Les principes actifs responsables de l'action antidrépanocytaire sont des acides dont le principal est l'acide hydroxy-méthylbenzoïque et aussi le xanthoxylol.

Chapitre IV :
METHODOLOGIE DE TRAVAIL

1- Travaux préliminaires :

Avant de procéder à l'étude de l'efficacité de Fagara xanthoxyloides (Lam) in vivo nous avons effectué des travaux préliminaires visant à extraire et à conditionner le produit puis à évaluer in vitro son pouvoir antifalciformant

1-1- Extraction et conditionnement :

1-1-1-Extraction :

L'extrait de la plante utilisé dans le cadre de notre étude a été obtenu à partir des écorces de racines recueillies par nous mêmes.

1-1-1-1 Matériels utilisés :

- * couteau
- * mortier
- * pilon
- *tamis n°30 en soie
- * tasse en porcelaine
- * percolateur
- * gélulier officinal.

Cette extraction a été faite selon la méthodologie qui suit :

1-1-1-2 Technique :

- Mondation à la main :

Les écorces de racines, ont été triées afin de les débarrasser de certaines parties inutiles.

- Dessiccation:

Elle a été faite à l'air libre pendant dix jours .

- Pulvérisation au mortier:

Elle a été réalisée à l'aide d'un pilon pour l'obtention de la poudre.

- Tamisage:

Pour le tamisage, nous avons eu recours à un tamis simple en soie n° 30. La poudre obtenue est fine et de degré de finesse identique à elle même.

- Macération :

Elle consiste à laisser en contact à froid la substance avec le solvant. Elle peut être employée aussi comme une opération préliminaire afin d'amener les produits très difficiles à imbiber à un état tel que le traitement consécutif soit facilité (lixiviation). C'est cette technique que nous avons utilisés .A partir du tableau de mouillage, nous avons obtenu de l'alcool à 50° à partir d'alcool à 90°.

*L'alcool à 50° est obtenu en ajoutant 800 ml d'eau distillée à 1 litre d'alcool à 90° .

Nous avons pris 800 g de poudre fine d'écorce de racine + 1800 ml d'alcool à 50° pour la macération qui a duré 24 heures. L'extrait obtenu est soumis à l'air libre afin que le maximum d'alcool puisse se volatiliser. Cette technique aboutit à une solution-mère très concentrée dont le volume est égal à 150 ml, la concentration $C = 5.33 \text{ g/ml}$ et le $\text{pH} = 5$.

*Une gamme d'étalonnage est constituée à partir de la solution-mère. Une dilution successive a été faite au quart et au huitième.

- La lixiviation ou percolation :

Elle a consisté à faire passer le solvant ordinairement à froid, lentement, régulièrement et de haut en bas à travers un filtre la drogue convenablement divisée et disposée en couches suffisamment épaisses dans un percolateur.

Ce procédé de dissolution réalise généralement l'épuisement le plus complet avec le minimum de solvant.

Nous avons ainsi obtenu un extrait mou à consistance de miel épais qui a été repris avec une poudre inerte (talc) pour le conditionnement en gélule.

1-1-2- Conditionnement :

Le conditionnement a été fait en gélule n° 000 ou capsule par emboîtement ou encore capsule dure de couleur rouge fournie par la coopération pharmaceutique française. Le produit final a été introduit dans chaque gélule à l'aide d'un gélulier officinal (appareil manuel) de manière à obtenir un poids de 750 mg/gélule. Le gélulier se présente comme une plaque perforée destinée à recevoir les parties inférieures des enveloppes. Les bords de celles-ci affleurent exactement au niveau supérieur des plaques. Le remplissage se fait par arasage. L'opération de répartition terminée, un système qui varie permet de soulever légèrement les demi-capsules pleines. Il suffit d'emboîter alors les demi-capsules supérieures.

Une opération annexe consiste au nettoyage après remplissage des particules de poudre qui adhèrent aux parois externes des gélules. Le nettoyage se fait par brossage manuel avec un tissu propre.

Le contrôle de qualité a consisté à la détermination du poids moyen de la contenance des gélules.

Pour ce faire nous avons pris au hasard 10 gélules et nous les avons pesé. Soit P le poids. Chaque gélule est ensuite vidée. Les dix enveloppes vides sont pesées ensemble ; soit P' leur poids. Le poids moyen du contenu d'une gélule est égal à :

$$(P - P') / 10$$

Puisque le poids est égal à 750 mg, la précision est alors de +/- 10 % (30)

2- Etude de l'efficacité de l'extrait in vitro :

2-1-Matériel d'étude :

*** Produit végétal :**

Le produit végétal est un extrait hydroalcoolique préparé à partir d'écorses séchées, pulvérisées à l'aide d'un broyeur de laboratoire de Fagara xanthoxyloïdes en vue d'un "screening" chimique et des tests d'activité pharmacologiques in vitro et in vivo.

*** Echantillons étudiés :**

Le sang a été prélevé sans sélection chez 12 drépanocytaires âgés de 0 à 19 ans au début de leur crise dans les hôpitaux de Gabriel Touré et Point "G" . Les enfants appartiennent aux deux sexes et sont surtout de groupes sanguins 0+ et A+.

*** Métabisulfite de Na ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) :**

C'est une préparation faite extemporanément en raison de 0.5 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ pour 25 ml d'eau distillée. La solution obtenue est à 2 %.

*** Bougie:**

La bougie est liquéfiée par chauffage. Ce qui permet de sceller les lamelles.

*** Lames et lamelles de verre :**

*** Pipette Pasteur (ou pipette compte-gouttes)**

*** Tubes à essai sans anticoagulant**

*** Tubes à essai avec anticoagulant (citrate en poudre)**

*** Prélèvement sanguin :**

Le sang veineux est prélevé par ponction d'une veine à l'avant-bras après le port d'un garrot..

***Plaque d'acetate de cellulose (laboratoire Helena)**

***Micropuits**

***Applicateur Helena**

***Micropipettes de 5 μl**

***Tampon Buffer HR (laboratoire Helena)**

***Cuves à électrophorèse**

***Papier filtre**

***Générateur Titan 3 (laboratoire Helena)**

***Densitomètre Quick Scan Jr (laboratoire Helena)**

***Rouge Ponceau**

***Méthanol pur**

***Acide acétique dilué**

***Liquide transparisant (Clear Aid)**

2-2- Techniques de l'étude :

2-2-1 Electrophorèse de l'hémoglobine :

Le profil hémoglobinique a été déterminé par électrophorèse sur acétate de cellulose selon la technique proposée par les laboratoires Helena. Cette technique a été réalisée en pratique selon la procédure suivante (20) :

Réalisation pratique :

Nous avons utilisé pour notre électrophorèse standard le matériel HELENA.

