

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de physico-chimie
Spécialité Génétique Fondamentale et Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Master

Thème

**Evaluation de l'activité NO-synthase
dans le tissu gastrique de souris
ulcérées**

Présenté par :

BOUYAHIA Amina & ABBOUD Yasmina

Soutenu le : **07 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme BERBOUCHA-RAHMANI M.	MAA	Présidente
Mme BAHLOUL-CHERAFT N.	MAA	Promotrice
Mme DEBBACHE-BENAIDA N.	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant pour nous avoir donné la force, le courage et la volonté de mener à bien et à terme notre travail.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de génétique de la faculté SNV du département BPC sous l'encadrement de Mme BAHLOUL -CHERAFT N à laquelle nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de nous encadrer mais aussi pour ses précieux conseils, son aide et ses remarques.

Un grand merci à Mme YOUS F pour sa disponibilité tout le long de notre travail, son aide précieuse, sa sagesse et sa gentillesse.

Nos sincères considérations et remerciements aux membres du jury Mme DEBBACHE et Mme RAHMANI : qui nous font l'honneur d'évaluer et d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier tout particulièrement Mr ATMANI et Mme ATMANI de nous avoir permis de travailler au sein de leur laboratoire, et pour leur gentillesse et leur soutien tout au long de la réalisation de ce travail, sans oublier tous les membres du labo de génétique.

Nous remercions l'ensemble des enseignants de la faculté SNV et du département BPC pour leur dévouement à nous transmettre le savoir et la connaissance.

Nous remercions aussi tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, nos familles pour la réalisation de notre travail.

Dédicace

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance
À ma tendre mère pour son soutien, son encouragement permanent et ses prières. Que Dieu
te protège.*

*À la mémoire de mon père, qui est et qui demeurera dans mon cœur à tout jamais.
Que Dieu l'accueille en son vaste paradis.*

À mon cher mari, pour son appui et son encouragement durant ces deux années.

À mes enfants adorés, Walid, Rayan et Lyna en vous souhaitant beaucoup de réussite

À mes chers frères et à toute ma famille pour leur soutien moral.

À toutes mes amies surtout mon binôme Yasmina

Amina

*À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste
travail que je dédie :*

*À tous ceux que j'aime, aux deux être les plus chers que j'aime du fond du cœur: mon père et
ma mère*

Pour leur soutien et leurs encouragements « que dieu tout puissant les protège et les garde »

À mes deux sœurs : Fazia et Lydia, a mon petit frère : Yanis

Pour leur aide, leur présence et leur soutien

À ma meilleure copine, à ma sœur Kahina

Pour son soutien, ses conseils et son aide malgré la distance qui nous sépare

À tout mes amis surtout :

*Nouha, Katia et Siham à qui je tiens beaucoup, qui m'ont accompagné et encouragé durant
ces années*

*À la personne qui m'a soutenu et a toujours été à mes coté, à la personne qui est chère à mon
cœur...*

À mon cher binôme Amina

À tous ceux qui ont contribué de pré ou de loin à la réalisation de ce travail

Yasmina

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1 Estomac	2
--------------------------	----------

I-1-1 Anatomie et histologie de l'estomac	2
---	---

I-1-2 Physiologie de la sécrétion gastrique	3
---	---

I-1-2-1 Mécanisme de sécrétion gastrique.....	3
---	---

I-1-2-2 Régulation de la sécrétion gastrique.....	4
---	---

I-1-3 Mécanisme de défense de la muqueuse gastrique.....	5
--	---

I-2 Ulcère gastrique	5
-----------------------------------	----------

I-2-1 Définition de l'ulcère gastroduodéal	5
--	---

I-2-2 Réaction inflammatoire	6
------------------------------------	---

I-2-2-1 Monoxyde d'azote (NO [•]).....	7
--	---

I-2-3 Physiopathologie de l'ulcère gastrique.....	9
---	---

I-2-3-1 Facteurs agressifs de la muqueuse gastrique.....	10
--	----

I-2-4 Thérapie de l'ulcère gastrique.....	10
---	----

I-3 Phytothérapie de l'ulcère gastrique	10
--	-----------

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II-1 Matériel.....	11
---------------------------	-----------

II-1-1 Matériel d'origine végétal	11
---	----

II-1-1-1 Curcumine.....	11
-------------------------	----

II-1-2 Espèce d'origine animal et condition d'élevage.....	11
--	----

II-1-3 Matériel de laboratoire	12
--------------------------------------	----

II-2 Méthodes.....	13
---------------------------	-----------

II-2-1 Model d'ulcération.....	13
--------------------------------	----

II-2-1-1 Induction de l'ulcère par l'éthanol.....	13
---	----

II-2-2 Evaluation de l'activité anti-ulcère	15
---	----

II-2-3 Evaluation de l'activité enzymatique de la NO-synthase.....	15
--	----

II-2-3-1 Dosage du monoxyde d'azote (NO [•]).....	15
---	----

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III-1 Résultats et discussion	17
--	-----------

III-1-1 Observation macroscopique des lésions	17
---	----

III-1-2 Evaluation de l'activité anti-ulcère.....	21
---	----

III-1-3 Evaluation de l'activité enzymatique de la NO-synthase	23
--	----

III-1-3-1 Dosage du monoxyde d'azote (NO [•]).....	23
--	----

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	27
--	-----------

Références bibliographiques.....	28
----------------------------------	----

Liste des abréviations

- AINS** : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.
- AMPc** : Adénosine mono phosphate cyclique.
- ATPase** : Adénosine triphosphatase.
- Ca²⁺** : ions de calcium.
- CCL-1** : Chimiokine (C-C motif) ligand 1.
- CMC** : Carboxyméthyl cellulose.
- COX-2** : Cyclooxygénase-2.
- ECL** : Enterochromaffin-like cells.
- eNOS** : Endothelial Nitric Oxide Synthase.
- ERN** : Espèce Réactif de l'Azote.
- ERO** : Espèce Réactif de l'Oxygène.
- FAD** : Flavine adénine dinucléotide.
- FMN** : Flavine mononucléotide.
- GMPc** : Guanosine monophosphate cyclique.
- GTP** : Guanosine triphosphate.
- H⁺** : Ions d'hydrogène.
- H₂CO₃** : bicarbonate.
- HCl** : Acide Chlorhydrique.
- ICAM-1** : Molécule d'adhésion intercellulaire.
- IL-1B**: Interleukine-1β.
- IL-6** : Interleukine-6.
- IL-8** : Interleukine-8.
- IL-17** : Interleukine-17.
- iNOS** : Inductible Nitric Oxide Synthase.
- K⁺** : Ions de potassium.
- LOX** : Lipoxigenase.
- mNOS** : Macrophagic Nitric Oxide Synthase.
- N₂O₃** : Trioxyde d'azote.
- NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
- NEDD** : N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride.
- NF-κB** : Facteur Nucléaire kappa B.

NMRI : Naval Medical Research Institu.

nNOS : neuronal Nitric Oxide Synthase.

NO^{*} : Oxyde Nitrique.

NO₂ : Dioxyde d'azote.

NO₂⁻ : Nitrite.

NOS : Oxyde Nitrique Synthase.

O₂⁻ : Anion superoxyde.

ONOO⁻ : Peroxinitrite.

PBS : Tampon Phosphate.

PGE1 : Prostaglandine E1.

PI3K : Phosphatidylinositol-3 Kinase.

PN : Polynucléaire Neutrophile.

Hsp90 : Protéine de choc thermique.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor α .

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie macroscopique interne de l'estomac.....	2
Figure 2 : Fonction sécrétoire de la muqueuse gastrique.....	3
Figure 3 : Mécanisme de la sécrétion gastrique	4
Figure 4 : Formation de l'ulcère gastrique.....	6
Figure 5 : Présentation schématique de NOS.....	8
Figure 6 : Réaction de synthèse de l'oxyde nitrique	8
Figure 7 : Synthèse et voie de signalisation du NO [•]	9
Figure 8 : Rhizome de la plante curcuma, la curcumine (poudre) et Structure chimique de la curcumine.....	11
Figure 9 : Elevage des souris au sein de l'animalerie.....	12
Figure 10 : Gavage intra-gastrique	13
Figure 11 : Anesthésie, dislocation cervicale, dissection et prélèvement de l'estomac	14
Figure 12 : observation macroscopique des estomacs de différents échantillons (éthanol et témoin).....	18
Figure 13 : Observation macroscopique des estomacs de différents échantillons traités avec de la curcumine	19
Figure 14 : Observation macroscopique d'un estomac traité par le misoprostol.....	20
Figure 15 : Représentation graphique du pourcentage d'ulcération.....	21
Figure 16 : Représentation graphique du pourcentage d'inhibition d'ulcération.....	22
Figure 17 : Représentation en histogramme des quantités des nitrites.....	24

Liste des tableaux

Tableau I : Administration des différentes solutions	14
Tableau II : Pourcentage d'ulcération et d'inhibition de l'ulcère pour les différents groupes	22

Introduction

L'estomac est un organe digestif qui joue un rôle important dans la physiologie humaine. Malgré l'attaque constante de sa muqueuse par des agents nocifs, son intégrité est maintenue par un système complexe qui fournit une défense et une réparation muqueuse. Dans certaines circonstances, ces mécanismes protecteurs peuvent s'avérer insuffisants, ce qui entraîne la formation d'un ulcère gastrique (Stevens et Lowe, 1997 ; Braunwald *et al.*, 2002).

L'ulcère gastrique est une pathologie courante qui affecte plusieurs personnes dans le monde. Le développement de cette maladie est complexe et multifactorielle résultant principalement d'un déséquilibre entre les facteurs offensifs et les facteurs protecteurs de la barrière muqueuse. Les facteurs agressifs comprennent l'HCl gastrique, les radicaux libres, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, *H.pylori* et l'éthanol. En effet, la consommation d'alcool a été communément associée à l'inflammation muqueuse provoquant la libération des médiateurs vasodilatateurs, notamment le facteur relaxant dérivé de l'endothélium identifié comme le monoxyde d'azote (NO^{*}) (Katary et Salahuddin, 2017).

Le NO^{*} dilate le sang des vaisseaux ce qui augmente le flux sanguin. Le monoxyde d'azote induit la prolifération cellulaire de la muqueuse gastrique et conduit à la formation des tissus de granulation (Ali *et al.*, 2017).

La thérapie de l'ulcère gastrique a pour but de lutter contre la douleur due à une acidité gastrique trop forte ou contre les lésions de l'estomac. Néanmoins, ces traitements montrent une efficacité limitée et des effets secondaires parfois graves. Cela a poussé à la recherche continue des nouvelles alternatives thérapeutiques à partir de ressources synthétiques et naturelles. Un dérivé alimentaire indien (curcumine), a été largement utilisé dans le traitement de plusieurs maladies. Il a été suggéré que la curcumine pourrait réduire le risque de troubles inflammatoires, tels que le cancer et l'ulcère. Ces effets biologiques sont attribués à ses activités anti-inflammatoires et antioxydantes (Yadav *et al.*, 2013).

A cet effet, le but de notre étude est d'évaluer l'effet anti-ulcère de la curcumine sur un modèle de souris traitées avec un agent ulcérogène (éthanol), par la mesure de l'activité enzymatique de la NO-synthase, via le dosage du monoxyde d'azote (NO^{*}).

Partie Bibliographique

I-1 Estomac

I-1-1 Anatomie et histologie de l'estomac

L'estomac en forme de J majuscule, est la portion la plus dilatée du tube digestif, sa longueur est de 25 cm et sa largeur est de 12 cm. Il a une contenance d'une capacité de 1 à 1,5 litres. Sa surface interne est munie de plis longitudinaux, qui jouent un rôle important dans la distension de la paroi au cours du repas (kamina, 2009). L'estomac est divisé en cinq régions (le cardia, le fundus, le corps, l'antré et le pylore). Fonctionnellement, il est constitué de deux parties : proximale et distale. La partie proximale (cardia, fundus et un tiers du corps) agit comme un réservoir et la partie distale (deux tiers du corps, antré et le pylore) mixe le contenu de l'estomac avant de le délivrer au duodénum (**figure 1**) (McDonald et MacFarlane, 2018).