Les différents temps d'électrophorèse peuvent se résumer ainsi :

a) Nous avons préparé un culot globulaire lavé à trois reprises dans le sérum physiologique (NaCl à 9 pour mille)

b) Le culot globulaire a été hémolysé à l'aide du réactif hémolysant spécial des laboratoires HELENA. Cette hémolyse a été effectuée dans des micropuits analogues aux plaques utilisées pour l'hémagglutination proposées par les laboratoires HELENA

c) Les bandes d'acétate de cellulose ont été émergées lentement dans un tampon triborate EDTA à pH = 8.6 (tampon Supérieur Heme HELENA), pendant 20 mn puis séchées au papier buvard juste avant l'emploi.

d) Les dépôts d'hémolysat ont été effectués sur les plaques d'acétate à l'aide d'un applicateur HELENA permettant de réaliser simultanément 8 dépôts homogènes sur la même plaque sans aucune difficulté.

e) La bande d'acétate de cellulose est ensuite placée dans la cuve à électrophorèse, dont les contacts électriques sont assurés par le tampon triborate EDTA à pH 8,6 (ce tampon remplit d'abord les cuves latérales et imprègne des bandes de papier-filtre en contact d'une part avec les bandes d'acétate de cellulose et d'autre part avec le liquide des cuves latérales).

f) La migration a duré 20 mn sous 350 volts.

g) La coloration des plaques pour chaque opération, a utilisé du Rouge Ponceau.

h) La décoloration des plaques a été faite dans l'acide acétique dilué à 5 % dans l'eau simple.

i) Les plaques ont été ensuite transparisées dans une solution d'acide acétique à 29 % contenant du méthanol à 67 % et de Clear- Aid à 4 % puis séchées à l'aide d'un sèche-cheveux.

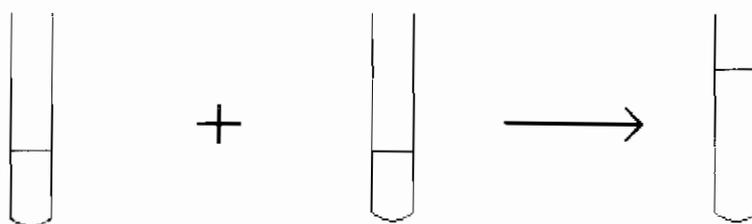
j) Les fractions d'hémoglobines ont été déterminées par densitométrie.

2-2-2-Test d'Emmel :

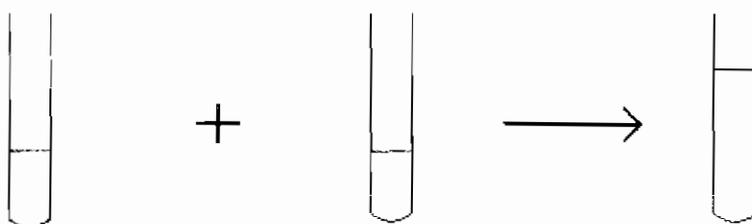
L'application du test d'Emmel aux prélèvements sanguins des malades drépanocytaires homozygotes SS en absence et en présence d'extrait hydroalcoolique de Fagara aux différentes concentrations a été réalisée en vue de la mise en évidence de son activité anti-falcémiant (pourcentage de drépanocytes), comparativement à un blanc témoin (sans produit).

L'influence de la concentration du produit sur la falciformation de même que sa cinétique d'action (délai, durée, réversibilité d'action) ont été recherchées. A cet effet les observations au microscope optique sont faites aux intervalles de temps T₁₅ mn, T₃₀ mn, T₄₅ mn, T₆₀ mn; T₉₀ mn, T₁₂₀ mn, T₁₃₅ mn en vue de l'observation de falciformation. Le nombre d'hématies falciformées est noté dans un champ de 100 hématies, en fonction du temps de contact sang-produit.

Technique :



Sérum physiologique 100µl Sang SS 100µl Solution à examiner (Témoin)



Extrait à différentes concentrations 100µl Sang SS 100µl Solution à examiner

- On dépose une goutte de solution (10 µl) sur la lame et une goutte de réactif au métabisulfite de Na.

- Les deux gouttes sont soigneusement mélangées en s'aidant de l'angle de la lamelle avec laquelle on recouvre le mélange, on s'assure qu'il n'y a pas formation de bulle d'air.

- La préparation est scellée avec une lamelle en s'aidant de la bougie de manière à priver la préparation d'oxygène.

- La lecture de la préparation se fait aux différents temps (à l'objectif 40 x).

3- Etude clinique :

L'étude clinique a consisté en une enquête hospitalière

3-1-Sujets étudiés :

Notre étude a porté sur des enfants et adolescents de 0-22 ans tous sexes confondus

Le recrutement a été systématique

Les malades ont été régulièrement suivis dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré par les internes.

3-2-Les produits testés :

*** L'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) :**

C'est un extrait hydro-alcoolique obtenu après macération et lixiviation des écorces de racine de fagara xanthoxyloïdes (Lam) initialement séchées et pulvérisées. L'extrait est ensuite mélangé avec une poudre inerte (talc) pour le conditionnement en gélules . Les gélules ont été gardées dans des flacons étanches, secs et sertis . Le contenu d'une gélule est estimé à 750mg.

***Le kétoprofène :**

C'est un anti-inflammatoire non stéroïdien, un antalgique, un anti-aggrégant plaquettaire et un anti-pyretique.

Nous avons transvasé le contenu d'une gélule de kétoprofène dosée à 50mg dans une gélule vide ayant le même numéro et la même couleur que les gélules de fagara xanthoxyloïdes.

Les ampoules injectables de kétoprofène dosées à 100mg ont été également utilisées.

3-3-Méthodologie :

3-3-1 Période :

L'étude s'est déroulée de Décembre 1992 à Décembre 1994.

3-3-2 Lieux :

Le travail a eu lieu dans les formations sanitaires suivantes:

- Hôpital Gabriel Touré (service de pédiatrie 3)
- Laboratoire d'hématologie de l'école nationale de médecine et de pharmacie.

3-3-3 Echantillonnage :

Vingt malades ont fait l'objet de notre étude, ont été considérés comme thalasso-drépanocytaires (SF) tous les malades qui avaient une microcytose et un taux

d'hémoglobine F supérieur ou égale à 20 %.

3-3-4 Critères d'inclusion des malades :

- Sujets âgés de 0 à 40 ans quelque soit le sexe.
- Drépanocytaires SS, SF, SC.
- Malade n'ayant pas reçu de traitement anti-falcémiant depuis plus de 72heures.
- Crise douloureuse ostéo-articulaire non compliquée.
- Obtention du consentement verbal des patients ou de leur parent.

3-3-5 Critères d'exclusion des malades :

- Malade âgé de plus de 40 ans.
- Défaillance viscérale majeure (insuffisances :cardiaque, respiratoire et hépatique)
- Douleurs non drépanocytaires.
- Crises hémolytiques pures.
- Refus du traitement.
- Malade ayant reçu un traitement anti-falcémiant dans les 72heures avant son hospitalisation.

3-3-6 Evaluation clinique de la douleur :

Elle est faite selon le protocole clinique présenté en annexe.

Ce protocole prévoyait au départ, une étude en double aveugle. A cause de la rareté des cas de malades âgés de plus de 5 ans et de la contre indication du kétoprofène avant cet âge, nous avons du procéder en deux phases :

* Dans une première phase, l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes a été administré chez 10 premiers malades répondant aux critères d'inclusion dans notre protocole. Les gélules de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) étaient données aux malades par nous même, mais l'évaluation clinique de la douleur était faite par 3 internes de médecine qui ignoraient la nature de la médication. L'évaluation chez chaque malade était faite par un seul interne du début à la fin du traitement.

* Dans une deuxième phase, l'évaluation de la douleur a été faite à l'aide du même support de données chez un groupe de 10 enfants pour qui le kétoprofène était prescrit par les pédiatres.

3-3-7 Modalités d'administration :

* Comme décrit plus haut l'administration des produits a procédé en deux phases.

***Voie d'administration :**

. Le kétoprofène a été administré en perfusion dans 500 ml de sérum salé ou glucosé les deux premiers jours. Le relais a été pris par les gélules les jours suivants.

. L'extrait de Fagara xanthoxyloïdes a dans tous les cas été administré par voie orale sous forme de gélule.

*** Début du traitement :**

Le traitement a débuté dès l'hospitalisation du malade après le bilan initial nécessaire pour l'inclusion dans le protocole

*** Doses et rythme d'administration:**

Extrait de fagara xanthoxyloïdes :

- 1 gélule toutes les 8 h de 0 à 10 ans.
- 2 gélules toutes les 8 h de 11 à 22 ans

Kétoprofène :

- 100 mg toutes les 12 h de 0 à 10 ans
- 200 mg toutes les 12 h de 11 à 22 ans

*** Nombre d'administration par 24 h :**

- Fagara xanthoxyloïdes: trois
- Kétoprofène: deux

*** Durée du traitement :**

Les produits ont été administrés pendant quatre jours consécutifs.

3-3-8 Traitements associés :

Une perfusion de solutés isotoniques a été décidée dans tous les cas de coma et chez tous les enfants recevant du kétoprofène les deux premiers jours.

Les antibiotiques, les anti-paludéens , les anti-pyretiques ont été utilisés dans certains cas. Les antalgiques ont été également utilisés dans les cas ou la douleur a persisté au delà de 48 h.

3-3-9 Bilan initial :

3-3-9-1 Clinique :

Ce bilan clinique a eu pour but de détecter toute défaillance majeure, pouvant représenter un critère d'exclusion. Il a été fait par les internes de médecine.

3-3-9-2- Biologique :

***Hémogramme :**

Un hémogramme a été fait systématiquement chez tous les malades inclus dans l'étude avant et à la fin du traitement. Cet hémogramme a été complété par un dosage des réticulocytes lorsque le taux d'hémoglobine était inférieur à 10 g / dl.

La numération globulaire a été faite à l'aide d'un compteur automatique type S560. Le dosage des réticulocytes a procédé par une numération sur frottis coloré au bleu de crésyl brillant.

*** L'étude du type d'hémoglobine :**

Pour préciser le type d'hémoglobine nous avons eu recours à une électrophorèse sur acétate de cellulose à pH = 8,6 suivie d'une étude densitométrique visant à préciser les différentes fractions.

*** Test d'Emmel :**

Un test d'Emmel quantitatif a été fait avant et en fin de traitement chez tous les malades après un mélange à quantité égale entre le sang prélevé et du métabisulfite de sodium. Ce dosage quantitatif a consisté à numérer les drépanocytes retrouvés parmi 100 hématies 15 mn après le mélange.

3-3-10 Exploitation statistique des résultats :

Les tests statistiques utilisés ont été : Chi 2 et le test exact de Fisher

Chapitre V :

Résultats

1- Etude préliminaire :

1-1- Sang testé in vitro :

Le test in vitro a été effectué sur le sang prélevé chez 12 malades drépanocytaires homozygotes SS.

1-2- Efficacité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes in vitro :

1-2-1- Resultats descriptifs :

Le tableau 1 montre les pourcentages moyens de falciformation parmi les globules rouges mis en contact avec le sérum physiologique (blanc témoin) et l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) à différentes concentrations en fonction du temps.

Le pourcentage moyen des globules rouges falciformés au contact du sérum physiologique est resté constant toute la durée de l'expérimentation.

Ce pourcentage est de 66,750 %. Il diminue lorsque les globules rouges sont en contact avec l'extrait de Fagara. Cette diminution est statistiquement significative $p = 10^{-5}$.

Tableau 1 : Pourcentage moyen de globules rouges falciformés en présence de sérum physiologique (S) et de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam).

		T15 mn	T30 mn	T45 mn	T60 mn	T90 mn	T120 mn	T135 mn	p1
S		66,750	66,750	66,750	66,750	66,750	66,750	66,750	Ns
p2		S	S	S	S	S	S	S	
Fagara	X	11,000	13,250	12,667	10,750	8,833	6,167	5,000	Ns
	X / 4	13,5583	18,167	20,333	19,167	18,583	18,500	17,333	Ns
	X / 8	14,583	17,833	19,500	17,417	17,833	18,167	18,500	Ns
p3		Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	

p1 = probabilité de variations des pourcentages de falciformation en présence de sérum physiologique ou de l'extrait dans le temps.

p2 = comparaison entre sérum et Fagara xanthoxyloïdes (Lam) aux différents temps.

p3 = compare l'activité des différentes concentrations de Fagara aux différents temps.

S = significative ; Ns = non significative.

1-2-2 Résultats analytiques :

Les tableaux 2 à 4 montrent les pourcentages moyens des globules rouges falciformés en fonction de la concentration de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes et du temps de contact.

Quelque soit la concentration utilisée on n'observe aucune différence statistiquement significative entre les taux moyens de falciformation en fonction du temps de contact.

Tableau 2 : Pourcentage moyen des globules rouges falciformés en présence de l'extrait pur (X) de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) à différents temps.