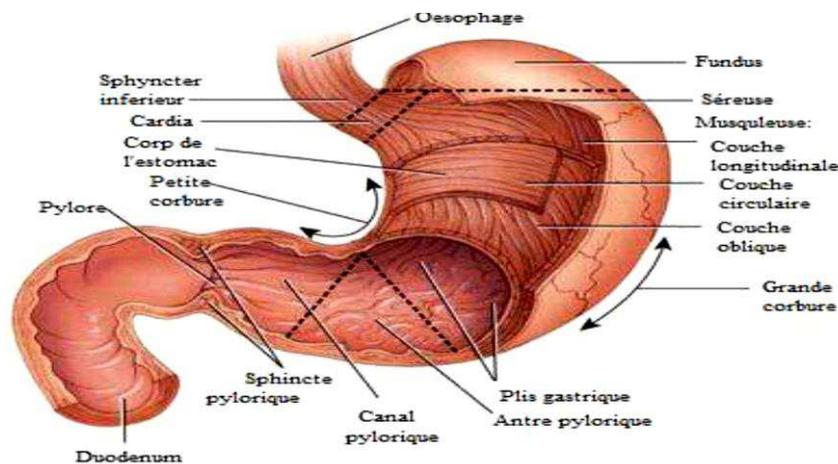


Figure 1 : Anatomie macroscopique interne de l'estomac (Tortora et Derrickson, 2010).

La paroi de l'estomac est composée de quatre tuniques : la muqueuse (épithélium, choriion et musculaire muqueuse), la sous muqueuse, la musculuse et la séreuse (Oberdiac et Mineur, 2010).

- La muqueuse est le revêtement interne de l'estomac, composée d'une surface, des cryptes et des glandes. Il existe trois types principaux de muqueuses gastriques à savoir, la muqueuse de type cardinal, qui comporte des glandes sécrétant le mucus, la muqueuse fundique, contient des glandes fundiques qui sont constituées essentiellement de cellules pariétales (oxyntiques ou bordantes) qui sécrètent l'HCl et le facteur intrinsèque, ainsi que les cellules principales qui sécrètent le pepsinogène, les cellules neuroendocrines qui produisent l'histamine appelées aussi les cellules Enterochromaffine-like (ECL) et la muqueuse de type pylorique comporte des glandes pyloriques qui sont constituées de cellules qui sécrètent le mucus et de cellules

endocrines qui sécrètent la gastrine ainsi que quelques autres cellules neuroendocrines tels que les cellules D qui sécrètent la somatostatine (Braunwald et *al.*, 2002).

- La sous-muqueuse, dont le rôle est de recouvrir la muqueuse. Elle est composée de tissu conjonctif qui comprend des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des cellules nerveuses et des fibres (Marieb, 2008).

- La musculuse, c'est le muscle principal de l'estomac qui possède trois couches de muscles : une couche longitudinale externe, une couche circulaire moyenne et une couche oblique interne. Elle recouvre la sous muqueuse.

- La séreuse, est la tunique externe de la paroi, qui se compose d'épithélium pavimenteux simple (mésothélium), et de tissus conjonctifs aréolaires (**Figure 2**) (Tortora et Derrickson, 2007).

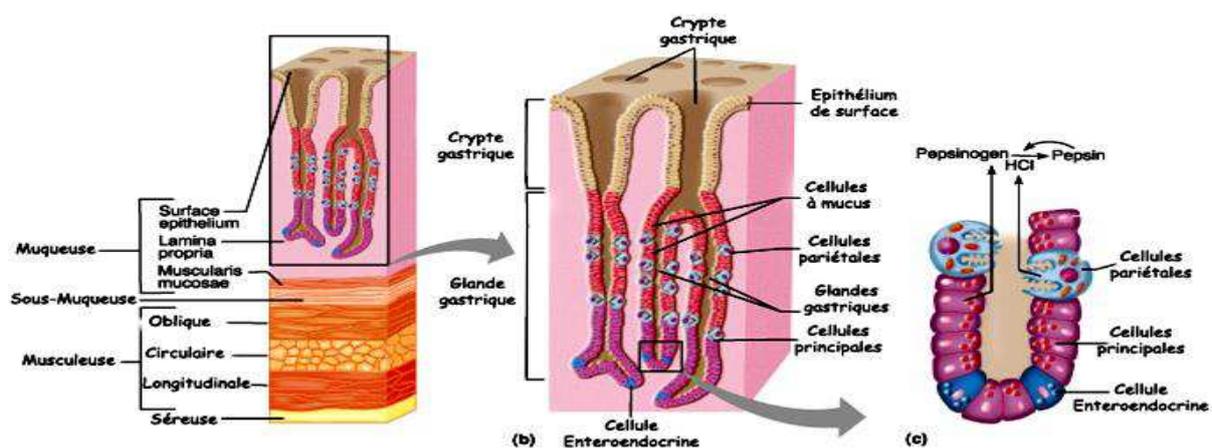


Figure 2 : Fonction sécrétoire de la muqueuse gastrique (Marieb et Hoen 2010).

I-1-2 Physiologie de la sécrétion gastrique

Dans des conditions normales, l'estomac produit approximativement 2 à 3 litres de suc gastrique par jour, contenant des composants minéraux (l'acide chlorhydrique (HCl) et les bicarbonates) et des composants organiques (le mucus, la pepsine et le facteur intrinsèque) (Braunwald et *al.*, 2002 ; Tortora et Derrickson, 2007).

I-1-2-1 Mécanisme de sécrétion gastrique

La cellule pariétale sécrétant l'HCl est localisée dans la glande oxyntique, adjacente à d'autres éléments cellulaires (les cellules ECL et cellules D) importants dans le processus de sécrétion acide gastrique. Cette cellule exprime des récepteurs pour l'histamine, la gastrine et

acétylcholine. Chacun de ces récepteurs est lié à une protéine G, est à sept domaines transmembranaires. La liaison de l'histamine à son récepteur conduit à l'activation de l'adénylate cyclase et à une augmentation de l'AMP cyclique. Chacune de ces voies régule une cascade de kinases qui contrôlent la pompe à protons H^+ , K^+ ATPase. La sécrétion d'HCl est assurée par cette pompe, elle permet de concentrer les ions H^+ entre l'intérieur (pH voisin de 7) et l'extérieur (pH entre 0.8 et 1) de la cellule pariétale. La sécrétion concomitante de chlore est permise par l'ouverture de canaux ionique perméable au chlore et au potassium qui amorce l'action des pompe à H^+/K^+ (**Figure 3**) (Braunwald *et al.*, 2002 ; Beaujerie et Sokol, 2014).

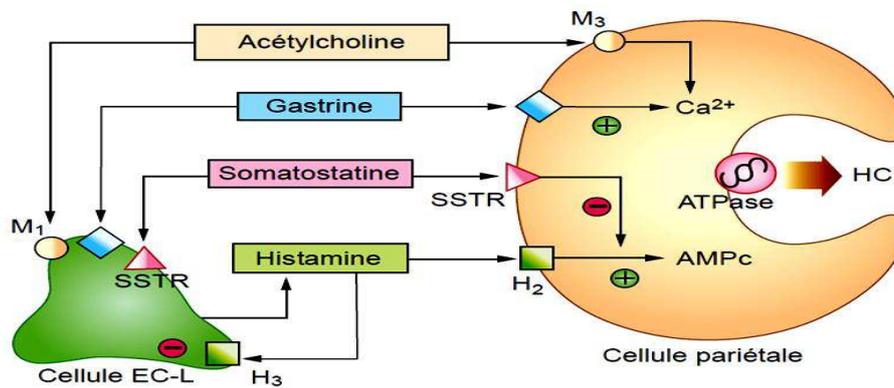


Figure 3 : Mécanisme de la sécrétion gastrique (Bado et Sobhani, 2011).

I-1-2-2 Régulation de la sécrétion gastrique

L'acide chlorhydrique et le pepsinogène sont les deux principaux produits de la sécrétion gastrique. La production basale d'acide suit un schéma circadien. La sécrétion gastrique acide stimulée suit trois phases selon le site d'origine du signal. La phase céphalique (la vue, l'odeur et le goût des aliments), la phase gastrique (activée une fois que les aliments entrent dans l'estomac) et la phase intestinale (initiée lorsque les aliments entrent dans l'intestin). Par ailleurs, la sécrétion d'acide gastrique est un processus dynamique régulé par un système central et périphérique (Zhang *et al.*, 2016 ; McDonald et MacFarlane, 2018).

- **Les stimulateurs de la sécrétion gastrique**

Les trois stimulants de la sécrétion acide des cellules pariétales sont la gastrine, l'histamine et l'acétylcholine. La gastrine est produite par les cellules G agit directement sur les cellules pariétales, via la circulation sanguine et indirectement via la sécrétion d'histamine sur la production d'acide gastrique. L'histamine produite par les cellules Enterochromaffine-like (ECL) et agit par voie paracrine, en se fixant sur son récepteur H_2 conduisant à l'activation

de l'adénylate cyclase. L'acétylcholine quand à lui est libéré par la stimulation du nerf vague, elle agit directement sur les cellules pariétales (récepteurs M3) et stimule indirectement les cellules ECL et Cellules G (Braunwald et *al.*, 2002 ; Abdel-Salam, 2016).

- **Les inhibiteurs de la sécrétion gastrique**

Il existe des inhibiteurs de la production gastrique d'acide à savoir, la somatostatine, la sécrétine et les prostaglandines. La somatostatine est libérée par les cellules D stimulée par l'augmentation de la concentration en ions H^+ dans la cavité gastrique en réponse à l'HCl, elle est le principal agent réduisant la sécrétion d'acide gastrique par des mécanismes à la fois directes (cellules pariétales) et indirectes (diminution de la libération d'histamine et de gastrine). La sécrétine participe également à l'inhibition de la sécrétion pariétale acide. Elle est libérée dans la circulation sanguine, en réponse à l'arrivée de nutriments dans le duodénum) et les prostaglandines sont synthétisées en continue dans l'estomac comme inhibiteur de la sécrétion d'HCl, mais aussi elles favorisent la production de mucus (Braunwald et *al.*, 2002 ; Beaugerie et Sokol, 2014).

I-1-3 Mécanisme de défense de la muqueuse gastrique

La barrière mucus-bicarbonate est la première ligne de défense contre les sécrétions acides, les enzymes digestifs ainsi que les agressions exogènes. Les cellules épithéliales de la muqueuse assurent également la protection de l'intégrité de la barrière gastrique au coté des prostaglandines. Le flux sanguin muqueux permet à son tour l'oxygénation muqueuse et l'apport de bases, il est régulé par de nombreux facteurs et mécanismes physiologiques, notamment les fibres C afférentes sensibles à la capsaïcine les produits de l'activité cyclooxygénase le monoxyde d'azote (NO^*) (Marieb et Hoehn, 2010 ; Aziz et Bonnet, 2012).

I- 2 Ulcère gastrique

I-2-1 Définition de l'ulcère gastroduodéal

L'ulcère est définit comme une interruption de l'intégrité muqueuse de l'estomac ou du duodénum, conduisant à une excavation locale due à une inflammation active (**Figure 4**) (Braunwald et *al.*, 2002).

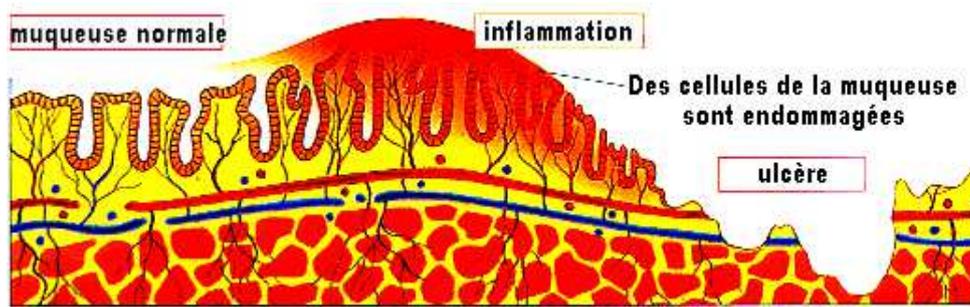


Figure 4 : Formation de l'ulcère gastrique (Anonyme 1).