Temps	Moyenne	Variance	Ecart-type
T ₁₅ X	11,000	196,000	14,000
T ₃₀ X	13,250	306,386	17,504
T ₄₅ X	12,667	315,879	17,773
T ₆₀ X	10,750	170,932	13,074
T ₉₀ X	08,833	156,152	12,496
T ₁₂₀ X	06,167	038,333	06,191
T ₁₃₅ X	05,000	030,909	05,560

Test F = 0,69 ; p = 0,66

Tableau 3 : Pourcentage moyen des globules rouges falciformés en présence de l'extrait dilué au 1 / 4

Temps	Moyenne	Variance	Ecart-type
T ₁₅ X /4	13,583	226,265	15,042
T ₃₀ X /4	18,167	633,606	25,172
T ₄₅ X /4	20,333	668,242	25,850
T ₆₀ X /4	19,167	671,970	25,922
T ₉₀ X /4	18,583	677,902	26,037
T ₁₂₀ X /4	18,500	635,545	25,210
T ₁₃₅ X /4	17,333	590,061	24,291

Test F = 0,09 ; p = 0,99

Tableau 4 : Pourcentage moyen des globules rouges falciformés en présence d'extrait dilué au 1/8

Temps	Moyenne	Variance	Ecart-type
T ₁₅ X/8	14,583	222,269	14,921
T ₃₀ X/8	17,833	249,606	15,799
T ₄₅ X/8	19,500	387,545	19,686
T ₆₀ X/8	17,417	222,083	14,902
T ₉₀ X/8	17,833	347,788	18,649
T ₁₂₀ X/8	18,167	443,606	21,062
T ₁₃₅ X/8	18,500	508,636	22,553

Test F = 0,08 ; p = 0,99

1-2-3 Pourcentage de réduction de la falciformation :

Le tableau 5 montre les pourcentages de réduction de la falciformation par rapport au serum physiologique. Ces pourcentages sont calculés de la manière suivante:

Soient A = % moyen de falciformation avec le sérum physiologique

B = % moyen des globules rouges falciformés aux différents temps et avec les différentes concentrations.

Le pourcentage de réduction = $\{(A - B) / A\} \cdot 100$ exprimé en pourcent.

Il laisse apparaître globalement des pourcentages de réduction plus importants avec le produit utilisé pur. Mais la différence observée n'est qu'apparente puisque statistiquement non significative.

Tableau 5: Pourcentage de réduction de la falciformation à différents temps et à différentes concentrations

	Produit pur (X)	Dilution (X/4)	Dilution (X/8)
T ₁₅	83,5	79,6	78,1
T ₃₀	80,1	72,7	73,2
T ₄₅	81,0	69,5	70,7
T ₆₀	83,8	71,2	73,9
T ₉₀	86,7	72,1	73,2
T ₁₂₀	90,7	72,2	72,7
T ₁₃₅	92,5	74,0	72,2

1-2-4 Choix de la concentration pour l'essai clinique :

Ce choix a été opéré sur la base des résultats ci-dessus rapportés ; ne montrant pas de différence entre le produit utilisé pur ou dilué.

2 Etude clinique :

2-1 Caractéristiques des sujets étudiés :

2-1-1 Répartition ethnique :

Nos malades se répartissent entre 7 ethnies. Les ethnies prédominantes dans les 2 groupes sont les Bambara et les Malinké, comme il est classique de l'observer à Bamako (Tableau 6)

Tableau 6: Répartition ethnique des malades

Ethnie	Groupe 1	Groupe 2	Fréquence (%)
Malinké	0	5	25
Bambara	3	2	25
Sarakolé	1	2	15
Maure	1	1	10
Peulh	3	0	15
Sénoufo	1	0	5
Haoussa	1	0	5
Total	10	10	100

2-1-2 Répartition des malades selon l'âge :

Nous avons fait notre répartition en classes d'âge selon le tableau de KAIN (26). La moyenne d'âge pour l'ensemble des malades est égale à 133,5 mois avec un maximum de 264 mois et un minimum de 9 mois pour le groupe 1, un maximum de 240 mois et un minimum de 36 mois pour le groupe 2. Le tableau 7 montre globalement une répartition identique dans les 3 tranches d'âge. Lorsqu'on compare cependant les effectifs des malades dans les 2 groupes et par tranche d'âge, on constate plus de malades âgés de 0 à 59 mois dans le groupe 1 que dans le groupe 2; une différence inverse est notée pour la tranche d'âge d'enfants âgés d'au moins 132 mois. Dans la tranche d'âge intermédiaire on ne note pas de différence significative (Tableau 7).

Tableau 7: Répartition des malades selon l'âge

Age (mois)	Groupe 1	Groupe 2	Fréquence (%)
0 à 59	5	1	30
60 à 131	3	4	35
132 et plus	2	5	35
Total	10	10	100

T = 5,539 $p < 10^{-4}$

2-1-3 Répartition des malades en fonction du sexe :

Globalement nos malades se recrutent plus parmi les garçons que parmi les filles avec un sexe ratio égal à 1,2 . La comparaison des 2 groupes laisse apparaître une différence de répartition selon le sexe: on observe plus de garçons dans le groupe 1 que dans le groupe 2 et inversement plus de filles dans le groupe 2 (Tableau 8).

Tableau 8: Répartition des malades en fonction du sexe

Sexe	Groupe 1	Groupe 2	Fréquence (%)
Masculin	7	4	55
Féminin	3	6	45
Total	10	10	100

T = 12,704 $p < 10^{-4}$

2-1-4 Répartition des malades selon le type d'hémoglobine :

Le tableau 9 fait apparaître la répartition des malades selon le type d'hémoglobine. Globalement les formes homozygotes SS prédominent dans les 2 groupes de malades.

Tableau 9 : Répartition des malades selon le type d'hémoglobine rencontré

Groupe / Hémoglobine	SS	SF	SC
Groupe 1	9	0	1
Groupe 2	6	3	1
Total	15	3	2
Fréquence (%)	75	15	10

2-1-5 Répartition selon le groupe sanguin ABO et Rhésus :

Parmi nos malades 11 ont pu bénéficier d'un groupage dans les systèmes ABO et Rhésus. Dans le système ABO, le groupe O est le plus fréquemment rencontré. L'antigène D est retrouvé chez tous nos malades. Ces résultats sont indiqués dans le tableau 10.

Tableau 10 : Répartition selon le groupe sanguin ABO et Rhésus.

Groupe sanguin	Nombre de cas
A+	3
B+	3
O+	4
AB+	1

2-2 Comparaison entre les taux moyens des paramètres hématologiques dans les 2 groupes de malades à Ho et H72 :

Que l'on considère le taux moyen des globules rouges, de l'hémoglobine ou de l'hématocrite, on ne constate aucune différence significative entre les malades à l'inclusion dans l'étude et 72 heures après le début du traitement (Tableau 11).

Tableau 11 : Comparaison entre les taux moyens des paramètres hématologiques dans les 2 groupes de malades à Ho et H72

	Ho			H72		
	Groupe 1	Groupe 2	p	Groupe 1	Groupe 2	p
Taux d'Hb (g/dl)	7,363	8,343	Ns	7,620	8,800	Ns
Globules rouges ($10^{+12} / l$)	2,375	3,107	Ns	2,886	3,110	Ns
Hématocrite (%)	19,730	24,600	Ns	23,650	25,470	Ns

Ns = non significative

Hb = hémoglobine

2-3 Evolution de la symptomatologie dans les 2 groupes :

Le tableau 12 montre l'évolution de la symptomatologie douloureuse chez nos malades. A l'inclusion on observe une répartition identique dans les deux groupes selon l'intensité de la douleur.

Pour les niveaux d'intensité 3 et 4, on ne note pas de différence significative entre les deux groupes de malades durant les 72 premières heures de traitement. Pour les niveaux 1 et 2 il apparait une différence à partir de 48 heures de traitement qui devient statistiquement significative dès les 72^{èmes} heures. Ces résultats ne sont pas modifiés lorsqu'on exclu du groupe 1 les enfants âgés de moins de 5 ans (Tableau 12).

Tableau 12 : Evolution de la symptomatologie dans les 2 groupes

	Ho			H24			H48			H72		
	G1	G2	p	G1	G2	p	G1	G2	p	G1	G2	p
I-1	10	10	Ns	10	9	Ns	4	9	Ns	0	8	S
I-2	10	10	Ns	10	10	Ns	7	10	Ns	0	10	S
I-3	10	10	Ns	10	10	Ns	10	9	Ns	3	7	Ns
I-4	6	6	Ns	5	4	Ns	0	3	Ns	0	2	Ns

I = intensité , S = significative

G = groupe ; Ns = non significative

2-4 Evolution du pourcentage moyen de globules rouges falciformés dans les 2 groupes de malades à Ho et 72 heures :

Comme il apparaît sur le tableau 13, le pourcentage moyen de globules rouges falciformés ne diffère pas d'un groupe à l'autre à l'inclusion dans le protocole ou au bout de 72 heures de traitement. Il n'existe pas non plus de différence entre les pourcentages de falcifications à l'inclusion et à 72 h pour les groupes considérés séparément (Tableau 13).

Tableau 13 : Evolution du taux moyen de globules rouges falciformés dans les 2 groupes de malades à Ho et 72 heures.

	Ho			H72		
	G1	G2	p	G1	G2	p
Taux de falcification	83,600	84,500	Ns	67,700	81,800	Ns

2-5 Traitements associés :

La distribution des malades dans les deux groupes en fonction des traitements associés ne montre pas de différence statistiquement significative (Tableau 14).

Tableau 14 : Traitements associés

Traitement	Groupe 1	Groupe 2	p
Antibiotiques	3	8	Ns
Antalgiques	6	8	Ns
Antipaludéens	3	3	Ns
Antipyrétiques	4	4	Ns
Anti-inflammatoire	2	0	-
Serum salé	6	7	Ns
Serum glucosé	6	4	Ns

Chapitre VI :

Discussion

1- Méthodologie :

Fagara xanthoxyloïdes (Lam) est une Rutacée de laquelle plusieurs principes sont extractibles.

Selon plusieurs études l'activité antifalcémiant de la plante est assurée principalement par l'acide- 2 hydroxy methyl benzoïque et le xanthoxylol. Ces deux principes actifs se trouvent à des quantités identiques aussi bien dans les extraits éthanoliques que aqueux (16, 51, 38).

Ces données motivent le choix de l'extrait hydro-alcoolique dans notre étude aussi bien pour le test in vitro que pour l'étude clinique.

Expérimentalement Fagara xanthoxyloïdes (Lam) est connu pour plusieurs activités dont essentiellement son action sur la membrane des globules rouges responsable de son activité antifalcémiant (51)

Le choix du test d'Emmel pour l'appréciation de cette activité au cours de nos études préliminaires et chez les malades traités s'explique par le souci de comparaison de nos données avec celles d'études déjà disponibles (38). Il s'explique également par sa simplicité, sa rapidité d'exécution (11, 24)

Il était important pour nous avant de passer à l'étude de procéder à un essai phase I pour prouver l'effet antifalcémiant de notre extrait hydro-alcoolique.

Nous avons choisi de conduire notre étude dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré parcequ'il s'agit d'un service qui reçoit plus d'enfants drépanocytaires et dispose de structures d'urgence et de suivi garantissant une prise en charge efficiente des malades.

Ce volet clinique de notre étude devait se faire en double aveugle mais les effets secondaires potentiels de l'administration du kétoprofène chez les enfants de moins de 5 ans, la rareté des crises ostéoarticulaires après cet âge (57) expliquent que nous avons dû conduire l'étude en deux phases.

Il est important de souligner toute fois qu'au cours de la première phase l'expérimentateur chargé d'évaluer la crise douloureuse ignorait la nature du médicament pris par le malade et que pour chaque malade la douleur était appréciée par un seul expérimentateur. Dans cette phase l'âge n'a pas constitué un critère d'exclusion car à notre connaissance aucun effet indésirable de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (lam) lié à l'âge n'a été rapporté lorsqu'il est administré par voie orale (25)

Hormis les autres antalgiques, ce traitement a été associé chaque fois que cela était nécessaire, à un traitement spécifique.

2- Efficacité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) in vitro :

L'appréciation de l'efficacité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) in vitro et à différentes concentrations montre une activité anti-falcémiant très hautement significative par rapport au blanc témoin. Le phénomène est apparent dès la 15ème minute après le mélange entre le sang et l'extrait. Cette différence est observée jusqu'au temps 135 mn. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Ouattara (38)

Dans cette étude l'activité anti-falcémiant n'est pas modifiée en fonction de la concentration de l'extrait. Ouattara et coll (38) constatent le même phénomène avec les concentrations de 1% et 2%

Contrairement à ces auteurs nous n'avons pas observé cependant une perte du pouvoir falcémiant significativement différent entre les différentes concentrations au bout de 2 h 30 mn d'expérimentation. Nous trouvons des taux d'inhibition de la falciformation identiques à ceux trouvés par ces auteurs à T15 mn (83,6% et 84,5% respectivement pour nos groupes 1 et 2 contre 93% pour ces auteurs).

Cette contradiction s'explique soit par un biais méthodologique, soit par le fait que l'effet de saturation ne s'observe que pour des concentrations plus faibles que celles que nous avons étudiées.

3- Efficacité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) chez nos malades :

3-1 Caractéristiques des malades :

La répartition selon l'âge, l'ethnie ou le sexe de nos malades, n'offre rien de particulier.

Cette répartition corrobore les résultats des travaux antérieurs effectués dans le même service (57). La répartition dans les deux groupes montrent un âge moyen plus élevé dans le groupe 2 que dans le groupe 1. Ceci s'explique par un biais méthodologique : alors que l'âge n'était pas un critère de sélection pour le groupe 1. Seul était inclus dans le groupe 2 les sujets âgés de plus de 5 ans.

La distribution de nos malades en fonction du type d'hémoglobine montre que les drépanocytaires homozygotes sont plus nombreux. Cette distribution est celle observée par Traoré (57) dans le même service en 1992. Elle reflète les prévalences des différents types d'hémoglobinopathies rencontrées à Bamako et la fréquence plus élevée des crises drépanocytaires chez le sujet homozygote SS (5, 23).