I-2-2 Réaction inflammatoire

L'inflammation est considérée comme une réaction complexe dans le tissu vivant vascularisé, en réponse à des stimuli exogènes et endogènes, dans le but d'éliminer l'agent pathogène, faisant intervenir certaines cellules de l'organisme telles que les macrophages, ou des protéines circulantes. Il existe deux types d'inflammation, inflammation aiguë et inflammation chronique (Jin et *al.*, 2018).

- **Phases de l'inflammation**

L'inflammation évolue en trois phases ; la première phase est vasculaire consiste en une vasodilatation artériolaire, capillaire et veinulaire, ce qui conduit à une augmentation de l'apport sanguin (hyperémie) associée à un ralentissement de la circulation sanguine, permettant le recrutement des molécules immunitaires vers le site de l'inflammation. La deuxième phase est cellulaire, elle correspond à l'afflux extravasculaire de leucocytes. Elle débute avec les polynucléaires neutrophiles (PN) suivis dans un second temps par les macrophages et les plaquettes qui se rassemblent au site de l'inflammation, conduisant à une phagocytose et une destruction de l'agent pathogène et une dernière phase de réparation, au cours de laquelle l'apoptose des polynucléaires jouent un rôle important dans la terminaison de l'inflammation (Pasquier, 1995 ; Rousselet et *al.*, 2005 ; Espinosa et Chillet, 2006).

- **Méiateur de l'inflammation**

L'inflammation se manifeste par la libération de médiateurs lipidiques (prostaglandines E2, leucotriène C4, thromboxane A2, histamine et monoxyde d'azote), des chimiokines (IL-8 et CCL-1) et des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-17) qui contribuent au recrutement des leucocytes au site de l'inflammation, source de la production des radicaux libres (Espinosa et Chillet, 2006).

- **Radicaux libres**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Ils jouent un rôle à la fois délétère et bénéfique. Les lésions oxydatives commencent à s'accumuler dans les cellules lorsque les attaques des oxydants surpassent les défenses antioxydants, induisant un stress oxydant (espèces réactives de l'oxygène et de l'azote). L'une de ces espèces réactives de l'azote la plus synthétisée au niveau du tube digestif c'est le monoxyde d'azote (NO[•]) (Ravat et *al.*, 2010 ; Kochar et Anil, 2011).

I-2-2-1 Monoxyde d'azote (NO[•])

Le monoxyde d'azote précédemment reconnu comme facteur dérivé de l'endothélium, est un gaz incolore à l'état pur dans les conditions normales de température et de pression. Il est libéré par les cellules endothéliales, les macrophages, les cellules du foie ainsi que par les neurones. Le NO[•] est un radical libre, constitué d'un atome d'azote et d'un atome d'oxygène liés par une double liaison (Ghafari et Labarde, 2003). Le monoxyde d'azote (NO[•]) peut produire une espèce radicalaire hautement réactive, le peroxynitrite (ONOO⁻), en présence d'anion superoxyde (O₂^{-•}) (Duong-Quy et *al.*, 2013).

- **Mécanisme de synthèse de monoxyde d'azote**

Le NO[•] est généré par une famille de trois enzymes distinctes qui sont des hémoprotéines proches du cytochrome P450. Les trois isoformes de cette enzyme sont: l'oxyde nitrique synthase neuronal (nNOS), l'oxyde nitrique synthase endothélial (eNOS) et l'oxyde nitrique synthase macrophagique (mNOS). Elles sont produites par des gènes différents et sont localisés respectivement sur les chromosomes 7, 12 et 17 (Arzumanian et Stankevicius, 2013).

Les NOS sont des protéines homodimères, chaque monomère comprend un domaine réductase C-terminal (source d'électrons pour la réaction de NOS) et un domaine oxygénase N-terminal qui est le site actif de l'enzyme. Chaque sous unité est maintenue par un ion de zinc lié par deux cystéines de chaque domaine d'oxygénase (**Figure 5**) (Arzumanian et Stankevicius, 2013).

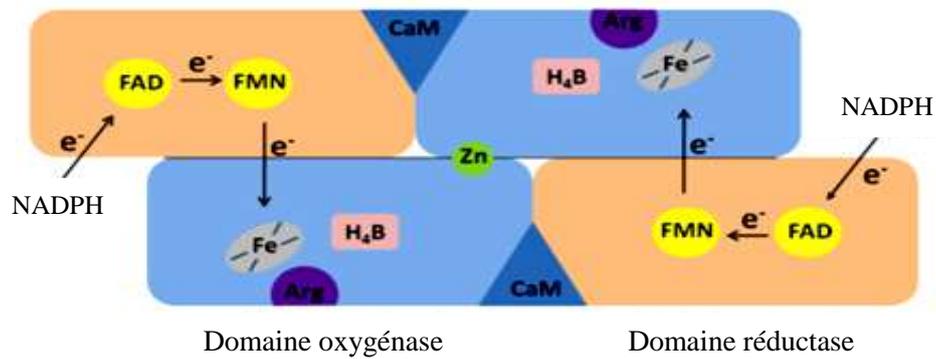


Figure 5 : Présentation schématique de NOS (Anonyme 2).

Selon leur mécanismes d'action, les NOS sont classées comme constitutives et inducibles. Les formes constitutives se trouvent dans le cytosol et les membranes, elles dépendent de la concentration de Ca^{2+} /calmoduline et sont extrêmement importants dans la régulation des processus physiologiques, en se liant à une région de liaison entre ses deux domaines, en présence des cofacteurs NADPH, FAD, FMN, l'hème et le O_2 . La NOS catalyse la formation de L-citrulline et d'oxyde nitrique (NO^*), à partir de L-arginine (**Figure 6**) (Arzumanian et al., 2003).

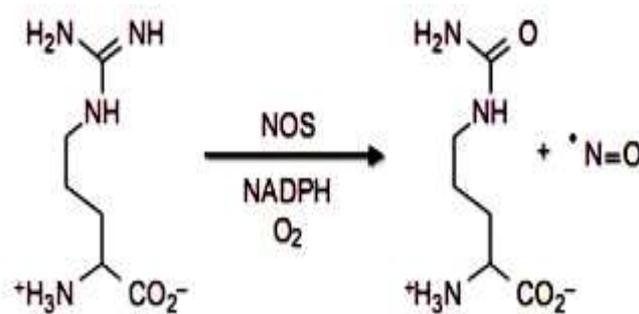


Figure 6 : Réaction de synthèse de l'oxyde nitrique (Arzumanian et al., 2003).

L'activation de certaines NOS inducibles au niveau des macrophages et des cellules musculaires lisses au cours de l'inflammation génère des quantités importantes de NO^* . Dès sa synthèse, le NO^* diffuse sous forme gazeuse (synthèse et libération sont simultanées) avec une libération basale continue (Huet et Duranteau, 2008).

- **Fonctions biologiques du NO^***

Dans l'organisme, le NO^* remplit plusieurs fonctions à savoir la vasodilatation, la neurotransmission, la régulation de l'apoptose, la défense immunitaire ainsi que la signalisation cellulaire en modulant l'activité de diverses enzymes contenant du fer étant

donné qu'il a une grande affinité pour ce dernier. Cependant, au niveau du tube digestif le NO^{*} intervient dans la régulation du débit sanguin splanchnique et de la microcirculation muqueuse. La sécrétion de bicarbonate semble diminuée avec le NO^{*} et augmentée avec son inhibition. De ce fait, le NO^{*} est considéré comme un médiateur endogène modulant à la fois la réparation et le maintien de l'intégrité des tissus gastriques par son action vasodilatatrice contre de différents types d'agents agressifs (Lamarque, 1999).

- **Mécanisme d'action du NO^{*}**

Le NO^{*} est libéré très vite par les cellules endothéliales vasculaires en réponse à de différentes substances (histamine, acétylcholine... etc), il diffuse rapidement dans les tissus, où il active la guanylate cyclase, qui convertit le GTP en GMP cyclique. Il cible la protéine kinase GMPc dépendante qui phosphoryle le récepteur de l'inositol triphosphate, entraînant une diminution de la concentration en Ca²⁺ et induisant une relaxation du muscle lisse et une augmentation du flux sanguin. L'effet vasodilatateur de NO^{*} contribue au maintien de l'intégrité de la barrière muqueuse gastrique (**figure 5**) (Madigan et Zuckerbraun, 2013).

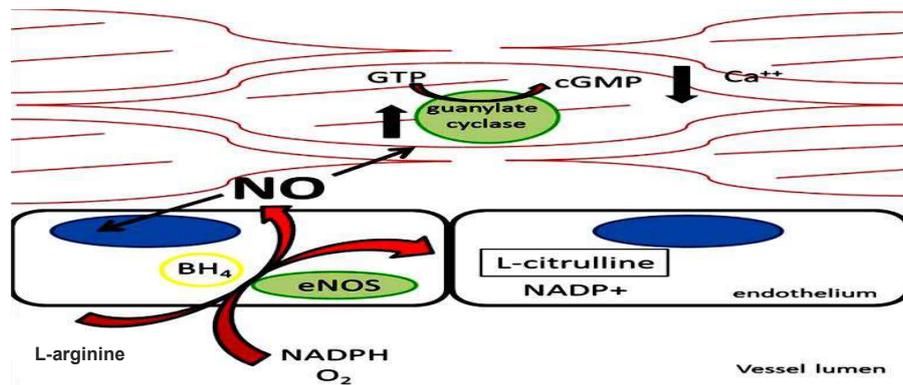


Figure 7 : Synthèse et voie de signalisation du NO^{*} (Madigan et Zuckerbraun, 2013).

I-2-3 Physiopathologie de l'ulcère gastrique

C'est une autodigestion de la muqueuse de l'estomac causée par un déséquilibre entre les facteurs agressifs (acide chlorhydrique, pepsine) et les facteurs de défense de la muqueuse gastrique et intestinale (renouvellement cellulaire, débit sanguin) (Bado et Sobhani, 2011).

I-2-3-1 Facteurs agressifs de la muqueuse gastrique

Des facteurs tels que le tabagisme, le stress, une mauvaise alimentation ainsi que les carences en gastro-protection sont étroitement liées au développement de l'ulcère gastrique. L'infection bactérienne par *Helicobacter pylori* et la prise en continu d'anti inflammatoire

non stéroïdien (AINS) ont également été mis en évidence comme facteurs prédisposants importants, aussi la consommation d'alcool a été rapporté comme l'un des plus grands inducteurs de cette pathologie (Braunwald et *al.*, 2002 ; Haslet et *al.*, 2005 ; Zhang et *al.*, 2016).

- **Ethanol**

Plusieurs études montrent que l'éthanol peut léser l'épithélium de l'estomac et perturber l'endoépithélium vasculaire, par augmentation de la perméabilité des vaisseaux et le développement d'un œdème dans la couche muqueuse de l'estomac. Les mécanismes d'induction de lésion gastriques comprennent l'altération de la muqueuse qui conduit à une perte d'ions H⁺ dans la lumière et la diminution de la différence de potentiel de la membrane transluminale (Attingnon et *al.*, 2015 ; Ali et *al.*, 2017).

I-2-4 Thérapie de l'ulcère gastrique

Le traitement médical de l'ulcère gastrique vise à calmer la douleur ulcéreuse, à accélérer la cicatrisation de l'ulcère et à prévenir les récurrences. De nombreux médicaments sont utilisés, agissent à trois niveaux, soit en diminuant la sécrétion d'HCl dans l'estomac (inhibiteurs des pompes à protons et les antagonistes des récepteurs H₂), soit en absorbant l'acidité (les topiques gastro-intestinaux), ou bien, en augmentant la protection de l'estomac (analogues de la prostaglandine E₁). L'une de ces classes de médicaments, dont le rôle central est de maintenir l'intégrité et la réparation muqueuse est des analogues stables de prostaglandines E₁, qui sont très utilisés dans la thérapie de cette pathologie notamment, le misoprostol (Haslet et *al.*, 2005).