3-2 Evolution de la crise douloureuse :

L'évaluation clinique de la douleur permet de noter une supériorité de l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes sur le kétoprofène chez les seuls malades dont l'intensité de la douleur n'atteint pas le niveau 3. Quatre hypothèses peuvent être discutées pour expliquer ce résultat :

- Un biais méthodologique.
- La réversibilité des drépanocytes.
- La réversibilité des drépanocytes formés et la prévention de la formation d'autres drépanocytes.
- La prévention de la falciformation.

Certains résultats observés au cours de ce travail plaident plutôt en faveur de la 4^{ème} hypothèse. En effet, si l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) a un effet sur les drépanocytes irréversibles, il devrait être actif aussi bien dans les crises douloureuses modérées que dans les formes graves. D'autre part, le pourcentage des drépanocytes observés sur lame aussi bien dans l'étude préliminaire in vitro que chez les malades traités par l'extrait, n'est pas modifié dans le temps. Enfin, il n'existe aucune différence significative entre nos 2 groupes de malades selon l'âge ou les traitements associés.

La corrélation entre le pourcentage des drépanocytes irréversibles et la gravité clinique de la drépanocytose est cependant bien démontrée (7,49) et nous n'avons pas étudié au cours de ce travail, l'effet de doses de l'extrait plus importantes.

La diminution du volume cellulaire et l'augmentation de la concentration en hémoglobine constituent les préalables indispensables à la falciformation irréversible du globule rouge (7). La diminution du volume cellulaire traduit des modifications au niveau de la membrane de la cellule drépanocytaire avec perte de matériel membranaire (3,32) et redistribution des lipides de la couche interne de la membrane (31). La conséquence de ce phénomène est la diminution du rapport surface / volume et donc une augmentation de la concentration corpusculaire en hémoglobine ; facteur le plus important de la polymérisation (29). Ce phénomène s'accompagne également d'une augmentation intracellulaire des cations

Un traitement de fond généralisable à tous les malades drépanocytaires reste encore à découvrir. La drépanocytose est une maladie douloureuse, handicapante. La répétition des crises douloureuses, la survenue possible et fréquente des complications rendent sa prise en charge extrêmement coûteuse pour des populations en général sans ressources suffisantes et sans

couverture sociale. Le traitement de la douleur drépanocytaire est encore mal codifié, faute du médicament régulièrement actif. Ainsi la prescription des antalgiques connus relève souvent de l'expérience et des habitudes du prescripteur. De façon générale, tous les antalgiques utilisés sont des produits importés, non accessibles à tous les drépanocytaires à cause de leur prix élevé. Ceci explique l'intérêt des malades pour les plantes locales facilement accessibles et à moindre coût.

Parmi ces plantes, figure *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) déjà utilisé par de nombreux drépanocytaires maliens, mais dont l'efficacité réelle est mal cernée. C'est pourquoi nous avons voulu conduire un essai clinique sur l'extrait de cette plante pour des actions de santé publique au près de notre population de drépanocytaires.

L'étude menée ici, montre que l'extrait hydro-alcoolique de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) a une activité anti-falcémianté in vitro. Son efficacité in vivo par rapport au kétoprofène n'est apparente que pour les crises algiques modérées chez le drépanocytaire. Ces données permettent de conclure que l'activité anti-falcémianté de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) s'exerce surtout au niveau de la prévention du phénomène de falciformation et que l'extrait de cette plante peut être intéressante en traitement de prévention des crises douloureuses du drépanocytaire.

Ce travail ne nous permet pas cependant de savoir si les molécules anti-falcémiantes de cet extrait ont des propriétés de se lier à l'hémoglobine comme c'est le cas pour certaines molécules responsables d'une inhibition du phénomène initial de la falciformation ; la polymérisation du pigment protéique. Nous ne savons pas non plus l'efficacité d'un traitement associé et cet extrait à d'autres molécules d'action différente. C'est pourquoi nous préconisons les recommandations suivantes :

- Le recours à des antalgiques d'action rapide et plus puissante pour les crises drépanocytaires graves avec niveau d'intensité au moins égal à 3.

- Le développement des recherches sur la cinétique de l'extrait de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) in vivo et sur ses interactions éventuelles avec l'hémoglobine.

- La conduite d'études contrôlées sur l'efficacité de l'extrait de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) dans la prévention des crises douloureuses ostéo-articulaires des drépanocytaires et des complications de la maladie .

- la conduite d'essais contrôlés sur l'intérêt de l'association de l'extrait de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) à d'autres antalgiques de mécanisme d'action différent dans le traitement de la crise douloureuse ostéo-articulaire du drépanocytaire.

- La mise à la disposition des praticiens d'une forme galénique administrable dès la naissance.

Chapitre VIII :

Résumé

(19). L'intégrité de la membrane du globule rouge chez le drépanocytaire est donc fondamentale pour le maintien d'un taux bas de drépanocytes irréversibles dans le sang périphérique.

Plusieurs molécules ont été utilisées pour leur propriété de liaison avec la membrane cellulaire. Ces molécules modifieraient les mouvements des cations responsables d'une entrée massive d'eau dans la cellule dont la conséquence est un gonflement cellulaire et une diminution de la concentration corpusculaire en hémoglobine (6,39,48) ou fluidifieraient la bicouche lipidique (12). Les données physico-chimiques connues de l'extrait de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) autorisent à penser que son action anti-falcémiant s'exerce à l'instar de ces molécules au niveau de la membrane de la cellule. Mais il n'existe pas d'études sur la cinétique intracellulaire des molécules à activités anti-falcémiantes de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam). On ne peut donc pas exclure une activité inhibitrice par liaison avec l'hémoglobine comme cela est le cas pour certaines molécules rapportées par plusieurs auteurs (1, 9, 28, 46). Aucun travail à notre connaissance n'explore cet aspect du problème. Les données obtenues par certaines études laissent penser en tout cas que l'activité de *Fagara xanthoxyloïdes* (Lam) s'exerce plus au niveau du globule rouge que du vaisseau (38).

Nom : Demdélé

Prénom : Awa

Titre de la thèse :

"Etude de l'efficacité de Fagara xanthoxyloides (Lam) dans le traitement de la crise douloureuse ostéo-articulaire du drépanocytaire au Mali."

Année : 1994-1995

Ville de soutenance : Bamako.

Pays d'origine : Mali.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie.

Secteurs d'intérêt : Hématologie - Pédiatrie - Santé publique - Médecine traditionnelle.

Résumé :

Dans le cadre d'un essai ouvert, nous avons comparé l'efficacité d'un extrait hydroalcoolique de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) à celle du Kétoprofène sur la crise douloureuse ostéo-articulaire chez les drépanocytaires âgés de 9mois à 22ans de Decembre 1992 à Decembre 1994.