I-3 Phytothérapie de l'ulcère gastrique

Malgré l'efficacité des traitements médicamenteux, ces derniers présentent toujours des effets secondaires indésirables d'où le recours aux remèdes traditionnels à base de plantes médicinales (phytothérapie). Plusieurs études ont rapporté l'efficacité des extraits de plantes, mais aussi des molécules bioactives pures tels que la quercétine (Williams et *al.*, 2004) et la catéchine (Zhu et *al.*, 2004) dans le traitement de l'ulcère.

Ainsi l'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet gastro-protecteur de la curcumine *in vivo*, en mesurant l'activité enzymatique de la NO-synthase dans les estomacs des souris ulcérées avec l'éthanol 96% via le dosage du monoxyde d'azote NO[•].

Matériel
et
Méthodes

II-1 Matériel

II-1-1 Matériel d'origine végétal

II-1-1-1 Curcumine

La curcumine (curcuminoïde) est un polyphénol dérivé du rhizome d'une plante herbacée tropicale, le curcuma (*Curcuma longa L.*). Elle est utilisée en médecine traditionnelle en Asie depuis des siècles, appartenant à la famille des Zingibéracées, qui est cultivée en Asie du Sud-est, et en Inde particulièrement. La curcumine est la majeure composante active du rhizome, elle est de couleur jaune, utilisée comme épice pour efforcer la saveur des aliments et les conserver. Sa formule chimique est $C_{21}H_{20}O_6$, la curcumine est une molécule diferuloyl méthane qui contient deux résidus d'acide férulique liées par un pont méthylène (**Figure 8**) (Bernard *et al.*, 2005; Sahu, 2016; Wang et Gao, 2017).



Figure 8 : A) Rhizome de la plante curcuma, et la curcumine (poudre) ; B) Structure chimique de la curcumine (Hussain *et al.*, 2017).

❖ Propriétés de la plante

La curcumine est une molécule hydrophobe, comprenant deux groupements phénoliques. Cette molécule possède des propriétés anticancéreuse, antimicrobienne, anti-tumorale, neuroprotectrice, en plus de sa capacité anti-inflammatoire et antioxydante (Hewlings et Kalman, 2017).

II-1-2 Espèce d'origine animal et condition d'élevage

Pour l'évaluation de l'activité antiulcéreuse de la curcumine *in vivo*, des souris albinos males de type NMRI (Naval Médical Research Institut), provenant de l'institut Pasteur d'Alger, de poids corporel variant entre (30 et 40 g) et d'une moyenne d'âge de 6 ± 2 semaines, ont été utilisées.

Les animaux ont été élevés au niveau de l'animalerie de l'université de A. Mira Bejaia dans des conditions favorables à leur croissance et leur développement, et l'expérimentation a été réalisée au niveau de laboratoire de génétique de l'université de Bejaia.

Les souris ont été élevées dans des cages spéciales en polystyrène et réparties en groupes avec un accès libre à l'alimentation de type bouchon et à l'eau de robinet. Les souris ont été mises sous des conditions de température ambiante qui varie entre (25 - 27°C), et un cycle de lumière 12h/12h par jour (**Figure 9**).



Figure 9 : Elevage des souris au sein de l'animalerie (**Originale**).

II-1-3 Matériel de laboratoire

- **Réactifs**

Eau physiologique (NaCl 0.9 %), eau bidistillée, chloroforme, misoprostol (200µg), éthanol 96 % (C₂H₆O), carboxyméthyl cellulose 0,8% (CMC), PBS 0,1M (tampon phosphate), HCl (acide chlorhydrique), N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NEDD), sulfanilamide, phosphate de potassium Monobasique (KH₂PO₄), Na₂HPO₄, chlorure de potassium (KCl), chlorure de sodium (NaCl).

- ❖ **Misoprostol**

Le misoprostol (cytotec) est un analogue synthétique de la prostaglandine E1 (PGE1). Sa structure chimique diffère de la PGE1 par la présence d'un méthylester en C1 et le transfert du groupement hydroxyle du C15 au C16 avec l'ajout d'un méthyl. il est utilisé en tant qu'anti sécrétoire et cytoprotecteur des muqueuses gastriques et duodénales et indiqué dans le traitement curatif et préventif des lésions induites par l'alcool et les AINS (Tang *et al.*, 2007; Faure, 2012).

- **Appareillages**

Plaque chauffante et agitatrice (VELP), balance de précision (RADWAG), homogénéisateur (VELP), vortex (VELP), centrifugeuse (SEGMA2-16 PK), loupe binoculaire (CARL ZEISS 0.8 × 10), appareil photo (CANON X 16 pixels), pH mètre (HANNA), sonicateur (RAYPA), micropipette, microplaque, lecteur de microplaque (BioTok), verrerie et trousse de dissection.

II-2 Méthodes

II-2-1 Model d'ulcération

Dans le but d'étudier l'effet gastroprotecteur de la curcumine, une méthode d'ulcération a été appliquée chez les souris, en utilisant l'éthanol à 96% comme agent ulcérogène.

II-2-1-1 Induction de l'ulcère par l'éthanol

Les ulcères ont été induits par l'administration intra-gastrique de l'éthanol à 96% suivant le model décrit par Robert et ses collaborateurs (1979).

Les souris ont été réparties en six groupes de quatre souris de manière aléatoire, et ont été privées de nourriture 16 heures précédant chaque protocole et de l'eau 2 heures avant l'expérimentation.

Par la suite les souris des différents groupes ont été pesées et marquées avant toute administration. Les différents traitements ont été administrés par voie intra-gastrique une heure avant l'induction de l'ulcère par l'éthanol (**Figure 10**).



Figure 10 : Gavage intra-gastrique (**Originale**).

Les étapes suivies dans le protocole d'ulcération sont mentionnées dans le **tableau I**.

Tableau I : L'administration des différentes solutions

Groupes	Solutions administrées
Témoin	Traité avec le CMC 0.8%
Ethanol	Les souris ont été gavées avec du CMC une heure avant l'administration de l'éthanol
Misoprostol	Les souris ont reçu le misoprostol (100µg/kg), une heure avant l'administration de l'éthanol
Curcumine	Administration de la curcumine (12.5mg) une heure avant l'administration de l'éthanol
	Les souris ont reçu de la curcumine (25mg) une heure avant l'administration de l'éthanol
	Les souris ont reçu de la curcumine (50mg) une heure avant l'administration de l'éthanol

30 min après le traitement des différents groupes, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale sous anesthésie au chloroforme (**Figure 11**).

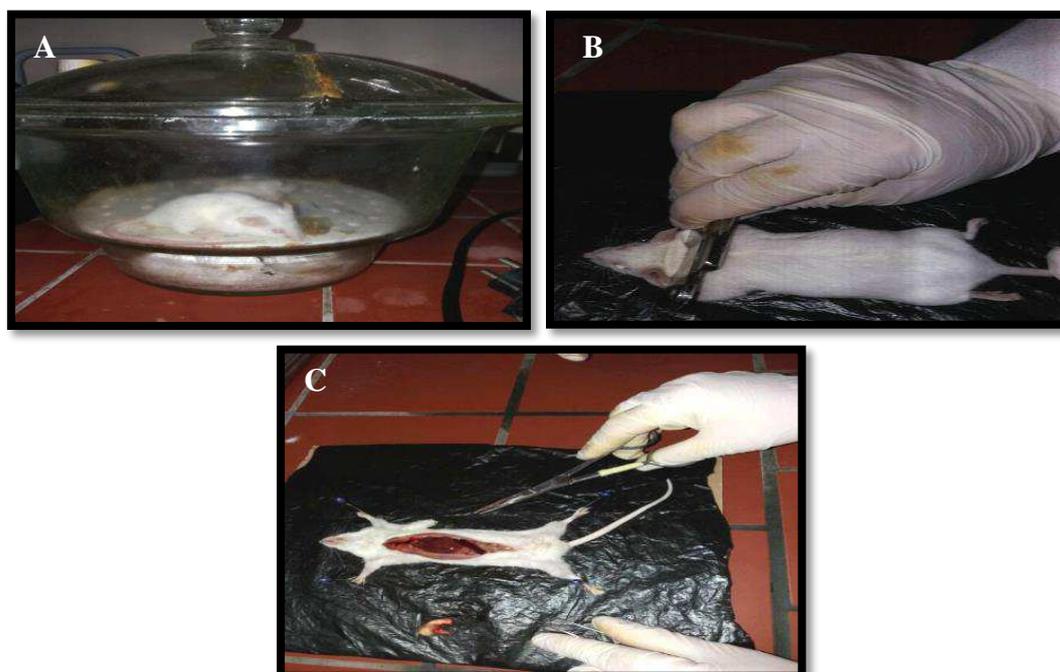


Figure 11 : A) Anesthésie, B) dislocation cervicale, C) dissection et prélèvement de l'estomac (Originale).

Après dissection, les estomacs ont été prélevés, ouverts le long de la grande courbure et rincés avec de l'eau physiologique froide.

Les observations ont été réalisées à l'aide d'une loupe binoculaire au grossissement ($0,8 \times 10$), et les photographies ont été prises à l'aide d'un appareil photo numérique, ensuite les estomacs ont été conservés à -80°C , jusqu'à utilisation dans les différents tests expérimentaux.

II-2-2 Evaluation de l'activité anti-ulcère

Les photos des estomacs ont été analysées par le logiciel imageJ, qui permet d'évaluer l'action protectrice de la curcumine sur l'ulcère induit par l'éthanol, en mesurant les surfaces des zones lésées et la surface totale de chaque estomac. Deux pourcentages ont été calculés :

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

$$\% \text{ inhibition d'ulcération} = (\text{USc} - \text{USt}) / \text{USc} \times 100$$

USc : surface ulcérée du contrôle.

USt: surface ulcérée du test.

II-2-3 Evaluation de l'activité enzymatique de la NO-synthase

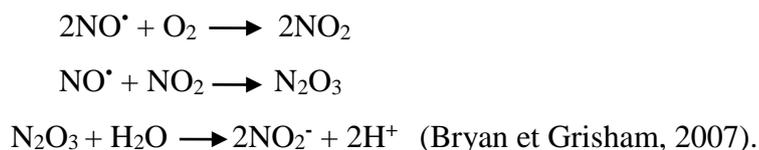
- **Préparation de l'homogénat**

Les estomacs ont été broyés dans un tampon de phosphate (0.1M, pH = 7.2) froid avec un rapport de 1 :10 (v : v), à l'aide d'un mortier sur de la glace, puis homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur électrique. Les homogénats ont été, par la suite, centrifugés à 4000Tours/min pendant 30 min à 4°C , les surnageants ont été récupérés et conservés à -80°C jusqu'à utilisation ultérieure.

II-2-3-1 Dosage du monoxyde d'azote (NO')

- **Principe**

Le monoxyde d'azote NO' réagit facilement avec l'oxygène (O_2) pour former du dioxyde d'azote (NO_2), ce dernier se décompose rapidement en un intermédiaire trioxyde d'azote (N_2O_3) qui réagit avec l'eau pour former le nitrite (NO_2^-), qui est le produit d'oxydation final (Bryan et Grisham, 2007).



La mesure de la quantité du monoxyde d'azote (NO^\bullet) a été réalisée indirectement par le dosage spectrophotométrique des nitrites (NO_2^-) selon la réaction de Griess avec quelques modifications, en utilisant le NEDD et le sulfanilamide comme réactifs. Ce dernier réagit avec les nitrites en formant un sel de diazonium qui est ensuite couplé avec une amine (NEDD) pour donner une coloration jaune orange (Ridnour et *al.*, 2000, John libbey, 2001).

- **Mode opératoire**

Dans une microplaque une solution de sulfanilamide (0,03M) puis une solution de NEDD (0,002M) ont été ajoutés à 100 μl de surnageant à l'aide d'une micropipette. Après incubation à l'obscurité pendant 20 min du mélange réactionnelle, il a été centrifugé à 10000g/min pendant 2 min à 4°C. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 490nm, pour mesurer la quantité totale des nitrites dans le surnageant. Les résultats ont été exprimés en (mg/ml) à partir d'une droite d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions expérimentales, en utilisant NaNO_2 comme standard (**Annexe 1**).