Chez les malades en crise douloureuse sévère, il n'apparait pas de différence significative entre les 2 médicaments au bout de 72 heures. Chez les malades en crise douloureuse modérée par contre, l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) a une activité significativement supérieure à celle du Kétoprofène.

Ces résultats suggèrent que l'extrait de Fagara xanthoxyloïdes (Lam) pourrait être intéressant dans la prévention des crises douloureuses osté-articulaires du drépanocytaire mais également des complications de la maladie.

(5) Mots clés : Fagara xanthoxyloïdes (Lam), Kétoprofène, drépanocytose, crises douloureuses ostéo-articulaires, Mali.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- **Acharya A.S, Manning J.M.** - Reactivity of the amino-groups of the carbo monoxyhemoglobin S with glyceraldehyde. *J. Biol. chem* 1980 ; 255 : 1406-1412.
- 2- **Adjanohoun E. et Coll .** -Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali (1979); au Togo (1984); au Congo (1985); au Bénin (1986); OUA/CSTR, Pharmacopée africaine édition 1; 1985 , 257.
- 3- **Allan D, Limbrick AR, Thomas P, Westerman MP.** -Microvesicles from sickle erythrocytes and their relation to irreversible sickling. *Br J. Haematol.* 1981 ; 47 : 383-390.
- 4- **Aubréville A.** - Flore forrestière de la Côte d'Ivoire, Masson et Cie Paris, 1936 ; 2 : 84 p
- 5- **Begue P.** - La maladie drépanocytaire. Sandoz édition, 1984 Paris : 102-104.
- 6 - **Berfowitz L.R, Orringer E.P.** - Effect of cetiedil, an in vitro antisickling agent, on erythrocyte membrane cation perma bility *J Clin. Invest.*, 1981 ; 68 . 1215-1220.
- 7- **Bertles (J F), Milner (P F A) .** - Irreversibly sickled erythrocytes : a consequence of the heterogenons distribution of hemoglobin types in sickle cell anemia. *J. clin. Invest.* 1968 , 47 : 1731-1741.
- 8 - **Calderwood J.M, Fish F.** - Screening for tertiary and quaternary alkaloids in some african *Fagara* species. *J. Pharm Pharmacology.*, Londres, 1966 ; 18 :. 119 S-125 S.
- 9- **Cerami (A), Manning (J M) .** -Potassium cyanate as an inhibitor of the sickling of erythrocytes in vitro *Proc. nat Acad Sci. Wash.* 1971 ; 68 : 1180.
- 10 - **Crété. P.** - *Precis de botanique*, tome 2, 1965, 429 p
- 11- **Daland G A, Castle W B.** - A simple and rapid method for demonstrating sickling of the red blood cells. The use of reducing agents. *J. Lab. clin. Med,* 1948 ; 33 : 1082.
- 12- **Davelose D, Sablayrolles M, Molle D, Leterrier F.** - Interaction of ticlopidine with the erythrocyte membrane. *Biochem. Pharmacol* ; 1982 ; 31 : 3949-3954.

13- El Saïd F., Fadulu S.O, Kuye J.OO., Sofowara E.A. : -Native cures in Nigeria (II). The antimicrobial properties of the luffered extracts of chewing sticks. *Lloydia*, 1971 ; 34 : 171.

14- Emmel V.E. : - A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with sickle shaped red blood corpuscles. *Arch.Intern. med.*, 1917 ; 20 : 586-598.

15- ENMP : - Evaluation sanitaire des cercles de Kéniéba, Bafoulabé et Kita (Mali): Rapport final, 1984 ; 376p.

16- Eshiet I.T, Taylor D.A.H: -Extracives from *Fagara xanthoxyloides*-Chemical comm., 1966 ; 14 : 467.

17- Fadulu S.O : -The antibacterial properties of the buffer extracts of chewing sticks used in Nigeria. *Planta. med.*, 1975 ; 27 : 122.

18- Giacosa P., Morari : -Sopra due novi alcaloïdi estratti della corteccia di *xanthoxylon senegalense* (artar root). *Gazz.chim, ital.*, 1887 ; 17 : 362-367.

19- Glader B E, Nathan D G : -Cation permeability alterations during sickling : relationship to cation composition and cellular hydration of irreversibly sickled cells. *Blood*, 1978 ; 51 : 983-989.

20- Haïdara Abdoulaye Chirfi : -Les hémoglobinopathies de l'habitat rural de la région de Bamako. Thèse méd. Bamako, 1978 ; 21 : 80 p.

21- Headings V.E., Abus., Aniaire S., Castro : -Characteristics of the antisickling activity of *Fagara xanthoxyloïdes* extract proceeding of the international conference on sickle cell disease: a world problem. Howard University. Centre for sickle cell disease, 1976 ; 163.

22- Heguaner R. : -Chemotaxonomie der pflanzen. Ed. Birknanser Verlag, Basel and stuttgart, 1969 ; 3.

23- Herrick J.B : -Peculiar elongated and sickle-shaped red corpuscles in a case of severe anaemia. *Arch. Inter. Med.*, 1910 ; 6 : 517-521.

- 24- **Honig G.R, Vida L.N, Ferenc C.** : -Effects in vitro of the proposed antisickling agent D.B.A. *Nature*, 1978 ; 272 : 833.
- 25- **Isacs Sodeye W.A, Sofowora E.A, Williams A O., Marquis V O. , Adekunle A., Anderson C O.** - Extracts of *Fagara xanthoxyloides* root in sickle cell anaemia. Toxicology and preliminary clinical trials. *Acta haematol.*, 1975 ; 33 : 158.
- 26- **Kaine W.N** : -Morbidity of homozygous sickle cell anaemia in Nigeria children. *J. Trop pediatr.*, 1983 ; 29 : 104-111.
- 27- **Kerliaro J., Adam J.G:** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot frères, Paris, 1973.
- 28- **Krans L.M., Krans A P.** - Carbamyl phosphate mediated inhibition of the sickling of erythrocytes in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1971 ; 44 : 1351-1357.
- 29- **Labie D., Wajcman H.** - Aspects actuels de la biologie de la drépanocytose. *Ann. Méd. Intern. Paris*, 1981 ; 132 : 568-594.
- 30- **Le.Hir A.** -Abrégé de pharmacie galénique 5ème édition Masson. 1986 ; 248-249.
- 31- **Lubin B, Chin D, Bastacky J, Roclofsen B, Van Decnen C C H.** -Abnormalities in membrane phospholipid organization in sickled erythrocytes. *J. clin. Invest.* 1981 ; 67 : 1643-1649.
- 32- **Lux S.E, John K M, Karnovsky M J.** - Irreversible deformation of the spectrin-actin lattice in irreversibly sickled cells. *J. clin. Invest.* 1976 ; 58 : 955-963.
- 33- **Maïga M.F** : -Aspects épidémiologiques, biologiques et étiologiques des anémies au Mali, 1981, Thèse Med., 9, 83 p.
- 34- **Messmer W.M, Tinwam, Fong H.H.S, Bevelle C., Farnsworth N.R, Abraham D.J, Troganek J.** : -Fagaronine, a new tumor inhibitor isolated from *Fagara xanthoxyloides* (Rutaceae). *J. pharm.*, 1972 ; 61 : 1958.
- 35- **Neel J.V:** The clinical detection of genetic carriers of inherited disease. *Am. J. Hyg.* 1926 : 115-153.