- **Analyse statistique**

Les résultats sont exprimés en moyenne (M) \pm SEM, avec n = 4 pour chaque groupe. Les données ont été statistiquement analysées par le logiciel Graphe Pad Prisme version 5.03, en effectuant le test One-way ANOVA, suivi par le test « Tukey » pour la comparaison statistique. Les différences ont été considérées comme significatives à $P < 0.05$.

Résultats et discussion

III-1 Résultats et discussion

L'effet gastro protecteur de la curcumine a été testé sur des souris albinos males de type NMRI, présentant un ulcère gastrique induit expérimentalement par l'éthanol 96%. A cet effet, deux analyses ont été réalisées, en premier lieu une analyse macroscopique des lésions internes des estomacs visibles sous loupe binoculaire, ce qui nous a permis de calculer le pourcentage des lésions de l'estomac. En seconde partie une étude biochimique a été entreprise pour le dosage de l'activité enzymatique de la NOS, via le dosage indirect des taux gastriques de monoxyde d'azote (NO').

III-1-1 Observation macroscopique des lésions

L'éthanol est largement utilisé pour induire l'ulcère gastrique expérimentalement, en raison de sa pénétration rapide dans la muqueuse gastrique. L'élévation de la perméabilité muqueuse et la libération de produits vasoactifs entraînent des lésions vasculaires et une nécrose des cellules gastriques avant la formation de l'ulcère (Rouhollahi et *al.*, 2014). Des études antérieures ont montré que la curcumine exerce un effet gastro-protecteur contre l'ulcère gastrique induit par cet agent ulcérogène (Czekaj et *al.*, 2017).

Des observations macroscopiques ont été réalisées, pour la mise en évidence de l'effet gastro-protecteur de la curcumine sur la muqueuse gastrique de souris de différents groupes traités par l'éthanol à 96%.

En effet, les résultats obtenus montrent que l'administration intra-gastrique d'éthanol à des souris a engendré des lésions gastriques nécrotiques au niveau de la partie glandulaire de l'estomac, correspondant à des ulcérations qui se manifestent par des rougeurs de la muqueuse caractéristique, d'hémorragies, des œdèmes ainsi que par des inflammations en réponse aux ulcérations (**Figure 12A**). Cependant aucune des lésions décrites précédemment n'a été exhibée au niveau des estomacs de souris du groupe traitées avec le CMC (0.8 %) (Témoin) (**Figure 12B**).

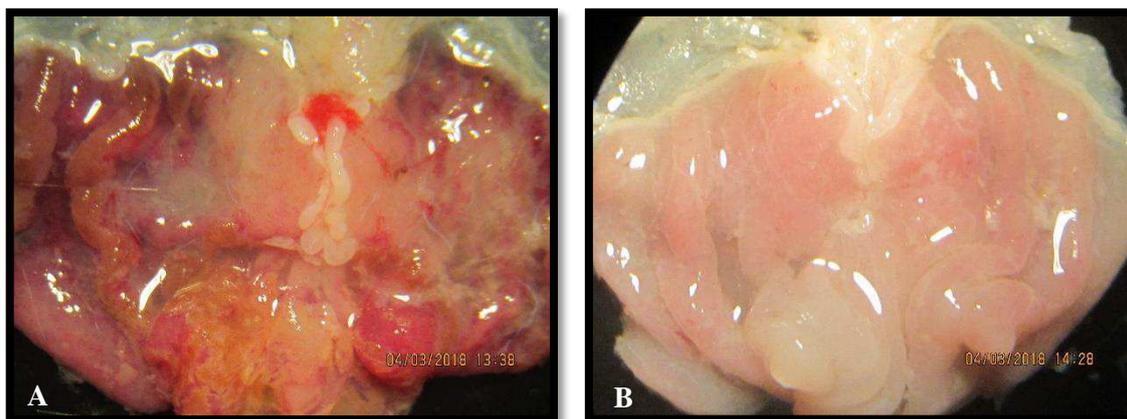


Figure 7 : observation macroscopique des estomacs de différents échantillons (**originale**)

A) Estomac traité par l'éthanol ; **B)** Estomac traité par le CMC (sain).

Katary et Salahuddin. (2017) ont rapporté que l'éthanol a induit une toxicité gastro-intestinal par plusieurs mécanismes, comme la stimulation des sécrétions acides, les cytokines pro-inflammatoires, le stress oxydatif, l'invasion des neutrophiles activés et l'apoptose. Des études antérieures ont également montré que les niveaux de plusieurs cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF- α , IL-1 β , IL-6 et IL-8 ont remarquablement augmenté dans le tissu gastrique après l'administration de l'éthanol. Le TNF- α , une cytokine inflammatoire majeure, est sécrétée par les macrophages au cours de l'inflammation et joue un rôle clé dans le processus d'induction des lésions gastriques. Cette cytokine est un important stimulateur de l'infiltration des neutrophiles dans le tissu muqueux gastrique, où il réduit la microcirculation gastrique autour de l'ulcère et retarde la cicatrisation de l'ulcère par potentialisation de la réponse inflammatoire (Amirshahrokhi et Khalili, 2014).

Par ailleurs, les observations macroscopiques des estomacs des souris des groupes prétraités par de la curcumine à différentes concentrations (12.5, 25 et 50 mg/Kg) ont montré une réduction significative des lésions gastriques produites par l'agent ulcérogène, par rapport au groupe de souris traités par l'éthanol. Cette amélioration apparaît dose-dépendante pour les doses de 25 et 50 mg/kg (**Figure 13**).

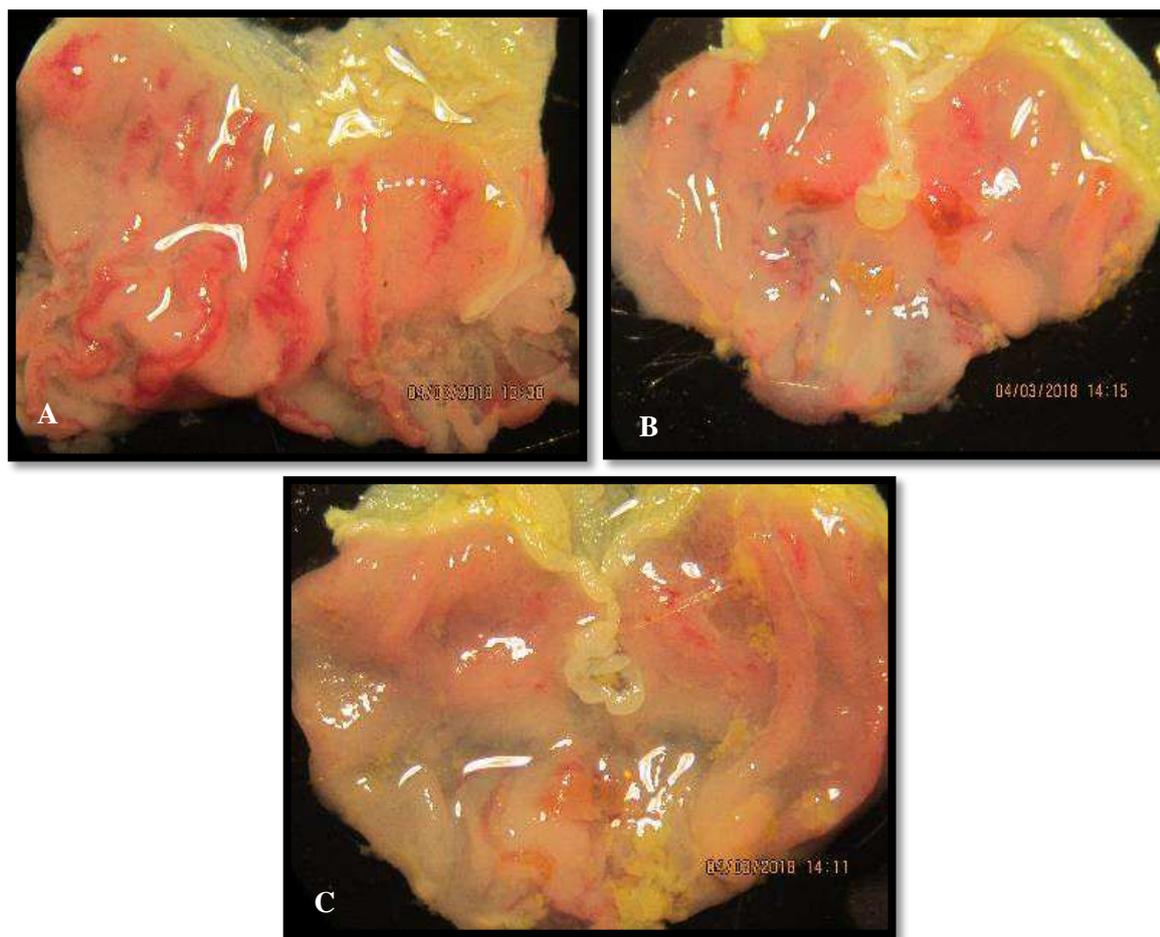


Figure 13: Observation macroscopique des estomacs de différents échantillons traités avec de la curcumine (**originale**)

A) estomac traité avec une dose de 12.5 mg/kg ; **B)** estomac traité avec une dose de 25mg/kg ; **C)** estomac traité avec une dose de 50 mg/kg.

Prasad *et al.* (2014) ont rapporté que la curcumine exerce des activités contre diverses pathologies, tels que le cancer, l'arthrite, les maladies cardiovasculaires, la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse, l'ulcère gastroduodéal,....etc.

Hewlings et Kalman. (2017) ont également rapporté que l'effet gastro-protecteur de la curcumine est probablement dû à ses activités pharmacologiques, y compris les effets anti-ulcérogènes, cicatrisants, antioxydants et anti-inflammatoires.

En effet, la curcumine intervient dans la réponse inflammatoire en inhibant l'activité des enzymes cyclo-oxygénase-2 (COX-2), lipoxygénase (LOX) et NO-synthase (NOS). Ces trois enzymes importantes dans le processus inflammatoire. La COX-2 et LOX seraient inhibées grâce à la faculté de la curcumine de supprimer l'activation du facteur nucléaire kappa B

(NF- κ B), un facteur de transcription impliqué dans la régulation de l'inflammation, de la prolifération cellulaire et de la cancérogenèse (Bernard *et al.*, 2005).

Aussi, la curcumine est considérée comme un antioxydant capable d'activer les enzymes anti-oxydantes (la catalase, la superoxyde dismutase et le glutathion peroxydase), comme un piègeur de radicaux libres et d'inhiber les enzymes qui génèrent des radicaux libres (la lipoxygénase/cyclo-oxygénase, la xanthine hydrogénase/oxydase) grâce à ses groupes phénolique et méthoxy sur le cycle phényle, et le système 1,3-dicétone, qui est un ligand puissant pour les métaux tels que le fer (Fe^{2+}) (Araújo et Leon, 2001; Hewlings et Kalman, 2017).

Dans notre étude, la curcumine a montré une protection significative des estomacs de souris contre l'agent ulcérogène. Cela peut être dû à son effet antioxydant et anti-inflammatoire. En effet, la curcumine exerce son effet bénéfique et son activité antiulcéreuse, non seulement en réduisant la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) de l'azote (ERN) et en augmentant la capacité antioxydante, mais aussi en inhibant la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8, TNF- α , COX-2, iNOS...), la sécrétion acide et en empêchant l'apoptose (Wilken *et al.*, 2011).

Aussi, le prétraitement des souris avec le misoprostol, à une dose 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a induit une protection des estomacs des souris, avec une nette réduction des lésions gastriques (**Figure 14**).



Figure 14 : Observation macroscopique d'un estomac traité par le misoprostol (**Originale**).

Le misoprostol agit probablement par deux actions, cytoprotectrice et anti sécrétoire d'une façon complémentaire. L'action cytoprotectrice contribue à stimuler la production de mucus qui joue un rôle, en s'opposant à la rétrodiffusion des ions H^+ . De plus, elle s'oppose à la production de pepsine, un autre facteur agressif dans la pathologie ulcéreuse. Cette action cytoprotectrice pourrait également favoriser la production d'ions bicarbonates qui vont neutraliser l'acidité gastrique. Enfin, il est possible qu'il existe un effet protecteur par la stimulation de la micro vascularisation locale, qui est un des facteurs de défense de la muqueuse gastrique (Haslet et *al.*, 2005).

III-1-2 Evaluation de l'activité anti-ulcère

L'effet gastro-protecteur de la curcumine contre les lésions induites par l'éthanol a été évalué, en utilisant le logiciel imageJ, pour calculer approximativement les surfaces totales lésées.

Les pourcentages d'ulcération et d'inhibition d'ulcération des différents groupes (témoin, test et standard) en comparaison avec le groupe éthanol sont illustrés dans les figures suivantes (Figure 15, 16).

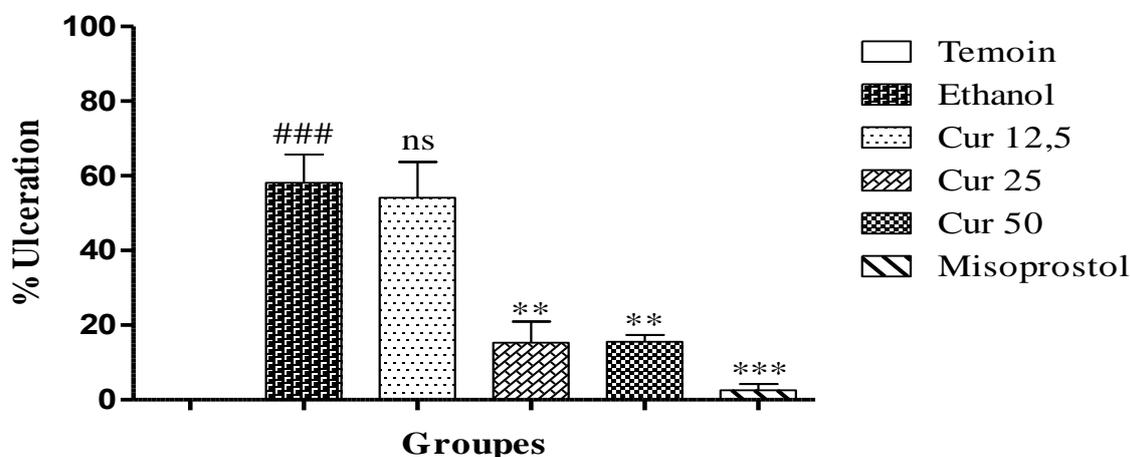


Figure 15 : Représentation graphique du pourcentage d'ulcération exprimé en moyenne \pm SEM pour $n=4$.

*** $P < 0.001$ différence très hautement significative par rapport au groupe éthanol.

** $P < 0.01$ différence hautement significative par rapport au groupe éthanol.

$P < 0.001$ différence très hautement significative par rapport au groupe témoin.

ns : différence non significative.

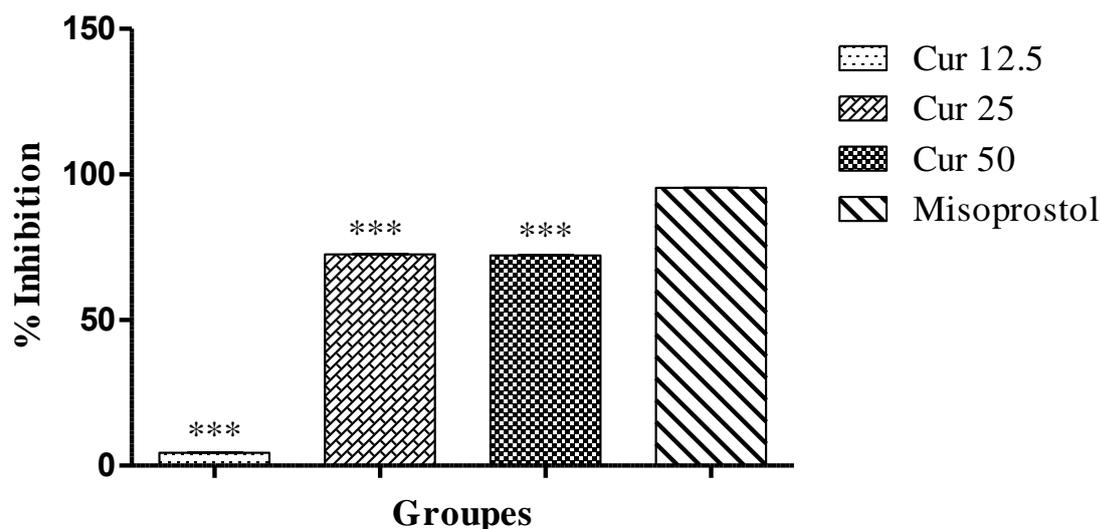


Figure 16 : Représentation graphique du pourcentage d'inhibition d'ulcération exprimé en moyenne \pm SEM pour $n = 4$; *** $P < 0.001$ différence très hautement significative par rapport au groupe misoprostol.

Les résultats obtenus dans les graphes précédents sont résumés dans le tableau suivant (**Tableau II**).

Tableau II: Pourcentage d'ulcération et d'inhibition de l'ulcère pour les différents groupes.

Groupes	Doses	% d'ulcération	% d'inhibition
Témoin	-	-	-
Ethanol	0,2 ml	58,147 \pm 7,580###	-
Misoprostol	0,1 mg/kg	2,579 \pm 1,633***	95,381 \pm 0,016
Curcumine	12,5 mg/kg	54,084 \pm 9,626	4,462 \pm 0,096***
	25 mg/kg	15,318 \pm 5,680**	72,573 \pm 0,056***
	50 mg/kg	15,506 \pm 1,888**	72,238 \pm 0,018***

Les valeurs du tableau pour chaque groupe ($n = 4$) correspondant à la moyenne \pm SEM .

*** $P < 0.001$ différence très hautement significative par rapport au groupe éthanol.

** $P < 0.01$ différence hautement significative par rapport au groupe éthanol.

$P < 0.001$ différence très hautement significative par rapport au groupe témoin.

D'après le **tableau II**, le pourcentage d'ulcération maximal a été noté au niveau du groupe éthanol avec une valeur de $58,147 \pm 7,580$ %. En comparaison avec ce groupe, une réduction hautement significative ($p < 0.001$) des surfaces lésées a été notée chez le groupe traité avec le misoprostol avec un pourcentage d'ulcération de $2,579 \pm 1,633$ %. Cependant, aucune différence significative n'a été enregistrée pour le pourcentage d'ulcération au niveau des estomacs de souris de groupe prétraités avec le misoprostol et celui du groupe témoin traité par le CMC (0.8%).

D'autre part, une réduction hautement significative ($P < 0.01$) et d'une manière dose-dépendante a été observée au niveau des surfaces lésées chez les groupes prétraités avec les doses 25 et 50 mg/kg de curcumine. Leurs pourcentages d'ulcération sont très proches et sont respectivement de $15,318 \pm 5,680$ et $15,506 \pm 1,888$ %. Comparativement à la valeur notée par le groupe prétraité avec une dose de 12,5 mg/kg, aucune différence significative avec le groupe éthanol n'a été enregistrée avec un pourcentage d'ulcération de $54,084 \pm 9,626$ %.

III-1-3 Evaluation de l'activité enzymatique de la NO-synthase

III-1-3-1 Dosage du monoxyde d'azote (NO')

Il est bien connu que le monoxyde d'azote en tant qu'une molécule de signalisation majeure est impliqué dans les fonctions physiologiques du tractus gastro-intestinal. Le NO' est synthétisé à partir de L-arginine par l'oxyde nitrique synthase (NOS), une enzyme qui existe sous trois isoformes majeures; neuronal, endothéliale et inducible (nNOS, eNOS et iNOS) (Arzumanian et Stankevicius, 2013).

Comme précédemment décrit, NOS est une enzyme constituée de deux domaines; le domaine oxygénase N-terminale (hautement conservé dans les différentes espèces de NOS) et le domaine de la réductase C-terminale. La production de NO' prend place dans le domaine de l'oxygénase tandis que le domaine de la réductase fournit les électrons nécessaires pour mener la réaction dans le domaine de l'oxygénase (Arzumanian et Stankevicius, 2013).

Le NO' est une molécule avec une demi-vie de seulement quelques secondes dans les systèmes biologiques. Il se dégrade rapidement en nitrites (NO_2^-) puis en nitrate (NO_3^-). La réactivité chimique du NO' est relativement limitée tout en possédant un électron non apparié. Dans le tractus gastro-intestinal, le NO' est produit par la NO' synthase constitutive (eNOS). D'autre part, iNOS induite par des cytokines pro-inflammatoires, telles que

TNF- α et IL-1 β , synthétise des quantités de NO \cdot en excès au cours d'une réponse inflammatoire, ce qui contribue au dysfonctionnement de la muqueuse gastrique.

Ce radical libre produit au site de l'inflammation peut réagir avec l'anion superoxyde (O $_2^{\cdot-}$) pour former le peroxynitrite (ONOO \cdot), qui est une molécule cytotoxique qui entraîne la mort des cellules par oxydation des protéines, peroxydation lipidique, dommages de l'ADN, et inactivation des enzymes ainsi qu'une perturbation des processus de signalisation cellulaire qui entraîne des réponses pathologiques (Deng et Deitrich, 2007; Amirshahrokhi et Khalili, 2014).

L'effet gastro protecteur de la curcumine a été évalué en dosant indirectement la quantité du monoxyde d'azote (NO \cdot) dans les estomacs de souris.

Les groupes de souris ont été comparés par le test ANOVA suivi par le test de « Tukey » d'une part par rapport au groupe traité par l'éthanol et d'autre part par rapport au groupe témoin.

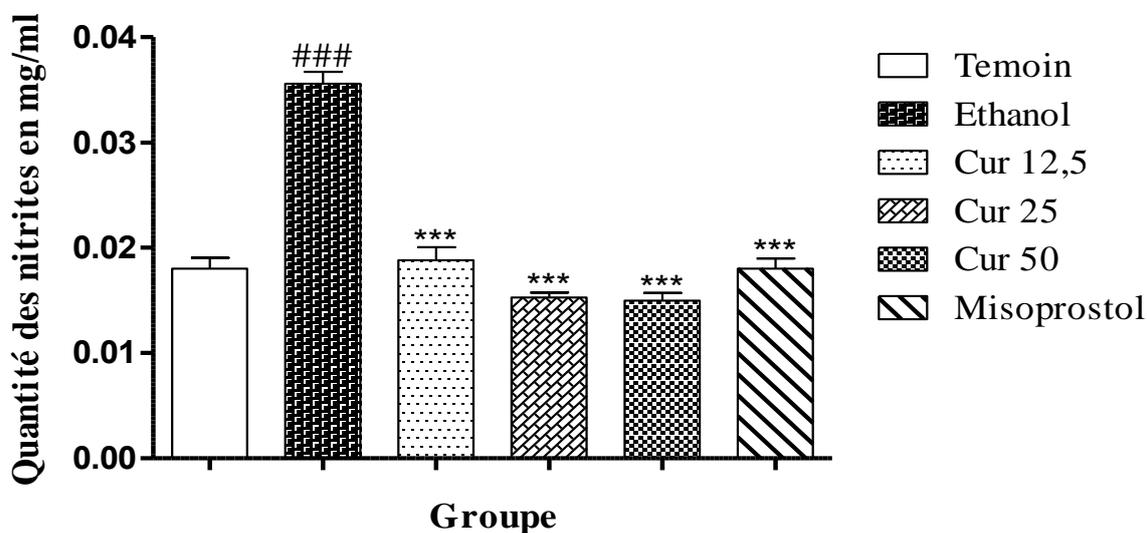


Figure 17 : Représentation en histogramme des quantités des nitrites.

***P < 0.001 différence très hautement significative par rapport au groupe éthanol.

** P < 0.01 différence hautement significative par rapport au groupe éthanol.

P < 0.001 différence très hautement significative par rapport au groupe témoin.