- 36- Odebiyi O.O., Sofowora E.A. :** -Antimicrobial alkaloids from a Nigeria chewing strick (*Fagara xanthoxyloides*). *Planta med.*, 1979 ; 36 : 204.
- 37- Orsini. A., Vovan L. :** - Hematologie Pediatrique Flammarion Medecine- Sciences, 1982 ; 9 : 448-456.
- 38- Ouattara A., Guisson I. P., Sawadogo A, Sawadogo M.:** Etude comparée du traitement de la crise drépanocytaire par une représentation galénique moderne de deux plantes médicinales (*Fagara xanthoxyloides* Lam et *calotropis procera* ait) et un médicament usuel de référence (dihydroergotoxine= hydergine) chez les enfants de 5 à 15 ans à l'hôpital de Ouagadougou. *Pharmaciens d'Afrique*, 1992 ; 68 : 19-26.
- 39- Palek J., Liu A, Liu D, Snyder L M, Fortier N L, Njoku G, Kiernan F, Funk D, Crusberg T.** -Effect of procaine Hcl on ATP : calcium-dependent alterations in red cell shape and deformability . *Blood*, 1977 ; 50 : 155-164.
- 40- Palmer K.H.:** Recherches sur quelques rutacées africaines à alcaloïdes du genre *paon* . Thèse ph. Paris. 1956
- 41- Paris R., Moyses-Mignon A. :** -Etude préliminaire de *Fagara xanthoxyloides* Lam. *Ann pharm. Franc.*, 1947 ; 5 : 410-420.
- 42- Pauling L., Itano H.A., Singer S.J., Wells I.C. :** -Sickle cell anemia as a hemoglobin disease. *Science*, 1949 ; 110 : 543-548.
- 43- Pasvol G. :** -The interaction between sickle Haemoglobin and the malarial parasite *plasmodium falciparum* *Trans. R. Soc. trop.med. Hyg.*, 74, 701-705, 1980.
- 44- Pasvol G., Weatherall D.J., Wilson R.J.M.:** Cellular mechanism for the protective effect of haemoglobine S against *P. faciliparum* malaria. *Nature* 274, 701-7703, 1978.
- 45- Priess H. -** Wurzelrinde von *Fagara xanthoxyloides* Lam. *Notizblattd Kön. botan. Gartensu. Mus. Zu Berlin*, 1909 ; 5 : 99 p
- 46- Roth E F, Arnone A Bookchin R M, Nagel R L.** -Chemical modification of human hemoglobin by antisickling concentration of iritrogen mustard. *Blood*, 1981 ; 58 : 300-308.

- 47. Sangaré A. :** -Essai thérapeutiques du ketoprofène (Profenid) dans le traitement des crises douloureuses de la drépanocytose. Méd. Afr. Noire, 1990, 37 : 1-7.
- 48- Schmidt W.F., Asakura T., Schwartz E. :** - Effect of cetylidil on cation and water movement in erythrocytes. J. clin. Invest., 1982 ; 69 : 589-594.
- 49- Shen (S.C), Fleming (E.M), Castle (W.B).** -Irreversibly sickled erythrocytes : their production in vitro. Blood, 1949 ; 4 : 498.
- 50- Sofowora E.A., Isacs W.A. :** -Reversal of sickling and crenation in erythrocytes by the root extract of *Fagara xanthoxyloides*. L. Loydia, 1971 ; 34 : 383.
- 51- Sofowora E.A., Isacs W.A., Ogunkoya L.D. :** - Isolation and characterisation of an antisickling agent from *Fagara xanthoxyloides* root. Loydia, 1975 ; 38 : 169.
- 52- Stamm I.:** - Au sujet d'une rutacée utilisée en médecine traditionnelle ouest-africaine: *Fagara xanthoxyloides*. Thèse ph. Strasbourg, 1984 ; 84 : 314.
- 53- Thoms H. -** Ueber die konstitution dies xanthotoxins und seine bezie hungen zum bergapten. Ber. d. chemm. Ges., 1911 ; 44 : 3325.
- 54- Thoms H. et Priess H.:** - Ueber die chemischen Bestandteile von der Eingeboren in Togo medizinisch verwendeten wurzelrinde und der Frucht von *Fagara xanthoxyloides*. Chem. Zeitg., 1910; 34: 1279.
- 55- Torto F.G. Sefcovic P., Dadson D.A. -** Medecinal plants of Ghana : identity of alcaloid from *Fagara xanthoxyloides*. Tetrahedron lettet, 1966; 2: 181.
- 56- Torto G. Sefcovic P., Dadson D.A., Menssah J.A. -** Alcaloides from *Fagara*. Species. Ghana J. sciences; 1969; 9:3-8.
- 57- Traoré F.B. -** Aspects socio-économiques et cliniques de la drépanocytose chez l'enfant à Bamako. Thèse Méd. Bamako, 1993; 70: 52p
- 58- Traoré I. -** Lésion osseuse de la drépanocytose, étude radiologique
Thèse Méd. Angers, 1974; 35 p.

59- Weatherall D.J., Pasvol G. - The red cell and the malarial parasite. *Br J Haematol* 1980; 46; 165-170.

Annexe

N° de dossier
Groupe :

Fiche d'Identification

NOM Age

--	--

 ans

PRENOM Poids

--	--

 kg

SEXE M F Taille

--	--

 cm

Ethnie Profession

Description de l'épisode actuel

Début de la crise date

--	--

--	--

--	--	--	--

 heure

--	--

 h

Admission à l'hôpital date

--	--

--	--

--	--	--	--

 heure

--	--

 h

Service N° lit

Symptomatologie à l'admission :

	OUI	NON
Douleurs ostéo-articulaires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Douleurs abdominales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ictère	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Splénomégalie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Répatomégalie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ostéite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nécrose de la hanche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Priapisme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Traitement associé

	QUANTITES	DEBUT	FIN
- SG			
- SS			
Autres			

2) Autre traitement

	Classe	Doses	Voies	Durée
Antibiotique				
Antalgiques				
Antipaludéens				
Antipyrétiques				
Autres traitements associés				

Serment de Galien :

Je jure, en présence des Maîtres de la faculté, des conseillers, de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement, d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la maladie et la dignité humaine ;

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

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

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