Les résultats de ce graphe montrent la présence des quantités en nitrite chez les souris du groupe témoin ce qui signifie probablement une libération basale du monoxyde d'azote, ce qui est en accord avec les résultats rapportés par Huet et Duranteau (2008) (**Figure 17**).

En parallèle, aucune différence significative de la quantité des nitrites ($0,018 \pm 0,0009$ mg/ml) n'a été notée au niveau des homogénats d'estomacs de souris du groupe test traité par le misoprostol à $100\mu\text{g/kg}$ par comparaison au groupe témoin ($0,018 \pm 0,001$ mg/ml).

L'analyse statistique du groupe traité par l'éthanol a montré une quantité très élevée en nitrite ($0,035 \pm 0,001$ mg/ml), qui est très hautement significative ($P < 0.001$) par rapport à la valeur ($0,018 \pm 0,001$ mg/ml) enregistrée au niveau des homogénats des estomacs de souris non traitées (témoin).

Dans notre étude, nous avons constaté que l'administration d'éthanol a provoqué une augmentation significative de la concentration de nitrite dans le tissu gastrique. Ces résultats sont en accord avec d'autres études, qui ont montré que l'exposition à l'éthanol a augmenté les niveaux de nitrite comme indice de formation de NO^* dans le tissu gastrique (Amirshahrokhi et Khalili, 2014).

Aussi, des études *in vitro* ont montré que de faibles doses d'éthanol augmentent la libération du monoxyde d'azote (NO^*) et augmentent la vasodilatation induite par l'endothélium, tandis que des doses plus élevées altèrent les fonctions endothéliales. La libération de NO^* a été augmentée par des mécanismes moléculaires impliquant l'augmentation de l'expression de eNOS par la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) et l'augmentation des interactions protéine-protéine entre eNOS et la protéine de choc thermique (Hsp90) (Deng et Deitrich, 2007).

En outre, la comparaison statistique de l'effet des trois doses (12,5, 25 et 50mg/kg) de curcumine ainsi que le misoprostol par rapport au groupe éthanol a montré une différence très hautement significative ($P < 0.001$).

Par conséquent, les groupes prétraités avec de la curcumine ont exhibé des concentrations de NO^* variables par rapport au groupe éthanol. Les valeurs notées sont différentes d'une manière très hautement significative ($P < 0.001$) avec $0,018 \pm 0,001$, $0,015 \pm 0,0004$ et $0,014 \pm 0,0004$ mg/ml pour la dose de 12,5, 25 et 50 mg/kg respectivement.

Cette diminution de la quantité du monoxyde d'azote est probablement due à l'activité anti-inflammatoire de la curcumine qui est basée sur l'inhibition de la COX-2, des LOX, de l'iNOS et de la production de cytokines pro-inflammatoires en inhibant le facteur nucléaire kappa B (NF-kB) (Karimian *et al.*, 2016).

NF-kB est un facteur de transcription intervenant dans des actions inflammatoires cruciales dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol, incluant l'expression de plusieurs cibles pro-inflammatoires en aval comme le TNF- α , les chimiokines et les molécules d'adhésion intercellulaires (ICAM-1). Le NF-kB est constitué de 2 sous unités, la sous unité p65 et la sous unité p50. La sous-unité NF-kB-p65 est généralement considérée comme un marqueur de l'activation de NFkB. Cette dernière est activée lorsque son inhibiteur, I κ B est phosphorylé. Par conséquent, NF-kB est libéré et transloqué dans le noyau pour initier la transcription de gènes inflammatoires, tels que la COX-2, TNF- α , IL-6, IL-8, iNOS...etc (Bernard *et al.*, 2005).

La curcumine s'est avérée un excellent piègeur de radicaux libres, une propriété qui lui confère une activité antioxydante. Les trois sites actifs de la curcumine (deux groupes phénoliques et la fraction 1,3-dicétone) peuvent subir une oxydation par transfert d'électrons et par le don d'hydrogène. Priyadarsini. (2014) a rapporté que le groupe le plus facilement donneur d'hydrogène provient du groupe phénol-OH de curcumine ce qui conduit à la formation d'un radical phénoxy, moins réactif. La curcumine interagit également avec le peroxy-nitrite empêchant la formation de nitrotyrosine, marquant son potentiel antioxydant.

Aussi, des études ont rapporté que la curcumine a une capacité pour la fixation de fer, ce qui suggère que son principal action en tant qu'inhibiteur de la peroxydation lipidique peut être liée à sa capacité de chélater les ions ferreux grâce à ses groupes hydroxyle et méthoxy (Ak et Gulçi 2008).

D'après ces études, il semblerait que la curcumine en tant qu'agent anti-inflammatoire peut avoir un effet protecteur contre les lésions muqueuses induites par l'éthanol grâce à ses effets anti-inflammatoires et antioxydants, en réduisant la production d'oxyde nitrique et de cytokines inflammatoires dans le tissu gastrique.

Conclusion et perspectives

L'utilisation des médicaments dans le traitement de l'ulcère gastrique est très répandue dans le monde, grâce à leurs propriétés gastro-protectrices. Par ailleurs, ils ne sont pas dénués d'effets secondaires parfois très graves. C'est pour cette raison que de nombreuses études actuelles se sont orientées vers la phytothérapie. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner diverses pathologies touchant le tractus gastro-intestinal dont l'ulcère gastrique. La curcumine est l'une de ces molécules, extraite à partir de plantes, étudiée pour ses propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes.

Le but de cette présente étude est d'évaluer l'effet gastro-protecteur et antioxydant de la curcumine sur l'ulcère gastrique, en mesurant l'activité enzymatique de la NO-synthase, via le dosage indirect du monoxyde d'azote.

Notre procédure expérimentale a été réalisée, en appliquant un modèle d'ulcération en utilisant l'éthanol à 96%, un agent ulcérogène le plus utilisé pour induire l'ulcère gastrique expérimentalement. Le prétraitement des souris, avec différentes doses de curcumine a réduit l'ulcère gastrique d'une manière dose-dépendante, avec un pourcentage d'inhibition d'ulcération de 72.573 ± 0.056 , 72.238 ± 0.018 pour les doses de 25 et 50 mg/kg respectivement. D'autre part, la quantité du NO[•] déduite via le dosage des nitrites, a été réduite d'une manière très hautement significative avec une moyenne de 0.015 ± 0.0004 et 0.014 ± 0.0004 mg/ml, au niveau des estomacs de souris traitées avec de la curcumine 25 et 50 mg/kg respectivement, comparativement au groupe éthanol (0.035 ± 0.001 mg/ml), ce qui signifie une surexpression de l'enzyme oxyde nitrique synthase.

Les résultats obtenus montrent un bon effet gastro-protecteur de la curcumine, via l'inhibition de la surexpression de l'activité de l'enzyme NOS. Cependant, cette étude n'est qu'une étude préliminaire, d'autres études complémentaires et approfondies dont de nombreuses perspectives peuvent être envisagées:

- ❖ Compléter l'étude par des études histologiques ;
- ❖ Etude de l'effet curatif de la curcumine ;
- ❖ Evaluer l'effet de la curcumine sur les autres activités enzymatiques anti oxydantes à savoir, la superoxyde dismutase et le glutathion peroxydase...etc.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdel-Salam O. (2016). Gastric acid inhibitory and gastric protective effects of Cannabis and cannabinoids. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(5): 413-419.
- Ak T. and Gulçin I. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions*, 174: 27-37.
- Ali R.B., Ounis A., Said D.B., Dziri C. and May M.V.E. (2017). Gastroprotective effects of Tunisian green clay on ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats. *Applied Clay Science*, 149: 111-117.
- Alpers D.H., Russell-Jones G. (2012). Gastric intrinsic factor: The gastric and small intestinal stages of cobalamin absorption. *A personal journey. Biochimie*, 95: 989-994.
- Amirshahrokhi K. and Khalili A.R. (2014). The effect of thalidomide on ethanol-induced gastric mucosal damage in mice: Involvement of inflammatory cytokines and nitric oxide. *Chemico-Biological Interactions*, 225: 63-69.
- Anonyme 1 : <http://www.prevention.ch/ulcere.htm>. 11-04-2018.
- Anonyme 2 : http://proteopedia.org/wiki/index.php/Nitric_Oxide_Synthase. 08-05-2018.
- Araújo C. and Leon L. (2001). Biological Activities of Curcuma longa L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 96(5): 723-728.
- Arzumanian V., Stankevicius E., Laukeviciene A. and Kevelaitis E. (2003). Mechanisms of nitric oxide synthesis and action in cells. *Medicina*, 39(6): 535-541.
- Attignon E., Rouach H. ET Blanc E. (2015). Bases moléculaires des effets toxiques de l'alcool. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 50: 84-93.
- Aubert J., Bejan-Angoulvant T. et Jonville-Bera A.P. (2014). Pharmacologie du misoprostol (données pharmacocinétiques, tolérance et effets tératogènes). *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 43: 114-122.
- Aziz K., Bonnet B. et Foppa B. (2012). Chirurgie digestive. In : *Hépatogastro-entérologie*. Paris: Elsevier-Masson. 602 p.
- Bado A. et Sobhani I. (2011). Physiologie de la sécrétion gastrique. *Gastro-entérologie*, 1-14.

- Beaugerie L. et Sokol H. (2014). Estomac-Duodénum. In : *Les fondamentaux de la pathologie digestive*. Paris: Elsevier Masson.
- Bernard M., Couderc R. et Cynober L. (2005). Les aliments traditionnels : remèdes de bonne femme ou pharmacopée du XXI^e siècle l'exemple de la curcumine. *Aliments*, 40(6): 325-333.
- Bouvet L. et Chassard D. (2014). Apport de l'échographie pour l'évaluation préopératoire du contenu gastrique. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 33: 240-247.
- Braunwald E., Fauci A.S., Kasper D.N., Hauser S.L., Longo D.L. et Jameson J.L. (2002). maladie ulcèreuse et autres affections gastriques. In : *Principe de médecine interne*. Paris: Flammarion Médecine-Sciences. 1649-1658 p.
- Bryan N.S. and Grisham M.B. (2007). Methods to Detect Nitric Oxide and its Metabolites in Biological Samples. *Free Radic Biol Med*, 43(5): 645-657.
- Brzozowski T., Konturek S.J., Sliwowski Z., Drozdowicz D., Zaczek M. and Kedra D. (1997). Rôle of L-arginine, a substrate for nitric oxide-synthase, in gastroprotection and ulcer healing. *Gastroenterol Journal*, 32(4): 442-452.
- Czekaj R., Majka J., Magierowska K., Sliwowski Z., Magierowski M., Pajdo R., Ptak-Belowska A., Surmiak M., Kwiecien S., Brzozowski T. (2017). Mechanisms of curcumin-induced gastroprotection against ethanol-induced gastric mucosal lésions. *Journal of Gastroenterology*, 53(5) : 618-630.
- Deng X. and Deitrich R.A. (2007). Ethanol Metabolism and Effects : Nitric Oxide and its Interaction. *Curr Clin Pharmacol*, 2(2): 145-153.
- Duong-Quy S., Le-Dong N.N., Hua-Huy T. and Dinh-Xuan A.T. (2013). La mesure du monoxyde d'azote (NO) dans l'air expiré comme marqueur inflammatoire des voies aériennes. *Journal Franco-Vietnamien de Pneumologie*, 04(11): 16-22.
- Espinosa E. et Chillet P. (2006). La réponse inflammatoire. In : *Immunologie*. Paris: ellipses. 110-114 p.
- Faure S. (2012). Analogues de prostaglandines. *Actualités pharmaceutiques*, 518: 57-59.

- Ghosh S., Banerjee S. and Sil P.C. (2015). The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food and Chemical Toxicology*, 83: 111-124.
- Grand F., Guitton J. et Goudable J. (2001). Optimisation des parametres du dosage des nitrites et nitrates seriques par la technique de Griess. *Annales de Biologie Clinique*, 59(5): 559-565.
- Haslet C., Chilvers E.R., Boon N.A., Colledge N.R. et Hunter J.A.A. (2005).maladie de l'estomac et du duodénum. In: *Médecine Interne : principes et pratique*. Paris: Maloine.781-790 p.
- Hewlings S.J. and Kalman D.S. (2017). Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods*, 6: 92.
- Huet O. et Duranteau J. (2008). Dysfonctionnement endotheliale : rôle des radicaux libres. *Reanimation*, 17: 387-392.
- Hussain Z., Thu H.E., Amjad M.W., Hussain F., Ahmed T.A. and Khan S. (2017). Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. *Materials Science and Engineering C*, 77: 1316-1326.
- Jin K., Luo Z., Zhang B. and Pang Z. (2017). Biomimetic nanoparticles for inflammation targeting. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(1): 23-33.
- Kamina P. (2009). Tube digestif. In : *Anatomie clinique*. Paris : Maloine. 234-245 p.
- Karimian M.S., Pirro M., Majeed M., Sahebkar A., Pharm D. and Ph D. (2016). Curcumin as a natural regulator of monocyte chemoattractant protein-1. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 33: 55-63.
- Katary M.A. et Salahuddin A. (2017). Gastroprotective Effect of Punicalagin against Ethanol-Induced Gstric Ulcer : The Possible Underlying Mechanisms. *Biomarkers Journal*, 3: 1-8.
- Lamarque D. (1999). Rôle du monoxyde d'azote dans le maintien de l'intégrité muqueuse et dans la pathologie inflammatoire gastro-intestinale. *Hepato-Gastro et Oncologie Digestif*, 6(1): 49-57.

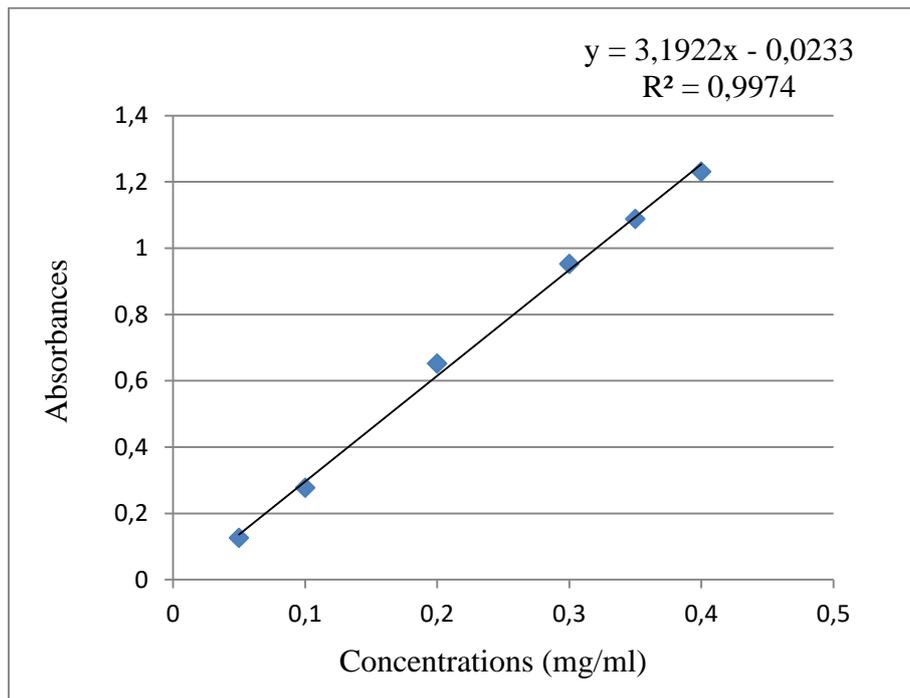
- Lanas A. (2008). Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. *Arthritis Research & Therapy*, 10(2): 4.
- Madigan M. and Zuckerbraum B. (2013). Therapeutic potential of the nitrite-generated NO pathway in vascular dysfunction. *frontiers in Immunology*, 7(174): 1-9.
- Marieb, E.N. (2008). Le système digestif et métabolisme. In: *principe d'anatomie et de physiologie*. Paris: ERPI. 500-513 p.
- Marieb, E.N. et Hoehen, K. (2010). Le système digestif. In: *Anatomie et physiologie humaine*. Canada: Pearson. 1004-1007 p.
- Mathew D. and Hsu W.L. (2017). Antiviral potential of curcumin. *Journal of Functional Foods*, 40: 692-699.
- McDonald S.W. and MacFarlane N.G. (2008). The mouth, stomach and Intestines. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 19(3): 128-132.
- Oberdiac P. et Mineur L. (2010). Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains : l'estomac. *Cancer/Radiothérapie*, 14: 336-339.
- Pasquier C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 276: 87-92.
- Prasad S., Gupta S.C., Amit K. Tyagi A.K. et Aggarwal B.B. (2014). Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnology Advances*, 32: 1053-1064.
- Priyadarsini K.I. (2014). The chemistry of curcumin : From extraction to therapeutic agent. *Molecules*, 19(12): 20091-20112.
- Ravat F., Payre J., Peslages P., Fontaine M et Sens N. (2010). La brûlure: une pathologie inflammatoire. *Pathologie Biologie*, 59: 63-72.
- Ridnour L.A., Sim J.E., Michael A. Hayward M.A., Wink D.A., Sean M. Martin S.M., Buettner G.R. and Spitz D.R. (2000). A Spectrophotometric Method for the Direct Detection and Quantitation of Nitric Oxide, Nitrite, and Nitrate in Cell Culture Media. *Analytical Biochemistry*, 281: 223-229.

- Robert A., Nezamis J.E., Lancaster C. and Hanchar A.J. (1979). Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology*, 77: 433-443.
- Rolet-Répécaud O., Arnould C., Dupont D., Gavoye S., Beuvier E. and Achilleos C. (2016). Quantification of pepsin in rennet using a monoclonal antibody-based inhibition ELISA. *LWT Food Science and Technology*, 76: 190-196.
- Rouhollahi I., Moghadamtousi S.Z., Hamdi O.A.A., Fadaeinasab M., Hajrezaie M., Awang K., Looi C.Y., Abdulla M.A. and Mohamed Z. (2014). Evaluation of acute toxicity and gastroprotective activity of *curcuma purpurascens* Bl. Rhizome against éthanol-induced gastric mucosal injury in rats. *BMC Complementary & Alternative Médecine*, 14: 378.
- Sahu P.K. (2016). Design, structure activity relationship, cytotoxicity and evaluation of antioxidant activity of curcumin derivatives/analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 121: 510-516.
- Savaringal J.P. and Sanalkumar K.B. (2018). Gastroprotective effectes of *Curcuma longa* Linn. Against ethanol induced gastric ulcer in rats. *Evolution Med. Dent. Sci*, 7(03): 332-337.
- Stevens A. et Lowe J. (1997). Tube digestif. In: *Histologie humaine*. Belgique: De Boeck Université. 202 p.
- Tang O.S., Gemzell-Danielsson K. and Ho P.C. (2007). Misoprostol: Pharmacokinetic profiles, effects on the uterus and side-effects. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 99: 160-167.
- Tortora et Derrickson. (2007). Le système digestif. In : *Principe d'anatomie et de physiologie*. Canada : De Boeck Université. 985-990 p.
- Wang X. and Gao Y. (2017). Effects of length and unsaturation of the alkyl chain on the hydrophobic binding of curcumin with Tween micelles. *Food Chemistry*, 246: 242-248.
- Watson N., Ding B., Zhu X. and Frisina R.D. (2017). Chronic inflammation-inflammaging-in the ageing cochlea: A novel target for future presbycusis therapy. *Ageing Research Reviews*, 40: 142-148.

- Wilken R., Veena M.S., Wang M.B. and Srivatsan E.S. (2011). Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*, 10: 12.
- Williams R.J., Spencer J.P.E. and Rice-Evans C. (2004). Flavonoids and Isoflavones (Phytoestrogens): Absorption, Metabolism and Bioactivity. *Free radical Biology & Medicine*, 36(7): 838-849.
- Zhang Y., Xiu M., Jiang J., He J., Li D., Liang S. and Chen Q. (2016). Novokinin inhibits gastric acid secretion and protects against alcohol-induced gastric injury in rats. *Alcohol*, 56: 1-8.
- Zhu Y.Z., Huang S.H., Tan B.K.H., Sun J., Whiteman M. and Zhu Y.C. (2004). Antioxidants in Chinese herbal medicines: a biochemical perspective. *The Royal Society of Chemistry*, 21: 478-489.

Annexe

Annexe 1 :

Courbe d'étalonnage du standard (NaNO_2).

Résumé

La Curcumine est un polyphénol, qui joue un rôle important dans la prévention de plusieurs pathologies y compris les maladies gastro-intestinales. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet gastro-protecteur de cette molécule *in vivo* en mesurant l'activité enzymatique de la NOS. L'administration de la curcumine, pour des souris par voie intra-gastrique, a réduit significativement ($p < 0.001$) l'ulcère gastrique induit par l'éthanol, avec un pourcentage d'inhibition d'ulcération de 72,573 % et 72,238 % respectivement pour les doses de 25 et 50 mg/kg. L'activité enzymatique de la NOS en présence de cette molécule a diminué avec une réduction de la quantité des nitrites ($0,0152 \pm 0,0004$ mg/ml) pour la dose de 25mg /kg de curcumine et de $0,0149 \pm 0,0007$ mg/ml pour la dose de 50mg/kg par rapport à celle notée chez des souris du groupe éthanol avec une valeur de $0,0356 \pm 0,0011$ mg/. Les résultats de cette étude ont montré que la curcumine exerce un effet gastro-protecteur efficace dans le traitement de l'ulcère gastrique et provoque une inhibition de la NOS.

Mots clés : Curcumine, ulcère, éthanol, NOS. Les souris. Nitrites.

Abstract

Curcumin is a polyphenol, which plays an important role in the prevention of several pathologies including gastrointestinal diseases. The purpose of this study is to evaluate the gastroprotective effect of this molecule by measuring the enzymatic activity of the NOS *in vivo*. The administration of curcumin for mice intragastrically reduced significantly ($p < 0.001$) the gastric ulcer induced by ethanol with a inhibition percentage of ulceration of 72,573 % and 72,238 % for doses of 25 and 50 mg/kg. The enzymatic activity of NOS in the presence of this molecule has significantly decreased with a reduction in the amount of nitrite ($0,0152 \pm 0,0004$ mg/ml) for the dose of 25mg /kg of curcumin and $0,0149 \pm 0,0007$ mg/ml for the dose of 50mg/kg compared to the ethanol group mice with a value of $0,0356 \pm 0,0011$ mg/ml. The results of this study demonstrated that Curcumin has an effective gastroprotective effect in the treatment of gastric ulcer and causes inhibition of NOS.

Key words: curcumin, ulcer, ethanol, NOS, mice, nitrite.

ملخص

الكرميين هو بوليفينول يلعب دورا هاما في الوقاية من امراض مختلفة من بينها امراض المعدة و القولون. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير الوقائي لهذا الجزيء في الجسم الحي عن طريق قياس النشاط الأنزيمي لـ NOS ادخال الكرميين عن طريق الفم للفئران ادى الى انخفاض كبير ($P > 0.001$) لقرحة المعدية التي يسببها الإيثانول ، مع نسبة تثبيط القرحة من 72,573 % و 72,238 % على التوالي. لجرعة 25 و 50 ملغ / كغ ، انخفاض النشاط الأنزيمي لـ NOS بانخفاض كمية النتريت في وجود هذا الجزيء بقيمة $0,0152 \pm 0,0004$ و $0,0149 \pm 0,0007$ ملغ/ملل على التوالي. لجرعة 25 و 50 ملغ / كغ من الكرميين مقارنة مع القيمة المسجلة عند الفئران الذين تلقوا الإيثانول $0,0356 \pm 0,0011$ ملغ / ملل. نتائج هذه الدراسة اثبتت ان للكرميين تأثير وقائي فعال في علاج القرحة المعدية و يسبب تثبيط NOS.

الكلمات المفتاحية: الكرميين، قرحة، ايثانول ، NOS، فئران، نترتيت.